

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/TXXXX —XXXX

动物源细菌耐药性监测实验室建设规范

Specifications of laboratory construction for antimicrobial resistance
surveillance of animal-derived bacteria

(公开征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国兽药残留与耐药性控制专家委员会归口。

本文件起草单位：中国兽医药品监察所、上海市动物疫病预防控制中心、中国农业大学、山东省饲料兽药质量检验中心

本文件主要起草人：崔明全、商军、张好、李洁、孙冰清、王鹤佳、白玉惠、张亦菲、孙城涛、张纯萍、李霆、程敏、赵琪、汤文利、宋祥彬、方雅红、蔡昱婷。

征求意见稿

动物源细菌耐药性监测实验室建设规范

1 范围

本文件规定了动物源细菌耐药性监测实验室（以下简称“实验室”）的基本要求、功能分区和仪器配置、人员、文档以及生物安全要求。

本文件适用于动物源细菌耐药性监测实验室的建设。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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
- GB 50346 生物安全实验室建筑技术规范
- GB/T 27405 实验室质量控制规范 食品微生物检测

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

动物源细菌耐药性监测实验室 laboratory for antimicrobial resistance surveillance of animal-derived bacteria

在动物源细菌耐药性监测过程中，主要用于动物源样品接收与处理、细菌分离与鉴定、菌株保存及药物敏感性测试等，且符合生物安全二级（BSL-2）防护要求的工作场所。

4 基本要求

4.1 选址

- 4.1.1 应符合国家和地方环境保护和建设主管部门等的规定和要求。
- 4.1.2 应选择在清洁安静、光线充足、通风良好的场所。
- 4.1.3 应避开化学、生物、噪音、振动、强电磁场等可能对检测结果造成影响的污染源地及易燃易爆场所。

4.2 布局与建筑

- 4.2.1 实验室整体布局合理，按检验操作流程宜划分为不同功能区，各功能区可为独立功能单元，也可为局部区域，以满足开展动物源细菌耐药性监测工作的需求。有条件的实验室宜按操作流程建设独立功能区。
- 4.2.2 建筑、结构及装修应符合 GB 50346 的规定。
- 4.2.3 实验室耐火等级不宜低于二级，应设置合适的灭火器材。
- 4.2.4 实验室墙壁、地面应光滑平整、易清洁、不渗水，耐腐蚀，地面还应防滑。
- 4.2.5 对于改、扩建项目，应充分利用现有资源及基础设施条件。

4.3 设施

- 4.3.1 实验室应具备生物安全防护设备和个人生物安全防护装备，具备从事相应动物源细菌实验操作条件。
- 4.3.2 应有通风换气、给水排水、自动喷淋装置、应急照明、洗眼、防火和防蚊虫等设施。
- 4.3.3 实验区主入口的门和放置有生物安全柜实验室的门应有进入控制设施，应能自动关闭。

- 4.3.4 实验台应光滑、不透水、耐腐蚀、耐热和易于清洗。
- 4.3.5 洗手池应设有自动水开关。
- 4.3.6 应有废液、废弃物等分类收集设施。
- 4.3.7 应有消毒灭菌设施，各独立区域应有独立清洁设施。
- 4.3.8 应有易燃、易爆、易制毒等危险化学品存放设施。
- 4.3.9 若涉及气体供应，应符合 GB 50346 的规定。
- 4.3.10 应有不间断电源。
- 4.3.11 应建立明晰的标识系统，要求如下：
 - a) 各功能区应建立标识；
 - b) 实验区入口处应有实验室布局示意图，并设有警示标识，标明生物安全防护级别、生物安全负责人、紧急联系方式、国际通用的生物危险符号等信息；
 - c) 实验室应设置清晰可辨的紧急疏散指示标识，并有紧急安全逃生门；
 - d) 对生物危害区域、高温高速设备、有毒有害物品及锐器等，均应设有警示标识；
 - e) 应设置防护措施的指示或禁止标识。
- 4.3.12 减少污染的其他设施应按 GB/T 27405 的规定执行。

