



جابتن قرتانين دان اكري ماكنن

AGRICULTURE AND AGRIFOOD DEPARTMENT

MINISTRY OF PRIMARY RESOURCES AND TOURISM | BRUNEI DARUSSALAM

GUIDELINES FOR SAMPLE COLLECTION AND SUBMISSION

ANIMAL DIAGNOSTIC (ADG)

Veterinary Laboratory Services Unit
Division of Livestock Industry
Department of Agriculture and Agrifood

First Edition 2013
Second Edition 2017
Third Edition 2019
Fourth Edition 2020

Compiled by
Veterinary Laboratory Services Unit
Division of Livestock Industry
Department of Agriculture and Agrifood
Ministry of Primary Resources and Tourism
Brunei Darussalam

Copyright 2013

All rights reserved. No part of this book may be reproduced in any form or by any means without prior permission from the Veterinary Laboratory Services Unit, Division of Livestock Industry, Department of Agriculture and Agrifood, Ministry of Primary Resources and Tourism, Brunei Darussalam

Perpustakaan Dewan Bahasa dan Pustaka Brunei Cataloguing-in-publication

BRUNEI Darussalam, Veterinary Laboratory Services Unit
Guidelines for Sample Collection and Submission – Animal Diagnostic / Brunei Darussalam,
Veterinary Laboratory Services Unit - Bandar Seri Begawan: Jabatan Pertanian dan
Agrimakanan, 2013.

p. cm.

ISBN 978-99917-38-62-8 (Kulit Keras)

1. Veterinary diagnostics I. Title.

636.089 BRU (DDC22)

TABLE OF CONTENTS

FOREWORD	1
LIST OF ABBREVIATIONS	2
GENERAL GUIDELINES FOR SAMPLE COLLECTION AND SUBMISSION	3
PROCEDURES FOR SAMPEL COLLECTION FROM LIVE ANIMALS OR AT POST MORTERM	6
SAMPLE FROM LIVE ANIMALS	7
1. Blood	7
2. Faeces	8
3. Skin Scrapping	9
4. Genital and Urogenital Tracts (urine discharges and semen)	10
5. Eye (scrappings and tears)	10
6. Nasal and Mouth (nasopharyngeal swab)	11
7. Milk	11
HISTOLOGY / CYTOLOGY	12
1. Tissue	12
2. Swabs and Smears	12
GROSS PATHOLOGICAL EXAMINATION (POST-MORTEM)	13
PARASITOLOGY EXAMINATION	14
1. Fresh Faeces	14
2. Whole Blood	15
3. Skin Scrapping/ Hair	15
4. Soil	15
SEROLOGICAL EXAMINATION (ANTIBODY / ANTIGEN DETECTION)	16

VETERINARY MICROBIOLOGY	17
MOLECULAR BIOLOGY	21
CLINICAL CHEMISTRY/ HAEMATOLOGY	
23	
TABLE 1: GUIDELINES FOR TAKING SAMPLE SIZES OF ANIMAL POPULATION	
24	
SAMPLE RETENTION TIME	
26	
CLIENT CHARTER	26
NEW CLIENTS	27

FOREWORD

Alhamdulillah, this Guideline for Sample Collection and Submission was developed to provide farmers, importers/ exporters of livestock and veterinary products, with information on sample collection and submission, type of samples and quantity of samples required for specific laboratory testing under Animal Diagnostic Sub-unit in Veterinary Laboratory Services Unit (VLS), Division of Livestock Industry, under the Department of Agriculture and Agrifood.

The detailed procedures and requirements in this booklet are based on the ISO/IEC 17025 and test method procedures for diagnostic testing requirement. This booklet also contains the client charters of each testing provided by VLS for client reference.

We hope that the Guideline for Sample Collection and Submission Animal Diagnostic (ADG) booklet can be used as a guide for farmers, importers/ exporters and the public who wish to send sample for diagnostic testing in VLS.

Finally, I would like to applaud and congratulate the VLS unit for their great effort in publishing this guideline. May Allah Subhanahu wa Ta'ala bless you all.

Wassalam

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'H.M.A. Yuliah Binti Abdullah', written in a cursive style.

[HAJAH MASLIANA YULIAH BINTI ABDULLAH]

Acting Director of Agriculture and Agrifood

LIST OF ABBREVIATIONS

Abbreviation	Meaning
ADG	Animal Diagnostic
BPW	Buffered Peptone Water
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EDTA	Ethylene diamine tetra-acetic acid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
HE	Haematoxylin and Eosin
PBS	Phosphate buffered saline
RODAC	Replicate Organism Detection and Counting
VLS	Veterinary Laboratory Services

GENERAL GUIDELINES FOR SAMPLE COLLECTION AND SUBMISSION

All samples should be sent to the VLS as soon as possible after collection.

Samples Delivery Requirement:

- a) All samples shall be delivered to VLS within the working hours stated below:

Mondays---Thursdays and Saturdays

8.00 am – 11.30 am*

1.30 pm – 3.00 pm*

**Not applicable during the month of Ramadhan*

- b) Any sample sent outside these working hours will not be entertained.
- c) Whenever a sample must be delivered outside these working hours, the sender shall make pre-arrangement with an authorized person in charge (PIC), at least one day prior to submission.
- d) The above criteria (a), (b) and (c) do not apply to any *Crisis samples*

All samples collected would be categorised into three types:

- a) **Survey samples:** These types of samples are collected to detect the presence of certain infection in an appeared non-diseased animal population. A sample size for most laboratory examinations should then be considered sufficient when an expected prevalence rate of 5% is used (please refer to Table 1 for setting sample size).
- b) **Diagnostic samples:** These types of samples are taken from either any reported or known to be diseased animal populations, of which up to a 50% of the animals might presumably be affected with the infection (please refer to Table 1 for sample size).

c) **Highly infectious samples:** These samples are only withdrawn from an animal population known or suspected to be affected with a highly infectious disease and/or highly pathogenic to humans. One single sample taken would be considered sufficient, however this shall be classified a special case, and sampling shall be done by authorised officers only.

These following guidelines should mostly be applicable for samples under categories (a) and (b).

All samples sent to the VLS should be in good conditions, neither should be having undergone autolysis nor showing significant physical changes difference from that when samples just taken.

Any other abnormalities, which might totally be unrelated to that as being suspected as causes of death or diseases, such as due to cross-contamination and/or having undergone autolysis, should always be avoided.

All samples of which might be perishable or might contain materials sensitive to extreme temperature should always be kept in a suitable container for protection. Senders should only use suitable containers e.g. a cool box and required accessories for packaging and storing samples. This is part of safety measure to prevent any leakages and cross-contaminations to happen during transporting them to the laboratory.

All samples should be properly packed; clearly and precisely labeled using permanent or water-proof markers.

A cool box used for packaging and storing samples during submission to the laboratory should be filled with ice packs or ice to maintain temperature not exceeding 8°C.



Senders should consult laboratory personnel prior to sample collection depending on examinations required. Most samples might need special cares during submission, such as they might need a specific transport medium and/ or refrigeration (Procedure for Sample Collection from live animals and at Post-Mortem).

As soon as you reach the laboratory, please register the samples at the sample receiving counter. Fill in a sample request form, which is readily provided at the counter. Make sure the form is completed with all appropriate and necessary information required.

All required information to fill in the **Animal Diagnostic Test Request Form (ADTRF)** shall be completed in **BLUE** ink **ONLY**. Incomplete ADTRF is not acceptable.

PROCEDURES FOR SAMPLE COLLECTION FROM LIVE ANIMALS OR AT POST-MORTEM

Tissues and/or parts of which are deriving from both live animals and carcasses may be collected both at farm and during post-mortem respectively, depending on laboratory examinations required. Most certainly appropriate cares to all samples should be practiced in accordance with types of laboratory tests employed, such as microbiological culture, parasitology, clinical chemistry, histopathology and immuno-histochemistry, and detection of proteins or genome of nucleic acid.

All sampling shall be taken either directly by veterinarians or by the trained veterinary health personnel under the supervision of the veterinarians.

Each piece of tissue should be placed in a fully secured and clearly labeled separate plastic bag or sterile screw-capped jar / bottle.

Each piece of tissue or swab taken for microbiological examinations (bacterial or viral identifications) should be taken as aseptically as possible and may be sent in a transport medium depending on examination required.

SAMPLES FROM LIVE ANIMALS

1. Blood

- Samples may be taken for clinical chemistry, haematology, microbiological culture, direct visualization for bacteria, viruses or protozoa (*e.g. Trypanosoma spp*), in which case it is usual to use anticoagulants, such as K_2 EDTA or heparin.
- Samples should be taken, as clearly as possible, by venipuncture from the jugular vein, brachial (wing) vein, mammary veins, auricularis or retro-orbitalis veins (*i.e.* small animals) or cardiac puncture.
- Sample may be taken by using syringe with needle or by needle with vacuum tube on a designated site where skin should be shaved (plucked) and rubbed with cotton swab soaked in 70% ethanol.
- When blood smear samples are required, both thick and thin blood smears should be prepared from fresh samples and either they are then directly air-dried or methanol-fixed.
- For any required tests conducted in serology and DNA technology laboratories, a few drops of blood might alternatively be collected using filter papers. These samples should however be kept in low temperatures not exceeding 8°C during submission. Consult with Veterinary Officer before proceeding.
- Any sample collected with anticoagulants, thorough mixing by only gentle agitation is necessary immediately after taking.



