



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3268—2012

鼠类携带病原体检测标本的保存方法

Preservation methods of specimen of rodents for the pathogens detecting

2012-10-23 发布

2013-05-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布
国 家 质 量 监 督 检 验 检 疫 总 局

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

标准起草单位：中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国二连浩特出入境检验检疫局、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：孙肖红、乔舜、孙时、宋锋林、田丽、张晓龙、魏莲、魏怀波、杨永莉、杨宇、王静。

鼠类携带病原体检测标本的保存方法

1 范围

本标准规定了鼠类携带病原体检测用标本的保存方法。

本标准适用于国境口岸检验检疫部门开展鼠类携带病原体的检测用标本的保存。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 19489 实验室 生物安全通用要求
病原微生物实验室生物安全管理条例(2004)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

鼠类 rodent

与鼠传疾病有关的鼠形动物(包括啮齿目、兔形目和食虫目动物)。

3.2

检测标本 specimen

用来作为病原体检测的样本,主要包括鼠类脏器(如:心、肺、肝、脾、肾、肠等),血液(全血、血清),脑组织、肌肉组织以及体表寄生虫(如蚤类、蜱类、螨类等),排泄物(粪、尿)。

4 实验室条件及防护要求

4.1 总则

检测标本的处理应在生物安全2级及以上实验室中进行。生物安全2级及以上实验室的要求要符合GB 19489和《病原微生物实验室生物安全管理条例》中同级别实验室的要求,并按照以上两个标准的要求来进行个人防护。

4.2 个人防护用具

白色或浅色连体防护服、白色长筒袜、长筒雨靴、无粉手套、口罩、眼罩/防护眼镜等。

4.3 冷藏设备

超低温冰箱($-60\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-80\text{ }^{\circ}\text{C}$)、低温冰箱($-20\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-40\text{ }^{\circ}\text{C}$)、普通冰箱($2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim4\text{ }^{\circ}\text{C}$)、液氮罐。

4.4 保存用材料

液氮、干冰、冰架、2 mL细胞冻存管、0号自封袋、试管(5 mL~20 mL)、带盖塑料盒、油性记号笔。

4.5 组织、脏器保存液

组织脏器保存液的配制见附录 A。

5 检测标本的保存方法

5.1 冷冻保存

用于细菌、病毒分离和检测的组织、血清等所有样本可选择不同的存贮容器直接冷冻保存(−80℃冰箱),也可用化学制冷剂(如干冰)或在液氮罐中保存。

5.2 保存液保存

针对鼠疫耶尔森菌检测的组织或脏器的样本可用 20%中性甘油盐水保存。针对病毒检测的组织样本可在 50%甘油磷酸盐缓冲液中保存,在 5℃条件下保存数周;也可用组织保存液保存;或保存于 RNAlater¹⁾ 保存液(用于核酸检测的样本方可用这种方法,但无法再进行病原分离检测),样品保存液中保存的新鲜样品 37℃下稳定保存 1 d,18℃~25℃保存 7 d,2℃~8℃稳定 4 周,−20℃长久保持(见附录 A)。

5.3 滤纸吸附保存(血纸条)

在解剖动物取材的过程中用 2 cm×5 cm 的普通滤纸条蘸取动物胸(腹)腔或者取血部位,以血液浸湿至滤纸长度的一半处为准,自然晾干后装入样本塑料袋常温或者冷冻保存即可。

对于抗体检测试验如血凝试验、胶体金试验、酶联免疫吸附试验适用该保存方法。

5.4 鼠类携带医学媒介生物的保存

5.4.1 分类鉴定

将从鼠体上梳检下来的医学媒介生物,如蚤、蜱、螨等置于试管中,做分类鉴定。做好分组标识记录。

5.4.2 分装

将鉴定后分组后的医学媒介生物装入小玻璃瓶,用 1:200 000 龙胆紫 2%盐水清洗 3 次,尽快送检。需要做保存的,应按照鉴定分组装入 1:200 000 龙胆紫 2%盐水试管中,上面放灭菌脱脂棉球,确保标本沉入保存液中,保存不超过 3 个月。

5.4.3 冻存

将标本直接装入带盖离心管、一拉得塑封袋或其他包装内,根据保存时间长短选择温度段冷冻保存。3 d 内 2℃~8℃保存即可,1 周内 −20℃~−30℃保存,超过 1 周的应保存在 −60℃~−80℃超低温冰箱或液氮中。

5.4.4 活体保存

如需要短期保存活体标本,则于试管底部放少量湿润、洁净细沙土,再放入少许青草,将活体标本放

1) 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。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效产品。

入其中,用棉花、纱布或软木塞塞好管口,保存于阴凉处。该方法适用于短期保存,一般不超过 3 d。

6 保存时限

6.1 待检标本

采集的标本应在计划既定期限内完成检测工作,如需长期保存的标本,应按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》的相关规定执行。

6.2 阳性标本

6.2.1 立即销毁

对于经过检测结果阳性的检测标本,按照规定程序送检相关权威部门确认后应按照本实验室的相关规定销毁。

6.2.2 继续做活菌/病毒

需要进一步做细菌或病毒研究的应按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》的相关规定执行。

6.2.3 灭活实验

需要做血清学检测项目的血清样本,应在 56 ℃ 灭活 30 min 后方可开展实验。

6.3 未检出目标病原体标本

经确认目标病原体检出阴性的标本不再保存,须按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》规定及本实验室制定的《实验室废弃物处理规程》及时处理。

7 安全保存原则

7.1 存储包装应密封,防止渗漏、浓缩。

7.2 低温冷冻样本尽可能分装,避免多次冻融。

7.3 建立详细的样本保存/销毁档案,标本信息资料应完整。

7.4 标本应标识清晰,确保标本的可溯源性。

7.5 定期检测冷冻液量和冰箱温度。

7.6 实行双人专管负责制。

7.7 实验室应有按照 GB 19489 及《病原微生物实验室生物安全管理条例(2004)》要求建立的安全管理体系文件和程序文件。

SN/T 3268—2012

附 录 A
(规范性附录)
组织、脏器保存液的配制

A.1 20%中性甘油盐水

中性甘油(化学纯)20 mL、氯化钠 0.85 g、蒸馏水 80 mL 混匀后分装,高压灭菌(121 °C,15 min)。

A.2 50%甘油磷酸盐缓冲液

取等体积的甘油与等体积的 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液混合,调 pH 值为 7.0 即可。

100 mL 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液具体配方为:0.2 mol/L Na_2HPO_4 81 mL 和 0.3 mol/L NaH_2PO_4 19 mL 混合。

A.3 组织保存液

0.5%水解乳蛋白、2%小牛血清、青霉素 500 U/mL、链霉素 50 U/mL、制霉菌素 50 U/mL 组成的溶液。

A.4 RNAlater 保存液²⁾

RNAlater 可以迅速渗透到组织或其他生物样本中,稳定并保护 RNA 完整而不被降解,确保下游分析得到的数据真实反应样品的表达信息。RNAlater 保存液为商品试剂盒,购买后按照试剂盒说明操作。

2) 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。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效产品。