5 功能分区和仪器配置

5.1 功能分区

5.1.1 概述

按检验操作流程实验室宜划分为实验准备区、样品处理区、细菌分离鉴定区、药敏试验区、菌株保藏区、核酸检测分析区和废弃物处理区等功能区。

5.1.2 实验准备区

用于器皿的清洗、试剂耗材的储存、相关试剂与培养基的配制、试剂耗材与培养基的高压灭菌、固体培养基的制备及无菌液体试剂的分装等。

5.1.3 样品处理区

用于样品的接收、储存、预处理等操作。按BSL-2要求，对样品包装表面进行消毒、建立唯一性标识等预处理措施。

5.1.4 细菌分离鉴定区

用于样品中目标细菌的分离、纯化、鉴定等操作。

5.1.5 药敏试验区

用于菌株的药物敏感性测试。

5.1.6 菌株保藏区

用于菌株的短期及长期保存。

5.1.7 核酸检测分析区

用于核酸检测相关试剂配制与贮存、核酸提取、核酸扩增、核酸扩增产物分析等技术操作。实验室宜对上述操作区划分为独立单元，遵循单向流动原则，工作区域之间宜设置缓冲间，人流物流宜分开，防止交叉污染，避免核酸染料毒性的伤害。核酸检测分析区宜包括以下区域。

- a) 试剂配制与贮存区，用于试剂的配制和贮存（包括商业化的试剂），所有试剂的配制与分装。
- b) 核酸提取区，用于样品的前处理，核酸的提取、纯化与贮存，核酸提取质量检查等。若进行RNA检测的实验室，在此区域内应有专门的RNA操作区。
注：样品前处理所有器皿需经过彻底清洗和高压消毒处理，并单独使用。用过的器皿需采取措施消除核酸的污染，否则不能重复使用。
- c) 核酸扩增区，用于扩增反应体系的配制和模板的加入，核酸扩增。

- d) 核酸扩增产物分析区，用于扩增产物的检测和确认，若实验室仅采用全自动扩增检测仪（如实时荧光定量 PCR 仪），可将核酸扩增区与核酸扩增产物分析区合并为一个区。

5.1.8 废弃物处理区

用于实验废弃物的高压灭菌和器皿清洗处理等操作。

5.2 仪器配置

- 5.2.1 各功能区的仪器配置见附录 A。其中同一仪器若需在不同功能区交叉使用，实验室可根据防止交叉污染原则进行配置。
- 5.2.2 仪器应放置于适宜的环境条件下，便于维护、清洁和消毒，并保持整洁与良好的状态。
- 5.2.3 仪器应定期进行核查和/或检定、校准（加贴标识）、维护和保养，以确保工作性能和操作安全。

6 人员

- 6.1 实验室管理人员和技术人员应相对固定，宜配备 4 名及以上具有与从事细菌耐药性监测工作相匹配的人员。
- 6.2 实验室管理人员应具备以下条件：
- 熟悉微生物检验工作，具备微生物分离鉴定、抗菌药物敏感性测试、质量控制、生物安全相关理论知识和实践经验；
 - 具有医学、兽医学、微生物学或公共卫生学等专业大专及以上学历，从事动物源细菌耐药性监测或具有相关工作经验至少 3 年。
- 6.3 实验技术人员应具备以下条件：
- 微生物专业教育或培训经历，具备相关专业及生物安全知识；
 - 掌握动物源细菌耐药性监测样品采集、微生物分离鉴定、抗菌药物敏感性测试、数据分析总结及动物源细菌耐药性监测网数据上报等业务技能；
 - 熟悉实验室仪器的使用、保养和维护操作；
 - 操作高压灭菌锅的人员应经过特种设备专业培训并获得特种设备操作证书。
- 6.4 人员应定期进行培训，培训应有计划、记录、效果评价和证明性材料等。

7 文档

7.1 文件与记录

- 7.1.1 实验室应建立和保持文件与记录的识别、收集、索引、存取、存放、维护和清理的控制程序。对所有文件与记录分类编号、及时归档、妥善保存，保存期应满足相关法律法规和实验活动可追溯的要求，进行有效管理。
- 7.1.2 实验室文件与记录应清晰准确，适当存放和保存。

7.2 档案

- 7.2.1 应建立以下档案：
- 原始记录档案，包括样品采集记录、细菌鉴定记录、药敏试验记录等。
 - 动物源细菌耐药性监测工作报告。
- 7.2.2 档案应有专人管理。