2. Faeces

- An amount of at least 10g freshly voided faeces should be collected. Samples taken for parasitology should be kept in a clean and/or sterile plastic bag and should be sent refrigerated (chilled) using frozen ice packs to prevent hatching of parasite eggs (ova) when the temperature reaching up to 23° C.
- For bacterial isolation particularly *Salmonella*, sample collection should be taken from either fresh dropping (caecal) or from swabbing cloaca. Cares to prevent any cross contamination to the samples, an aseptic method of collection should be practiced. Such a sample should be then placed in a sterile polycarbonate jar/bag and kept refrigerated (chilled) using frozen ice packs.
- When *Giardia spp.* is suspected, samples can be placed in polyvinyl alcohol fixative at a ratio of one part faeces to two parts of polyvinyl alcohol.



3. Skin Scraping

- For viral isolation, approximately 2 grams of affected epithelial tissue (vascular lesions if any) should be taken aseptically and placed in 5ml phosphate-buffered glycerine (pH 7.6).
- Plucked hair or wool samples may be collected as samples, of which are useful material for identification of surface-feeding mites, lice and fungal infection.
- Skin (deep skin) scrapings of mammals should be collected using the edge of a scalpel blade for identification of burrowing mites; whereas feather tips of birds (avian) might be taken for detection of viral antigen, particularly when Marek's disease is suspected.
- All samples should be placed in bottle or sealed plastic bags without any preservatives added.



4. Genital and Urogenital tracts (urines, discharges and semen)

- Samples deriving from vagina and prepuce should be collected by either washing/flushing or suitable swabbing.
- Samples from the cervix or urethra should only be taken by swabbing.
- Urine samples should be freshly voided or quickly collected when target animals naturally pass the urine. If sterile sample is required, a cystocentesis method may be undertaken by a qualified veterinarian.
- Semen samples should be obtained either by using an artificial vagina or an electro-ejaculator. The samples should be taken care aseptically, placed in sterile tubes and sent in suitable transport medium.

5. Eye (scrapings and tears)

- Conjunctival swabs should be taken by holding the palpebra apart and gently rubbing the surface with dacron, cotton or gauze swabs. The samples are then put into a suitable transport medium.
- A mucosa scraping may also be taken by using a metal-handled sterile swab and then smeared the scraping onto a microscope slide for microscopic examination.
- 'Mucopurulent lacrimal' discharges may be taken as samples but rarely useful.

6. Nasal and mouth (nasopharyngeal swab)

- Nasopharyngeal swab should be taken for use in tests when viral infection is suspected, particularly in large ruminants.
- The sample may be taken using dacron, cotton or gauze swabs with metal wire handles. Swabs are suggested to be firstly moistened with transport medium, and then be allowed to remain in contact with the secretions for at least one minute. The swabs should be sent immediately and be refrigerated (chilled) while transporting.

7. Milk

- Samples should only be collected after cleaning and drying tips of the tits. The use of antiseptic for cleaning should however be avoided.
- When sampling, the initial stream of milk should be discarded, as only the following streams should be collected for samples.
- Samples for use in serological tests should not be frozen, heated or subjected to violent shaking. Adding permissible preservative to the samples for such a purpose might however be allowed, especially when there is going to be a delay in submitting them to the laboratory.



HISTOLOGY / CYTOLOGY

1. Tissue

- Sample collected for further use in microbiological examinations, particularly for bacterial and/or viral isolation, should be taken as aseptic as possible, and then placed in a sterile container with or without transport medium. The sample should be kept refrigerated (chilled) and sent immediately.
- Sample for further use in histopathological examination, particularly when only employing routine staining method e.g. HE, should be taken in blocks of tissue not more than 0.5 cm thick and 1.0 to 2.0 cm long, fixed in 4-10% formal-saline and placed in suitable jars. When a cryostat technique is required in order to directly visualize the presence of pathogens or inclusion bodies left by viruses, tissue should be taken as aseptically as possible and should immediately be frozen at -20°C using dry ice.

2. Swabs and smears

- Samples for use in microbiological examinations may only be required by swabbing main affected areas of carcass, especially when bleeding from ears, nostrils and mouth are indicated in large ruminants, and anthrax is then suspected, post-mortem inspection shall not be performed until a rapid test on swab results (Gram Staining) is negative for *Bacillus anthracis* presence.
- Impression smears may also be taken for direct visualization of pathogens.
- Samples shall immediately be sent to the laboratory, and always be regarded as being highly pathogenic ones.

GROSS PATHOLOGICAL EXAMINATION (POST MORTEM)

The whole carcass, with size not larger than an adult male deer, shall be sent to the laboratory immediately after death, not exceeding six (6) hours. In the events of postponement or a delivery cannot be done immediately after death, any carcass should be kept chilled or frozen prior to submission in the next following working hours.

To identify certain disease in a population of animals raised intensively such as flocks of poultry, and when an expected proportion of positive is 50%, a sample size sent to the laboratory should be at least four (4) to five (5) animals, either sick or recently dead ones taken from the respective population at risk.

Each individual of samples as the same size as chickens should be submitted in separated sturdy boxes and labeled appropriately.

PARASITOLOGY EXAMINATION

Current parasitological examinations carried out are only for the diagnosis of internal parasitism by employing methods for the detection and enumeration of worm eggs present in fecal samples of goats, sheep, buffaloes and cattle.

Faecal samples must be directly taken from rectum of target animals either by means of manual rectal exploration or using a rectal-probe. As much of 10 gram faecal sample is required, individually put in clean plastic bag, and properly labeled. The number of samples should be sufficient as representatives for respective animal populations (*please refer to Table 1*).

All samples should be stored in a cool box with ice packs to control temperature not exceeding 8°C during transporting to the laboratory and reach the laboratory not later than 6 hours after the sample collection.

1. Fresh faeces

- The sample should be taken and sent to the laboratory as immediately as possible (never held any sample more than 48 hours).
- Each sample should be placed in individual sealed containers, labeled properly and identified with animal number/ name and date of collection.
- Each sample should be kept chilled (not frozen) as soon as after collection.
- Each sample should be collected and sent at least 5 grams in quantity.
- For larvae examination (*e.g.* Baerman method) samples must be less than 2 hours old and unrefrigerated.

2. Whole Blood

- Samples with anticoagulant should be collected and sent at least 1 mL blood for example in K₂ EDTA tube or others depending on tests requested.
- Serum obtained from whole blood collection taken in a red cap tube. At least 0.5 mL should be sent to the laboratory in refrigeration (chilled with frozen ice blocks)

3. Skin Scrapping/ Hair

- Sample should be kept in a glass tube immediately after collection (a red-top blood collecting tube can be used).
- In case of small samples size, samples can be submitted on a glass slide if the cover slip is securely sealed with “Nail Polish”. Please avoid using a scotch tape as a cover slip because it will be very difficult or even impossible to observe detail through the tape.

4. Soil

- Soil samples should be collected at least 30 g each.
- The samples should be collected from two to three inches below the surface from at least three sites in the suspected area.
- Please send each sample in each sealed plastic zip lock bag.

SEROLOGICAL EXAMINATION (ANTIBODY / ANTIGEN DETECTION)

For ELISA tests, whole blood samples and / or serum (deriving from the target blood animals) should be immediately transported to the lab after they are collected. The samples can either be put in vacutainer blood tubes (provided by Serology Laboratory upon request) or in syringes. The volume of each sample will depend on the size of the target animals; ranges from 3.0 mL to 10.0 mL. Meanwhile, the number of samples taken shall be sufficient to represent the whole animal population (or a cohort) in one area, as required by the standard procedure used in animal disease survey (refer to Table 1). This procedure also applies to when collecting cloacal swabs, body fluids or hatching eggs.

For rapid test such as for Avian Influenza screening, both disposable swabs and assay diluents will be provided by the laboratory. The diluent of swab samples should be mixed well. After collection, the diluents shall be kept in a cool box filled with ice packs before transporting them to the laboratory.

VETERINARY MICROBIOLOGY

Test to be performed	Appropriate samples	Collection of samples
Isolation and Identification of <i>Salmonella</i> species from the farm environment	<ul style="list-style-type: none"> • Sampling with sterile swab tips (Surface sampling including ventilation ducts, drains or feed containers) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Remove a swab from the sterile wrapping and moisten the tip by immersing it in a tube containing BPW. Press the tip of the swab against the wall of the tube to remove excess fluid. ➤ When sampling surfaces, a sufficiently large area should be swabbed to ensure that all surfaces of the swab are liberally coated with material. Ideally several different locations should be swabbed or multiple swabs taken to maximize recovery of the target organism. After sampling, break or cut off the stick aseptically. Place in transport medium (bottle containing BPW).
	<ul style="list-style-type: none"> • Sampling with boot swabs (Sampling floors) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Slip a disposable Plastic Boot Cover over each shoe or boot after enter the house. ➤ Remove the pre-moistened boot swab from the Whirl-Pak[®] bag and place it securely over the plastic boot cover. ➤ Reseal the bag immediately after removing the boot swab to prevent contamination from airborne debris or insects. ➤ Step at least 100 steps in per house, including the full length and width of the house and any littered or slatted areas and ensuring that areas of faecal accumulation or wet litter under drinkers are included. ➤ Immediately after collection, carefully remove the boot swabs and return it to its original bag. Use appropriate measures to ensure there is a good seal on the Whirl-Pak[®] bag and wipe down the outside to remove any residual debris. ➤ Submit samples to the laboratory promptly for analysis.

Test to be performed	Appropriate samples	Collection of samples
	<ul style="list-style-type: none"> Litter samples (Sampling floors) 	<ul style="list-style-type: none"> The best way to collect litter samples is to move over the whole house taking pinches of litter from at least 60 separate areas in the house to make up a final amount of about 2 kg. Placed samples in a sterile bag. This sample can be sent to the laboratory or can be thoroughly mixed and a test portion of at least 25 g taken and sent to the laboratory. Litter samples should be taken before any replenishment of bedding.
	<ul style="list-style-type: none"> Water samples 	<ul style="list-style-type: none"> Collect at least 100 ml of water in sterile polypropylene sample containers / bottles with leak-proof lids (kept chilled during transport and storage). Use insulated containers to assure proper maintenance of storage temperature. Ensure that sample bottles are not totally immersed in water from melted ice during transit or storage.
	<ul style="list-style-type: none"> Animal feed 	<ul style="list-style-type: none"> Submit at least 500 g of sample. Chilling during transport and storage is not required.
Isolation and Identification of <i>Salmonella</i> species from animals	<ul style="list-style-type: none"> Cloacal swabs 	<ul style="list-style-type: none"> Collect using a sterile swab moistened with BPW. Ensure faecal material is present on the swab after collection. Break or cut off the stick aseptically. Placed in in a bottle containing BPW. The bottle with the samples is then well secured with the cap, labeled, surface decontaminated and placed in a cool box.
	<ul style="list-style-type: none"> Faeces 	<ul style="list-style-type: none"> Collect 10 to 20 g of fresh faeces in sterile bag and chilled. Fecal samples must not be held longer than a few hours. If they are held, they must be refrigerated. Do not submit feces in a glove.

Test to be performed	Appropriate samples	Collection of samples
Isolation and Identification of <i>Salmonella</i> species from hatchery	<ul style="list-style-type: none"> Broken eggshells 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Broken shells from hatched eggs can be collected from systems where basket liners are not in used. Egg fragments from as many baskets as possible per hatcher should be collected in a large bag.
	<ul style="list-style-type: none"> Dead-in-shell embryos (infertile eggs) 	<ul style="list-style-type: none"> • A minimum of 60 eggs is taken and brought to the laboratory. Samples of internal organs and yolk sacs are taken aseptically from the embryos and pooled.
	<ul style="list-style-type: none"> Chick Box Liners 	<ul style="list-style-type: none"> • Collect at least five basket liners per flock, total surface area at least 1 m², in a sterile bag and put this sample in a second bag before sending it to the laboratory.
Bacteria Isolation and Identification	<ul style="list-style-type: none"> Biological specimen from animals (Organ/tissue, faeces, fluid such as blood and urine, and other discharges) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fresh samples should be collected aseptically and suitable portions of each sample should be placed in an appropriate individual sterile container/petri dish, syringe, tube or bottle and clearly labelled. The specimen collected should preferably be chilled. Do not FREEZE. ➤ Swabs derived from the specimen are also acceptable. Collect using sterile swab tips and place in tube or bottle with BPW. Keep in a cool box.
Detection and Enumeration of Total Coliform / <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>) in water	<ul style="list-style-type: none"> Drinking Water 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Collect at least 100 ml of water in sterile polypropylene sample containers with leak-proof lids (kept chilled during transport and storage). Use insulated containers to assure proper maintenance of storage temperature. Ensure that sample bottles are not totally immersed in water from melted ice during transit or storage.

Test to be performed	Appropriate samples	Collection of samples
Aerobic Plate Count for Environmental Monitoring (Air quality)	<ul style="list-style-type: none"> • Exposure plates 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Clearly mark the base of each plate date & time, area & location using permanent marker. Place the plates in some position with the lids still on. Remove the lid only once the sample is in place. Leave the plates exposed for 15 to 60 minutes. After exposing the plates replace carefully without touching the surface of the agar. Store the plates with the details in zip-lock bag include a control plate that has not been exposed.
Aerobic Plate Count for Environmental Monitoring (Surface)	Surface monitoring by swabbing/agar contact plate	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Remove cover of the RODAC plate and gently push the agar surface on a level surface to examine for at least 10 seconds. Cover the plate with the lid. Store the plates with details in zip-lock bag.
Heterotrophic Plate Count for Environment Monitoring (Water)	Water	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Collect at least 100 ml of water in sterile polypropylene sample containers with leak-proof lids (kept chilled during transport and storage). Use insulated containers to assure proper maintenance of storage temperature. Ensure that sample bottles are not totally immersed in water from melted ice during transit or storage.

The above transport media are available (by self-collection) from the VLS. Please contact VLS reception at least two days in advance.

NOTE: All samples for microbiology culture should be collected **PRIOR TO ANTIBIOTIC TREATMENT** (unless for monitoring treatment efficacy). It is highly recommended that collecting all these samples should be taken aseptically (wear gloves), placed them securely in sterile leak-proof containers / bags / bottles and transported in chilled condition directly to the VLS on the day of collection.

MOLECULAR BIOLOGY

1. Samples for Avian Influenza Confirmation Testing include:

- Swabs (nasal, tracheal, cloacal)
 - Whole blood and body fluids
-
- Samples should be kept chilled in a suitable cool box and submitted to the laboratory without any delay and clearly labeled with sample identification and date of collection.
 - In case of a swab, use a sterile recommended cotton swab, where the tip of it has to swab vigorously to exfoliate cells. Place the swab immediately after collecting into sterile tube without any additives provided by the laboratory.
 - Whole blood samples can be sent in syringes used for collecting or aliquoted into vials or tubes with each containing volume not less than 1.0 ml.

2. Animal raw, processed meat and animal feed samples for species identification / meat speciation testing.

- Raw, processed meat or animal feed samples should be collected at least 50 g each.
- Each sample should be placed in an individual sealed bag or container and labelled.

3. Samples for Rabies Testing include:

- Saliva
 - Oral swab
-
- a) For swab: Use sterile cotton swab to swab the anterior surface of tongue and check mucosa of dog for 20 s. Immersed the swab in PBS (2 mL) and kept in cool box filled with ice pack. Label tube correctly with sample identification and date of collection and send to VLS on the same day of sample collection. Swab and PBS are provided by VLS.

- b) For saliva: Using 10 or 50 ml sterile syringe, collect about 0.5 ml dog saliva and dispense it into sterile tube. Label tube correctly and send to VLS on the same day of sample collection.

CLINICAL CHEMISTRY / HAEMATOLOGY

Clinical Chemistry / Haematology laboratory currently carries out three types of tests: (i) for blood chemistry, (ii) complete blood cell count (CBC) and (iii) urine analysis (UA) of both large and small animals.

Blood collection tubes with K₂ EDTA anticoagulant are required to take samples for use in haematology tests, whereas those with lithium heparin ones are used to take blood for use in biochemistry examinations (blood chemistry tests). Both types of tubes are not vacutainers.

Whole blood samples should be collected using syringes, and collected blood samples are immediately transferred into respected tubes that are provided by the laboratory and should be labelled clearly with animal identification and date of collection. Each sample should be taken at least 1 ml in volume or equal to a half-full mark filled of a 3 ml similar kind tube. Please make sure that blood withdrawn in the tubes is mixed well immediately with the anticoagulant by a 10 time-gently inversion of the tubes.

Urine samples should be collected in new-clean urine tubes provided. All samples collected should be clearly and precisely labeled with animals' identification and date of collection by using a permanent marker and kept in a cool box with ice or frozen ice packs to control temperature not exceeding 8°C during submission to the laboratory on the same day of collection.

Urine samples may also be collected fresh and kept in new-clean urine tubes provided. The tube should also be clearly and precisely labelled. The sample can be submitted to the laboratory without keeping it in cool box, however it must be kept in clean seal plastic bag and submitted to the laboratory upon collection.

TABLE 1: GUIDELINES FOR TAKING SAMPLE SIZES OF ANIMAL POPULATIONS

Note: Guidelines shown below is for the Diagnostic's sample only.

Sample size required providing 95% certainty of detecting at least one positive case at a prevalence of 5%; and size required in a population where there is a known disease. (Adopted from Cannon and Roe, 1986)

Population Size (N)	Sample size set based on a 5% prevalence (n/N x 100%)	Sample size required where infectious disease shown on being suspected*
<10	All of the samples	4
10	10	4
20	19	4
30	26	4
40	31	5
50	35	5
60	38	5
70	40	5
80	42	5
90	43	5
100	45	5
120	47	5
140	48	5
160	49	5
180	50	5
200	51	5
250	53	5
300	54	5
350	54	5

* with a prevalence rate as at least 50%

Population Size (N)	Sample size set based on a 5% prevalence (n/N x 100%)	Sample size required where infectious disease shown on being suspected*
400	55	5
450	55	5
500	56	5
600	56	5
700	57	5
800	57	5
900	57	5
1000	57	5
1200	58	5
1400	58	5
1600	58	5
1800	58	5
2000	58	5
3000	58	5
4000	58	5
≥5000	59	5
∞	59	5

Note: n= Number of animals expected diseased or shown clinical signs

N= Total Population (population at risk)

SAMPLE RETENTION TIME

All samples received will be used for the whole process of testing. Any leftovers will be retained by respective laboratories at most 2 weeks after Laboratory Analysis Report is released.

CLIENT CHARTER

The table below indicates the turnaround time required for each tests.

Table 2: Client charter

No.	Laboratory	Laboratories activities/ Scope of work (Analyses)	Terms (in No. of working days)
1	Pathology	To Perform Pathological Examinations/ Diagnosis	3
2	Parasitology	To Perform Parasitological Examinations	3
3	Veterinary Microbiology	To Perform Veterinary Microbiological Testing	12
4		To Perform Environmental Monitoring Testing	4
5		To Perform Environmental Monitoring Testing (<i>Salmonella</i>)	12
6		To Perform Detection and Enumeration of Total Coliform and <i>E.coli</i> in Water	3
7	Serology	To Perform Serological Test using Rapid Test	1
8		To Perform Serological Test using ELISA Test	5
9	Molecular Biology	To Perform Molecular Biological Testing	5
10	Clinical Chemistry/ Haematology	To Perform Clinical Chemistry Testing	3

The VLS shall always try to produce reports as soon as any analyses are finished.

Every customer shall collect his/her reports of analysis from the VLS counter.

All valued customers are advised to fully understand on terms of every client charter for their required analyses, this is to avoid any misunderstanding on analysis report collection from the VLS counter desk. Your cooperation is greatly appreciated.

NEW CLIENTS

New customer is required to fill up the New Testing Request Form, VLS-SOP-09-02 and attend a short briefing on the tests offered by VLS. Existing customers requesting for new test are also required to fill the above form. The form is available upon request at the reception counter.

**FOR FURTHER ENQUIRIES
PLEASE CALL / CONTACT
VETERINARY LABORATORY SERVICES UNIT**

**Telephone
+ 673-896 5122 (VLS at Kilanas)**

Email: veterinarylab@gmail.com



جابتن قرتانين دن اكري ماكنن

AGRICULTURE AND AGRIFOOD DEPARTMENT

MINISTRY OF PRIMARY RESOURCES AND TOURISM | BRUNEI DARUSSALAM

GARIS PANDUAN PENGAMBILAN DAN PENGHANTARAN SAMPEL

DIAGNOSTIK HAIWAN

Unit Perkhidmatan Makmal Veterinar
Bahagian Kemajuan Industri dan Perkhidmatan Veterinar
Jabatan Pertanian dan Agrimakanan

KANDUNGAN

KATA PENGANTAR	33
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH	34
GARISPANDU UMUM PENGAMBILAN DAN PENGHANTARAN SAMPEL	35
PROSEDUR PENGAMBILAN SAMPEL DARI HAIWAN HIDUP ATAU SAAT BEDAH BANGKAI	38
JENIS CONTOH YANG DIAMBIL DARI HAIWAN HIDUP	39
1. Sampel Darah	39
2. Najis	40
3. Kikisan Kulit	41
4. Kawasan Genital dan Urogenital (air kencing dan air mani)	42
5. Mata (kotoran dan air mata)	42
6. Hidung dan Mulut (calitan nasopharyngeal)	43
7. Air Susu	43
JENIS SAMPEL DARI HAIWAN MATI YANG DIAMBIL PADA SAAT BEDAH BANGKAI	44
1. Tisu	44
2. Calitan dan 'Smear'	44
HISTOLOGI / CYTOLOGI	45
PEMERIKSAAN PARASITOLOGI	46
1. Sampel Najis Segar	46
2. Sampel Darah	47
3. Kikisan Kulit/ Rambut	47
4. Sampel Tanah	47
PEMERIKSAAN SEROLOGI (MENGESAN ANTIBODI/ ANTIGEN)	48
MIKROBIOLOGI VETERINAR	49

MOLEKULAR BIOLOGI	54
KIMIA KLINIKAL/ HEMATOLOGI	56
RAJAH 1: PANDUAN PENGAMBILAN SAIZ-SAIZ SAMPEL UNTUK POPULASI HAIWAN	57
TEMPOH PENYIMPANAN SAMPEL	59
TEKAD PEMEDULIAN ORANG RAMAI (TPOR)	59
PELANGGAN BARU	60

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, buku Garis Panduan Pengambilan dan Penghantaran Sampel ini diterbitkan khusus sebagai panduan bagi penternak dan pengimport/ pengeksport ternakan dan hasil ternakan. Buku ini memberikan maklumat berkenaan tatacara pengambilan dan penghantaran sampel untuk pemeriksaan / penganalisan di Unit Perkhidmatan Makmal Veterinar (UPMV), Bahagian Kemajuan Industri dan Perkhidmatan Veterinar, Jabatan Pertanian dan Agrimakanan.

Tatacara pengambilan dan penghantaran sampel yang dinyatakan adalah berdasarkan kepada keperluan ISO/IEC 17025 dan juga cara / kaedah prosedur ujian pemeriksaan / penganalisan tersebut. Selain dari itu buku ini juga ada menyenaraikan beberapa jenis sampel dan jumlah sampel yang diperlukan bagi setiap jenis pemeriksaan/ penganalisan yang diberikan sekaligus memberikan maklumat mengenai Tekad Pemedulian Orang Ramai (TPOR) bagi setiap jenis pemeriksaan / penganalisan yang diberikan.

Adalah diharapkan buku Garis Panduan Pengambilan dan Penghantaran Sampel Diagnostik Haiwan ini akan dapat dijadikan sebagai buku rujukan bagi penternak, pengimport dan juga orang ramai yang berhasrat untuk mendapatkan perkhidmatan pemeriksaan / penganalisan makmal veterinar.

Akhir sekali, saya ingin mengucapkan tahniah kepada Unit Perkhidmatan Makmal Veterinar kerana telah berjaya menerbitkan buku garispandu ini. Semoga segala usaha akan diberkati Allah Subhanahu wa Ta'ala jua. Sekian Terima Kasih.

Wassalam



[HAJAH MASLIANA YULIAH BINTI ABDULLAH]

Pemangku Pengarah Pertanian dan Agrimakanan

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

Singkatan dan Istilah	Pengertian
UPMV	Unit Perkhidmatan Makmal Veterinar
BPW	Buffered Peptone Water
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EDTA	Ethylene diamine tetra-acetic acid
DNA	Deoxyribonucleic Acid
HE	Haematoxylin and Eosin
RODAC	Replicate Organism Detection and Counting
PBS	Phosphate buffered saline

GARISPANDU UMUM PENGAMBILAN DAN PENGHANTARAN SAMPEL

Semua jenis sampel bagi tujuan pemeriksaan/ penganalisan hendaklah dihantar seberapa segera setelah pengambilannya pada hari yang sama semasa waktu pejabat.

Syarat-syarat penghantaran sampel:

a) Semua sampel hendaklah dihantar ke UPMV semasa waktu pejabat seperti berikut:

Isnin-Khamis dan Sabtu

8.00 pagi – 11.30 pagi*

1.30 petang – 3.00 petang*

**Tidak termasuk bulan Ramadhan*

b) Sampel yang dihantar diluar waktu pejabat atau pada hari kelepasan awam tidak akan diterima.

c) Apabila ada contoh (sampel) yang perlu dihantar diluar waktu pejabat, pihak pelanggan hendaklah memaklumkan kepada staf yang berkenaan sekurang-kurangnya sehari sebelum sampel dihantarkan.

d) Sampel krisis diberi pengecualian daripada syarat-syarat (a), (b) dan (c) yang tersebut di atas.

Jenis sampel yang diambil dibahagikan kepada tiga kategori iaitu:

- b) **Sampel kaji-selidik**: Sampel yang diambil bagi tujuan mengesan keadaan penyakit di dalam satu kumpulan haiwan, yang diketahui terdapat atau memperlihatkan tanda-tanda berjangkit, dimana tujuan pengambilan sampel ini, perkiraan kadar jangkitan dianggap memadai apabila ditentukan pada paras 5% sahaja. (Sila rujuk kepada Rajah 1 untuk menentukan saiz sampel yang diperlukan)
- c) **Sampel diagnostik**: iaitu sampel yang mesti diambil dari kumpulan haiwan yang sedang menunjukkan dan/atau benar-benar dicurigai menghidap sesuatu penyakit, samada yang hanya memperlihatkan tanda-tanda klinikal yang berkemungkinan boleh membawa wabak dengan perkiraan kadar prevalan tidak kurang dari 50%. (Sila rujuk Rajah 1 untuk menentukan saiz sampel yang diperlukan)
- d) **Sampel mudah berjangkit**: Sampel ini adalah yang mesti diambil dari sesebuah kumpulan haiwan yang sedang menunjukkan dan/atau benar-benar dicurigai menghidap penyakit berjangkit dan bahkan diperkirakan boleh merebak samada kepada jenis haiwan lainnya ataupun manusia. Sampel dalam kategori ini hanya boleh diambil oleh kakitangan yang ditetapkan sahaja.

Garis panduan berikut ini kebanyakannya hanya digunakan untuk jenis sampel dibawah kategori (a) dan (b).

Sampel yang dihantar ke makmal hendaklah dalam keadaan yang memuaskan dan tidak rosak seperti didalam keadaan membusuk atau telah berubah sehingga berbeza dari keadaan semasa pengambilan dilakukan.

Segala bentuk kerosakan atau kelainan keatas sampel yang diambil, yang sama sekali tidak ada hubungkaitnya dengan masalah penyakit yang dicurigai, seperti kerana tercemari kuman (bakteria pembusuk), atau mengalami proses pembusukan semasa menunggu penghantarannya, hendaklah sentiasa dielak.

Sampel yang mudah rosak atau mengandungi bahan yang sensitif terhadap suhu hendaklah disimpan didalam kontena yang bersesuaian. Penghantar hendaklah menggunakan kontena yang bersesuaian seperti *cool box* dan bahan yang diperlukan bagi pembungkusan dan penyimpanan sampel. Ini merupakan salah satu langkah keselamatan bagi mengelak perkara yang tidak diingini berlaku seperti kebocoran dan pencemaran agen infektif lain semasa penghantaran sampel ke makmal.

Sampel yang dihantar hendaklah dibungkus dengan sempurna, ditandakan dengan jelas dan betul dengan menggunakan pen kalis air ('permanent marker').

Kontena yang digunakan untuk pembungkusan dan penyimpanan sampel hendaklah diisi dengan ais ataupun pek ais beku yang tahan semasa penghantaran sampel ke makmal dilakukan bagi memastikan suhu sampel tidak melebihi 8°C.



Pihak penghantar bolehlah mendapatkan khidmat nasihat dari staf makmal bagi ujian yang diperlukan. Kebanyakan sampel memerlukan pengendalian sampel yang khusus seperti *transport medium* dan/atau penyimpanan yang bersesuaian.

Sebaik sahaja sampel tiba di makmal, penghantar hendaklah mendaftarkan sampel tersebut di Kaunter Penerimaan Sampel dengan mengisikan **Borang Permohonan Ujian Diagnostik Haiwan** dengan betul dan lengkap. Borang tersebut hendaklah diisi dengan lengkap menggunakan pen berwarna **BIRU SAHAJA**. Borang yang tidak lengkap tidak akan diterima.

PROSEDUR PENGAMBILAN SAMPEL DARI HAIWAN HIDUP ATAU SAAT BEDAH BANGKAI

Tisu atau bahagian tertentu dari haiwan boleh diambil bagi tujuan pemeriksaan makmal sama ada ketika haiwan itu masih hidup atau sudah mati. Jenis dan cara pengambilannya hendak disesuaikan dengan pemeriksaan makmal yang dikehendaki seperti pemeriksaan/ penganalisan mikrobiologi veterinar, parasitologi, kimia klinikal/ hematologi, histopatologi dan 'immunohistokimia', serta penganalisan protin dan *genome of nucleic acid*.

Semua pengambilan sampel hendaklah dilakukan oleh pegawai haiwan atau pengamal kesihatan haiwan dibawah pengawasan penuh pegawai haiwan.

Penandaan setiap sampel adalah mustahak, yang ditanda pada beg plastik yang tertutup manakala tatacara pengambilan secara aseptik hendaklah dilakukan untuk sampel bagi pemeriksaan mikrobiologi.

JENIS CONTOH YANG DIAMBIL DARI HAIWAN HIDUP

1. Sampel Darah

- Sampel darah boleh diambil bagi tujuan pemeriksaan kimia klinikal/ hematologi, mikrobiologi dan pengamatan secara langsung bakteria, virus, serta protozoa (seperti *Trypanosoma spp*). Untuk keperluan ini pada kebiasaannya anti-koagulan diperlukan seperti K_2EDTA atau *heparin*.
- Pengambilan darah hendaklah dilakukan sebaik mungkin melalui vena jugular, brachial, mammary, auricularis, orbitalis atau melalui jantung.
- Sampel darah boleh diambil menggunakan picagari dengan jarum atau jarum dengan tiub vakum pada kasawan yang ditetapkan dimana kulit harus dibersihkan dan disapu dengan swab kapas yang direndam dalam 70% etanol.
- Untuk sampel calitan darah samada yang nipis ataupun yang tebal hendaklah dibuat dari darah segar, kemudian dikeringkan pada suhu bilik sahaja atau ditetapkan menggunakan methanol (*methanol-fixed*).
- Bagi kegunaan pemeriksaan serologi dan molekular, sampel berupa beberapa titik darah yang diserapkan kepada kertas saring steril adalah diperlukan. Namun demikian penyimpanan sampel ini pada suhu yang tidak melebihi 8°C selama penghantaran adalah sangat disarankan. Sila dapatkan nasihat dari Pegawai Haiwan sebelum menjalankan kaedah ini.
- Sampel darah yang diambil bersama antikoagulan hendaklah dicampur sehingga sebati dengan membalikan-balikan tiub secara perlahan.



2. Najis

- Sampel najis seberat 10g hendaklah diambil secara langsung dari rectal ataupun dipilih dari yang segar. Bagi kegunaan pemeriksaan parasitologi sampel hendaklah diambil dan dimasukkan ke dalam beg plastik steril serta dihantar dalam keadaan suhu sejuk didalam kontena menggunakan ais pek beku atau ais kiub bagi menggelak penetasan telur parasit (ova) bila suhu mencapai sehingga 23° C.
- Bagi kegunaan mikrobiologi, terutama pemeriksaan Salmonella, pengambilan sampel hendaklah dilakukan dengan cara mengutip najis segar atau membuat calitan dari kloaka. Bagi mencegah dari terjadinya pencemaran silang kepada sampel, kaedah pengambilan secara aseptik harus diamalkan. Sampel yang diambil hendaklah disimpan di dalam botol/ beg 'polycarbonate' steril dan dihantar didalam keadaan sejuk menggunakan ais pek beku.
- Apabila *Giardia spp.* dicurigai, sampel yang diambil hendaklah disimpan di dalam larutan *polyvinyl alcohol fixative* dengan nisbah satu bahagian najis didalam dua bahagian larutan.



3. Kikisan Kulit

- Bagi kegunaan pengasingan virus, lebih kurang 2g kikisan kulit terjejas (termasuk luka vesikula jika ada) hendaklah diambil secara aseptik dan ditempatkan di dalam botol steril mengandungi 5ml *phosphate-buffered glycerine* (pH 7.6).
- Cabutan atau sampel bulu boleh diambil sebagai sampel yang mana bahan tersebut adalah berguna untuk mengenalpasti hama pemakan permukaan, kutu dan jangkitan kulat.
- Kikisan kulit yang dalam pada haiwan mamalia hendaklah diambil bagi tujuan mengesan kutu kudis dengan menggunakan hujung pisau; manakala pangkal bulu burung adalah sampel yang sesuai bagi tujuan pemeriksaan antigen virus terutamanya apabila penyakit Marek disyaki.
- Semua sampel hendaklah disimpan di dalam botol atau beg plastik yang tertutup. Sampel tidak boleh bercampur dengan bahan pengawet.



4. Kawasan *Genital* dan *Urogenital* (air kencing, air mani)

- Sampel dari *vagina* dan *prepuce* hendaklah diambil dengan cara membasuh atau dengan membuat calitan di sekitar kawasan berkenaan.
- Sampel dari *cervix* atau *urethra* hendaklah dibuat dengan calitan sahaja.
- Sampel air kencing segar hendaklah diambil segera ketika haiwan berkenaan mengeluarkannya. Apabila sampel steril diperlukan pengambilan langsung dari dalam pundi air kencing (*cystocentesis*) hendaklah dibuat oleh pegawai haiwan yang bertauliah.
- Sampel air mani hendaklah diambil menggunakan *vagina* tiruan atau *electro-ejaculator* yang dibenarkan. Sampel hendaklah disimpan di dalam tiub steril dan dihantar di dalam *transport medium* yang bersesuaian.

5. Mata (kotoran dan air mata)

- Calitan conjunctiva hendaklah diambil dengan cara memisahkan palpebra kemudian permukaan mukosanya disapu dengan pencilit dacron/kapas. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam transport medium yang bersesuaian.
- Kikisan mukosa juga boleh diambil dengan cara menyapukan calitan kikisan mukosa yang diambil menggunakan pencilit bertangkai logam lalu menyentukan bahagian calitan ke atas slaid mikroskop bagi pemeriksaan dibawah mikroskop.
- Kotoran mata boleh diambil walaupun sampel ini tidak begitu banyak kegunaanya.

6. Hidung dan Mulut (calitan *nasopharyngeal*)

- Calitan *nasopharyngeal* hendaklah diambil bagi tujuan pemeriksaan jangkitan virus terutamanya pada haiwan besar ruminan.
- Sampel boleh diambil menggunakan dacron dengan tangkai logam. Pencalit hendaklah dibasahi terlebih dahulu dengan *transport medium*, lalu membiarkannya di dalam *pharynx* lebih kurang satu minit. Sampel hendaklah dihantar ke makmal dengan segera dalam keadaan sejuk.

7. Air Susu

- Sampel hendaklah diambil setelah hujung puting susu dibersihkan dan dikeringkan. Elak dari menggunakan disinfektan/antiseptik ketika membersihkan puting tersebut.
- Pengeluaran air susu yang pertama hendaklah dibuang dan sampel hanya diambil dari aliran air susu selanjutnya.
- Elakkan pembekuan, pemanasan dan goncangan kuat terhadap sampel air susu yang diambil bagi tujuan ujian serologi. Penambahan pengawet yang dibenarkan adalah lazim terutama apabila penghantaran sampel ke makmal diperkirakan memakan masa.



PEMERIKSAAN HISTOLOGI / CITOLOGI

1. Tisu

- Pengambilan sampel bagi tujuan pemeriksaan mikrobiologi, terutamanya bagi pengasingan bakteria atau virus, hendaklah dibuat secara aseptik, lalu disimpan di dalam botol/beg steril samada dengan *transport medium* ataupun tidak dan kemudian hendaklah dihantar seberapa segera dalam keadaan sejuk.
- Sampel yang diambil bagi tujuan pemeriksaan lanjutan seperti pemeriksaan histopathologi, terutamanya menggunakan kaedah pewarnaan biasa HE, hendaklah berupa ketulan tisu yang berukuran lebih kurang $0.5 \times 1.0 \times 2.0 \text{ cm}^3$ lalu disimpan di dalam bekas berisi larutan formol-saline 4-10%. Apabila kaedah cryostat diperlukan bagi tujuan pemeriksaan patogen secara langsung, maka sampel tisu hendaklah diambil secara aseptik dan dibekukan serta merta pada suhu -20°C menggunakan ais kering.

2. Calitan dan *Smear*

- Sampel yang diambil bagi tujuan pemeriksaan mikrobiologi pada kebiasaannya diperlukan sebelum kerja pembedahan bangkai dibuat, terutamanya apabila perdarahan yang tidak membeku dari lubang-lubang alami iaitu mulut, hidung, telinga, dubur dan *vagina* diperlihatkan pada bangkai jenis haiwan besar. Keadaan ini hendaklah **disyaki sebagai kes anthrax**, dan kerja-kerja pembedahan bangkai hendaklah dielak sehingga keputusan pemeriksaan *Bacillus anthracis* pada sampel calitan darah (Gram Staining) adalah negatif.
- Sampel berupa *impression smears* juga pada kebiasaannya diperlukan bagi tujuan pemeriksaan patogen secara langsung.
- Kesemua jenis sampel ini hendaklah segera dihantar ke makmal dan dikategorikan sebagai penyakit berjangkit/ berbahaya.

PEMERIKSAAN PATOLOGI ANATOMI (BEDAH BANGKAI)

Keseluruhan karkas, yang tidak melebihi saiz seekor rusa jantan dewasa, hendaklah dihantar ke makmal seberapa segera, tidak melebihi dari enam (6) jam selepas kematian ternakan atau haiwan tersebut. Sekiranya penghantaran tidak dapat dilakukan (tertangguh), karkas hendaklah disimpan didalam keadaan sejuk atau dibekukan sementara menunggu penghantaran pada waktu berikut akan datang.

Bagi mengenalpasti penyakit tertentu dalam populasi haiwan yang dipelihara secara intensif seperti ternakan ayam dengan kadar perkiraan kadar jangkitan 50%, jumlah / saiz sampel yang diambil hendaklah sekurang-kurangnya empat (4) hingga lima (5) ekor haiwan samada berupa haiwan yang sakit ataupun haiwan yang baru mati diambil dari populasi haiwan yang berisiko.

Setiap sampel haiwan yang sama saiz seperti ayam hendaklah dihantar dalam kotak berasingan dan diberi tanda dengan lengkap dan jelas.

PEMERIKSAAN PARASITOLOGI

Pemeriksaan parasitologi yang dijalankan pada masa ini adalah bagi menentukan penyakit parasit dalaman dengan menggunakan kaedah pengesanan dan pengiraan kadar kecacingan dalam sampel najis haiwan terutamanya kambing, kambing biri-biri, kerbau dan lembu.

Sampel najis hendaklah diambil secara langsung dari dalam rektum haiwan, bukan dari yang telah gugur di lantai kandang, menggunakan cara penerokaan rektum secara manual atau menggunakan prob rektum. Seberat 10g sampel najis diperlukan bagi pemeriksaan. Sampel hendaklah disimpan di dalam beg plastik yang bersih dan bersesuaian serta diberi tanda dengan jelas. Keseluruhan saiz sampel yang diambil hendaklah mewakili bilangan haiwan dari sesebuah kumpulan (*sila rujuk **Rajah 1***).

Sampel hendaklah disimpan dalam kontena yang dilengkapi dengan pek ais beku bagi mengawal suhu supaya tidak melebihi 8°C semasa penghantaran ke makmal. Sampel yang dihantar ke makmal hendaklah tidak melebihi dari enam (6) jam setelah pengambilan sampel dilakukan.

1. Sampel Najis Segar

- Sampel hendaklah diambil dan dihantar ke makmal dengan segera (tidak melebihi 48 jam selepas pengambilannya).
- Sampel hendaklah disimpan di dalam kontena yang tertutup, diberi tanda dengan jelas nombor/nama haiwan dan tarikh pengambilannya.
- Sampel tidak boleh dibekukan selepas pengambilannya.
- Sampel yang diambil dan dihantar hendaklah dengan purata berat sekurang-kurangnya 5g.
- Untuk pemeriksaan larva (seperti Metod Baerman), sampel yang dihantar ke makmal hendaklah tidak melebihi 2 jam selepas pengambilan dan tidak disejukkan.

2. Sampel Darah

- Sampel yang mengandungi antikoagulan hendaklah diambil sekurang-kurangnya 1mL dan disimpan di dalam tiub seperti contoh berwarna ungu (EDTA tiub) atau yang lain-lain bergantung kepada permintaan ujian.
- Serum yang diambil dari darah hendaklah disimpan di dalam tiub berpenutup merah. Sekurang-kurangnya 0.5mL serum diperlukan dan dihantar ke makmal dalam keadaan sejuk (dilengkapi dengan pek ais beku atau ais kiub).

3. Kikisan Kulit/Rambut

- Sampel hendaklah disimpan di dalam tiub kaca dengan segera setelah pengambilannya (tiub berpenutup merah untuk pengambilan darah boleh digunakan).
- Jika saiz sampel terlalu kecil, sampel tersebut bolehlah dihantar dengan menggunakan kaca slaid mikroskopi jika slip penutup ditutup dengan selamat menggunakan pengilat kuku. Elak menggunakan pita scotch sebagai slip penutup kerana ia boleh menyukarkan atau bahkan mustahil untuk melihat sampel dengan lebih terperinci melalui pita tersebut.

4. Sampel Tanah

- Sampel tanah hendaklah diambil sekurang-kurangnya 30g setiap satu.
- Sampel hendaklah diambil dua ke tiga inci dari bawah permukaan dari sekurang-kurangnya tiga tempat yang disyaki.
- Sampel hendaklah dihantar dengan menggunakan beg plastik *zip lock*.

PEMERIKSAAN SEROLOGI (MENGESAN ANTIBODI/ANTIGEN)

Bagi ujian *ELISA*, sampel darah dan / atau serum (dari darah haiwan yang berkenaan) hendaklah dihantar ke makmal secepat selepas sampel tersebut diambil. Sampel tersebut boleh disimpan di dalam tiub darah vakutainer (disediakan oleh Makmal Serologi) ataupun di dalam picagari. Isi padu setiap sampel yang diambil tertakluk kepada saiz haiwan; kira-kira 3.0mL hingga 10.0mL. Manakala, jumlah sampel yang diambil haruslah memadai untuk mewakili seluruh populasi haiwan (atau kelompok haiwan) di satu-satu kawasan, sepertimana yang disarankan oleh prosedur standard di dalam Kajiselidik Penyakit Haiwan (*sila rujuk **Rajah 1***). Prosedur ini juga turut digunakan bagi pengambilan sampel calitan, bendalir dan telur yang menetas.

Bagi ujian *rapid* seperti contoh untuk mengesan penyakit Selesema Burung; pencalit dan bahan pencair akan disediakan oleh pihak makmal. Bahan pencair dan sampel calitan hendaklah dicampurkan sebaiknya. Bahan pencair tersebut hendaklah disimpan di dalam peti penyejuk yang diisi dengan pek ais sebelum dihantar ke makmal dengan serta-merta.

MIKROBIOLOGI VETERINAR

Ujian yang dilaksanakan	Sampel yang bersesuaian	Pengambilan sampel
Pengasingan dan Pengesanan <i>Salmonella</i> dari persekitaran ladang	<ul style="list-style-type: none"> • Persampelan dengan <i>swab tip</i> (Persampelan permukaan termasuk saluran pengudaraan, longkang atau bekas makanan) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Keluarkan swab dari pembalut steril dan lembapkan hujung dengan merendamnya ke dalam tiub yang mengandungi BPW. Tekan hujung swab ke dinding tiub untuk mengeluarkan cecair yang berlebihan. ➤ Apabila melakukan permukaan pensampelan, kawasan persampelan hendaklah mencukupi bagi memastikan permukaan swab yang digunakan disaluti dengan bahan. Sebaik-baiknya beberapa lokasi yang berbeza perlu diambil kira untuk memaksimumkan <i>recovery</i> mikroorganisma yang dijadikan sasaran. Setelah itu, potong swab kayu secara aseptik. Letakkan dalam medium pengangkutan (botol yang mengandungi BPW).
	<ul style="list-style-type: none"> • Persampelan dengan Swab Boot (Persampelan lantai) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Masukkan <i>plastic boot cover</i> pakai buang pada kasut atau boot selepas masuk ke dalam reban. ➤ Keluarkan <i>pre-moistened boot swab</i> dari beg Whirl-Pak[®] dan masukkan di atas <i>plastic boot cover</i>. ➤ <i>Seal</i> semula beg dengan segera selepas mengeluarkan swab boot untuk mengelakkan pencemaran dari serpihan udara atau serangga. ➤ Lakukan sekurang-kurangnya 100 langkah dalam setiap reban, termasuk panjang dan lebar reban dan kawasan sarap atau <i>slatted</i> bagi memastikan faecal atau sarap basah di ambil kira. ➤ Sebaik sahaja selepas pengambilan, boot swab ditanggalakan dan disimpan ke dalam beg steril. ➤ Hantar sampel ke makmal dengan segera untuk analisis.

Ujian yang dilaksanakan	Sampel yang bersesuaian	Pengambilan sampel
	<ul style="list-style-type: none"> • Sampel Sarap (Persampelan lantai) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pengambilan sampah hendaklah diambil sekurang-kurangnya 60 kawasan berasingan di dalam reban bagi mencukupi 2 kg dan disimpan di dalam beg steril. Sampel boleh dihantar terus ke makmal atau boleh di campur dan kemudian diambil sahaja porsi sebanyak 25 g untuk dihantar ke makmal.
	<ul style="list-style-type: none"> • Sampel Air 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ambil sekurang-kurangnya 100 ml air dan simpan kedalam bekas steril polypropylene (disimpan sejuk semasa penyimpanan dan pengangkutan). Sila gunakan kontainer yang bersesuaian bagi memastikan suhu penyimpanan dikekalkan. Pastikan bekas tersebut tidak direndam dalam cairan ais semasa pengangkutan.
	<ul style="list-style-type: none"> • Makanan Haiwan 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sampel perlu dihantar sekurang-kurangnya 500 g. Semasa pengangkutan dan penyimpanan tidak diperlukan penyejukan.
Pengasingan dan Pengesanan <i>Salmonella</i> dari haiwan	<ul style="list-style-type: none"> • Calitan Klokal 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ambil najis menggunakan swab steril dan perlu dibasahkan dengan BPW terlebih dahulu. Pastikan sampel yang diambil terkumpul pada swab tersebut. Potong kayu swab secara aseptik dan simpan ke dalam botol yang mengandungi BPW. Kemudian simpan di dalam kotak sejuk.
	<ul style="list-style-type: none"> • Najis 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ambil 10 hingga 20 g najis segar dan di simpan dalam beg steril dan disejukkan. ➤ Sampel tidak boleh disimpan terlalu lama. Sekiranya ada halangan, pastikan sampel tersebut disejukkan. ➤ Sampel najis tidak boleh dihantar menggunakan <i>glove</i>.

Ujian yang dilaksanakan	Sampel yang bersesuaian	Pengambilan sampel
Pengasingan dan Pengesanan <i>Salmonella</i> dari ladang penetasan	<ul style="list-style-type: none"> • Kulit telur yang pecah 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sampel kulit telur yang pecah boleh diambil dari alas bakul yang tidak digunakan. Serpihan telur dari beberapa bakul bagi setiap penetas hendaklah dikumpulkan dalam beg besar.
	<ul style="list-style-type: none"> • Embrio mati (telur yang tidak subur) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ambil sekurang-kurangnya 60 biji telur dan hantar ke makmal.
	<ul style="list-style-type: none"> • Alas kotak anak ayam 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ambil sekurang-kurangnya lima alas kotak dari setiap kumpulan dengan permukaan sekurang-kurangnya 1m², kemudian masukkan ke dalam beg steril dan letakkan beg steril ini ke dalam beg kedua sebelum dihantar ke makmal.
Pengasingan dan Pengesanan Bakteria	<ul style="list-style-type: none"> • Spesimen yang diperolehi dari haiwan atau bangkai (organ/tisu haiwan, najis, cecair seperti darah dan air kencing, dan bahan buangan lain) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sampel yang diambil hendaklah segar dengan cara aseptik dan disimpan secara berasingan di dalam kontainer steril yang bersesuaian (<i>petri dish</i>/syringe, tiub atau botol) dan dilabel dengan jelas. Sampel tersebut hendaklah disejukkan dan jangan dibekukan. ➤ Calitan bagi sampel tersebut juga diterima. Gunakan swab tip yang steril dan letakkan di dalam bekas berisi BPW. Kemudian simpan di dalam kotak sejuk.
Pengesanan dan Pengiraan Jumlah Coliform dan <i>Escherichia coli</i> di dalam air	<ul style="list-style-type: none"> • Sampel air 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ambil sekurang-kurangnya 100ml air dan simpan ke dalam bekas steril <i>polypropylene</i> dengan penutup tahan bocor (disimpan sejuk semasa penyimpanan dan pengangkutan). Gunakan kontainer yang bersesuaian bagi memastikan suhu penyimpanan dikekalkan. Pastikan bekas tersebut tidak direndam dalam cairan ais semasa pengangkutan.

Ujian yang dilaksanakan	Sampel yang bersesuaian	Pengambilan sampel
<i>Aerobic Plate Count</i> bagi Pemantauan Alam Sekitar (Kualiti udara)	<ul style="list-style-type: none"> • Pendedahan plat 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bagi setiap pendedahan plat hendaklah dilabel dengan jelas tarikh, masa, kawasan & lokasi menggunakan pen kalis air. Letakkan plat dibeberapa tempat. Setelah itu buka penutup plat dan biarkan terdedah selama 15 ke 60 minit. Tutup plat tanpa menyentuh permukaan agar. Simpan sampel plat dan <i>control</i>/plat di dalam beg <i>zip-lock</i>.
<i>Aerobic Plate Count</i> bagi Pemantauan Alam Sekitar (Permukaan)	<ul style="list-style-type: none"> • Pemantauan permukaan dengan calitan / <i>agar contact plate</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Buka penutup plat RODAC dan perlahan-lahan geselkan permukaan agar pada permukaan tempat yang hendak diperiksa sekurang-kurangnya 10 saat. Tutup plat tanpa menyentuh permukaan agar. Simpan sampel plat di dalam beg <i>zip-lock</i>.
<i>Heterotrophic Plate Count</i> bagi Pemantauan Alam Sekitar (Air)	<ul style="list-style-type: none"> • Sampel air 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ambil sekurang-kurangnya 100ml air dan simpan ke dalam bekas steril <i>polypropylene</i> dengan penutup tahan bocor (disimpan sejuk semasa penyimpanan dan pengangkutan). Gunakan kontainer yang bersesuaian bagi memastikan suhu penyimpanan dikekalkan. Pastikan bekas tersebut tidak direndam dalam cairan ais semasa pengangkutan.

Transport medium diatas boleh didapati (dengan pengambilan sendiri) dari UPMV. Sila hubungi kaunter penerimaan UPMV sekurang-kurangnya dua hari sebelum pengambilan.

Nota: Semua sampel bagi kultur mikrobiologi hendaklah diambil **SEBELUM RAWATAN ANTIBIOTIK** (kecuali bagi pemantauan keberkesanan rawatan). Ianya adalah amat digalakkan bagi mengambil semua sampel-sampel ini secara aseptik (memakai sarung tangan), kemudian letakkanya di dalam bekas / beg / botol steril yang tahan bocor dan hantar sampel dalam keadaan sejuk terus ke UPMV pada hari pengambilannya.

MOLEKULAR BIOLOGI

1. Sampel bagi ujian pengesahan penyakit selesema burung termasuk:

- Calitan (hidung, trakea, klokal)
 - Darah dan cecair badan
- Sampel hendaklah ditanda dengan jelas dengan identiti sampel dan tarikh sampel diambil, disimpan di dalam kontena berisi pek ais dan dihantar ke makmal secepatnya.
- Disarankan untuk menggunakan calitan kapas steril bagi sampel calitan. Calitan kapas hendaklah dicalit ke sel-sel dengan bertenaga. Calitan itu hendaklah disimpan di dalam tiub yang steril tanpa apa-apa tambahan yang disediakan oleh makmal dengan segera setelah pengambilannya.
- Sampel darah boleh dihantar samada menggunakan picagari yang digunakan untuk mengambil sampel darah atau di dalam tiub dengan jumlah sampel darah tidak kurang dari 1.0 ml.

2. Sampel daging mentah, proses dan makanan ternakan bagi ujian 'species identification' / 'meat speciation':

- Sampel daging mentah, daging proses atau makanan ternakan yang di ambil hendaklah dengan purata berat sekurang-kurangnya 50 g setiap satu.
- Sampel hendaklah di simpan secara berasingan di dalam kontena atau beg plastik yang tertutup dan ditanda dengan jelas.

3. Sample bagi pemeriksaan Rabies termasuk:

- Air liur
- Calitan oral

- a) Untuk calitan: Gunakan calitan kapas steril, untuk mencalit permukaan lidah dan dalam dinding pipi anjing selama 20 saat. Masukkan calitan tersebut ke dalam PBS (2 mL) dan simpan di dalam kontena yang di isi dengan pek ais. Tanda sampel dengan identity sampel dan tarikh pengambilan dan hantar ke makmal dengan segera. Calitan dan PBS akan disediakan oleh UPMV.

- b) Untuk air liur: Dengan menggunakan 10 atau 50 ml picagari steril, ambil sekurang-kurangnya 0.5 ml air liur anjing dan simpan di dalam tiub steril. Tanda tiub dengan jelas dan hantar ke makmal dengan segera.

KIMIA KLINIKAL/ HEMATOLOGI

Makmal kimia klinikal/ hematologi pada masa ini hanya menyelenggarakan tiga jenis pemeriksaan/ penganalisan iaitu (i) ujian biokimia darah, (ii) ujian pengiraan sel darah secara menyeluruh (CBC) dan (iii) ujian air kencing yang di ambil dari haiwan kecil dan besar.

Tiub yang dilengkapi dengan anti pembekuan darah K₂ EDTA hendaklah digunakan untuk pengambilan sampel darah bagi tujuan pemeriksaan haematologi, profil sel darah; manakala bagi pemeriksaan biokimia darah disarankan menggunakan tiub yang mengandungi *lithium heparin*. Kedua-dua jenis tiub ini bukanlah “vacutainer”.

Sampel darah yang diambil hendaklah diambil dengan menggunakan picagari dan sampel darah yang diambil itu dipindah segera ke dalam tiub yang bersesuaian yang dibekalkan oleh makmal dan hendaklah ditanda dengan jelas (identiti haiwan dan tarikh pengambilan). Jumlah darah yang diperlukan adalah sekurang-kurangnya 1ml atau separuh dari tiub berkapasiti penuh 3ml. Sila pastikan bahawa sampel darah tersebut dicampur dengan baik serta merta dengan zat anti pembekuan darah dengan membalik-balikan tiub tersebut perlahan-lahan sebanyak 10 kali.

Sampel air kencing hendaklah disimpan di dalam botol yang dibekalkan oleh makmal. Sampel hendaklah ditanda dengan jelas identiti haiwan dan tarikh pengambilannya menggunakan pen kalis air dan kemudiannya diletakkan di dalam kontena yang dilengkapi dengan pek ais beku atau ais kiub bagi memastikan suhu penyimpanan tidak melebihi dari 8°C semasa penghantarannya ke makmal pada hari yang sama.

Sampel air kencing juga diambil segar dan disimpan di dalam botol yang disediakan oleh makmal. Sampel tersebut juga perlu ditanda dengan jelas dan terperinci. Sampel ini dibolehkan untuk dihantar tanpa menyimpannya di dalam kontena tetapi hendaklah disimpan di dalam beg plastik yang tertutup dan bersih sesegeranya ke makmal sejurus sampel di ambil.

RAJAH 1: PANDUAN PENGAMBILAN SAIZ-SAIZ SAMPEL UNTUK POPULASI HAIWAN

Nota: Panduan ini adalah untuk sampel-sampel diagnostik saja.

Saiz sampel yang dikehendaki untuk mencukupi kadar 95% kepastian sehingga memberikan keyakinan bahawa sekurang-kurangnya satu dari bilangan sampel yang diambil tersebut didapati positif; dan saiz sampel dikehendaki bila terdapat penyakit yang diketahui.

Saiz Populasi (N)	Saiz sampel yang ditetapkan berdasarkan kepada kadar prevalensi 5% ($n/N \times 100\%$)	Saiz sampel yang diperlukan dimana penyakit berjangkit diperlihatkan semasa disyaki*
<10	Kesemua sampel	4
10	10	4
20	19	4
30	26	4
40	31	5
50	35	5
60	38	5
70	40	5
80	42	5
90	43	5
100	45	5
120	47	5
140	48	5
160	49	5
180	50	5
200	51	5
250	53	5
300	54	5
350	54	5

* dengan kadar prevalensi sekurang-kurangnya 50%

Saiz Populasi (N)	Saiz sampel yang ditetapkan berdasarkan kepada kadar prevalensi 5% ($n/N \times 100\%$)	Saiz sampel yang diperlukan dimana penyakit berjangkit diperlihatkan semasa disyaki*
400	55	5
450	55	5
500	56	5
600	56	5
700	57	5
800	57	5
900	57	5
1000	57	5
1200	58	5
1400	58	5
1600	58	5
1800	58	5
2000	58	5
3000	58	5
4000	58	5
≥ 5000	59	5
∞	59	5

Note: n= Jumlah haiwan yang disyaki berpenyakit atau menunjuk tanda-tanda klinika penyakit

N= Jumlah Populasi (populasi yang berisiko)

TEMPOH PENYIMPANAN SAMPEL

Sampel yang diterima bagi ujian pemeriksaan/penganalisan makmal akan digunakan seluruhnya bagi ujian yang dikehendaki. Apabila terdapat sebahagian ataupun baki, maka sampel tersebut akan disimpan oleh pihak makmal bagi tempoh tidak melebihi satu (1) minggu sebelum dilupuskan.

TEKAD PEMEDULIAN ORANG RAMAI (TPOR)

Rajah di bawah ialah tempoh TPOR untuk setiap aktiviti pemeriksaan/penganalisan yang diberikan.

Rajah 1: Tekad Pemedulian Orang Ramai (TPOR)

Bil.	Makmal	Aktiviti-aktiviti pemeriksaan/ Skop Kerja (penganalisan)	TPOR (hari)
1	Patologi	Melaksanakan Pemeriksaan Patologi	3
2	Parasitologi	Melaksanakan Pemeriksaan Parasitologi	3
3	Mikrobiologi Veterinar	Melaksanakan Penganalisan Mikrobiologi Veterinar	12
4		Melaksanakan Ujian <i>Environmental Monitoring</i>	4
5		Melaksanakan Ujian <i>Environmental Monitoring (Salmonella)</i>	12
6		Melaksanakan Pengesanan dan Pengiraan <i>E.coli / Coliform (Air)</i>	3
7	Serologi	Melaksanakan Penganalisan Serologi Menggunakan <i>Rapid Test</i>	1
8		Melaksanakan Penganalisan Serologi Menggunakan <i>ELISA Test</i>	5
9	Molekular Biologi	Melaksanakan Penganalisan Molekular Biologi	5
10	Kimia Klinikal/ Hematologi	Melaksanakan Penganalisan Kimia Klinikal	3

UPMV sentiasa memastikan laporan makmal siap disediakan sejurus selepas selesai

penganalisaan.

Setiap pelanggan hendaklah mengambil laporan penganalisaan dari kaunter penerimaan UPMV.

Semua pelanggan seharusnya memahami secara menyeluruh syarat-syarat setiap Tekad Pemedulian Orang Ramai (TPOR) bagi penganalisaan yang diperlukan, agar apa sahaja kesalahfahaman pada pengambilan laporan penganalisaan dari kaunter UPMV boleh dielakkan. Kerjasama biskita adalah sangat dihargai.

PELANGGAN BARU

Pelanggan baru perlu mengisi Borang Permintaan Ujian Baru, VLS-SOP-09-02 dan mengikuti taklimat ringkas mengenai perkhidmatan yang diberikan oleh UPMV. Pelanggan lama yang sudah berdaftar perlu mengisi borang tersebut sekiranya pelanggan memerlukan perkhidmatan yang baru. Borang tersebut boleh didapati di kaunter penerimaan UPMV.

UNTUK KETERANGAN LANJUT

SILA HUBUNGI

UNIT PERKHIDMATAN MAKMAL VETERINAR

Telefon

+673-896 5122 (UPMV di Kilanas)

Emel: veterinarylab@gmail.com