8 生物安全

检测后进行菌株保藏和处理应符合《动物病原微生物菌（毒）种保藏管理办法》《动物病原微生物分类名录》《人间传染的病原微生物目录》的规定。

实验室设施设备、人员防护及实验的安全操作、实验废弃物和菌株的处理销毁应符合 GB 19489 的规定。

附录 A
(资料性)
实验室仪器配置

实验室仪器配置见表A.1。

表 A.1 实验室仪器配置

核心功能区	仪器	用途	配置优先级	备注
实验准备区	高压灭菌锅	用于实验室培养皿，试剂，耗材等实验用品的消毒灭菌处理。	基本配置	-
	生物安全柜	用于无菌实验操作，例如培养基的制备和无菌试剂的分装等。	基本配置	-
	电热恒温鼓风干燥箱	用于干燥玻璃器皿或高压灭菌后的吸液枪头、试管等耗材。	基本配置	-
	普通冰箱	用于保持恒定4℃和-20℃低温，储藏试剂。	基本配置	-
	药物冷藏柜	用于药物、试剂和培养基的冷藏保存。	基本配置	有条件的实验室设置冷藏室。
	pH计	用于测定溶液酸碱度值。	基本配置	-
	天平	用于培养基的称量。	基本配置	精度：0.01g
	分析天平	用于药敏试验中测试药物的称量。	基本配置	精度：0.1mg、0.01mg
	磁力搅拌器	用于培养基或实验试剂的加速溶解。	基本配置	-
	水浴锅	用于实验试剂或培养基的水浴孵育。	基本配置	-
	超纯水仪	用于制备实验所需的条件用水。	基本配置	-
	制冰机	用于制备雪花状冰晶，在实验操作过程中临时保存DNA、RNA和酶制剂等有低温存储需求的实验试剂。	拓展配置	-
	培养基分装蠕动泵	用于培养基的分装制备。	拓展配置	-
样品处理区	生物安全柜	用于实验室生物样品的安全操作。	基本配置	-
	可移动紫外灯	用于特定区域的紫外消毒。	基本配置	-
	普通冰箱	用于保持恒定4℃和-20℃低温，暂存样品。	基本配置	-

表 A.1 实验室仪器配置 (续)

核心功能区	仪器	用途	配置优先级	备注
细菌分离鉴定区	普通光学显微镜	用于微生物细菌革兰染色镜检。	基本配置	-
	生物安全柜	用于细菌分离鉴定保存安全操作。	基本配置	-
	恒温培养箱	用于细菌特定温度需氧环境培养。	基本配置	-
	高速离心机	用于细菌细胞分离组分操作。	基本配置	转速：满足不小于等于 8 000 r/min。
	普通冰箱	用于保持恒定 4℃ 和 -20℃ 低温，储藏试剂和培养基。	基本配置	-
	震荡培养箱（摇床）	用于液体培养基中细菌的震荡培养。	基本配置	-
	二氧化碳培养箱	用于营造特殊气体组分培养环境，满足细菌的生长需求。	拓展配置	-
	高速冷冻离心机	用于细菌细胞分离组分操作。	拓展配置	转速：满足不小于等于 8 000 r/min。
	厌氧培养系统	用于厌氧菌的培养。	拓展配置	-
	全自动微生物鉴定及药敏分析系统	用于细菌生化鉴定和药敏测试。	拓展配置	-
	基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪	用于细菌快速鉴定及分型；蛋白质、多肽、微生物代谢物的鉴定分析。	拓展配置	建议单独房间配置，并可调控房间温度。
药敏试验区	生物安全柜	用于配制菌液、对药敏板加样等的安全操作。	基本配置	-
	电子比浊仪	用于测定菌悬液中细菌麦氏浊度。	基本配置	-
	普通冰箱	用于保持恒定 4℃ 和 -20℃ 低温，储藏药敏板和试剂。	基本配置	-
	恒温培养箱	用于药敏板中细菌的培养。	基本配置	-
	多通道移液器	用于药敏板加样的批量操作。	基本配置	-
	二氧化碳培养箱	用于营造特殊气体组分的培养环境，满足药敏板中细菌生长需求。	拓展配置	-
	厌氧培养系统	用于药敏板中厌氧菌的培养。	拓展配置	-
	药敏板自动加样仪	用于 96 孔板微量肉汤稀释液的自动加样。	拓展配置	-
	涡旋仪	用于菌液的混匀。	拓展配置	-
	药敏读板仪	用于读取药敏结果。	拓展配置	-
菌株保藏区	可移动紫外灯	用于特定区域的紫外消毒。	基本配置	-
	普通冰箱	用于保持恒定 4℃ 和 -20℃ 低温，长期或短期保存菌株。	基本配置	-

表 A.1 实验室仪器配置（续）

核心功能区	仪器	用途	配置优先级	备注
菌株保藏区	超低温冰箱（-80℃）	用于菌株的低温保存。	基本配置	-
	冻干机	用于冻干菌株。	拓展配置	-
核酸检测分析区	生物安全柜	用于提取细菌核酸和加生物试剂时的安全操作。	基本配置	-
	PCR 扩增仪	用于基因 PCR 扩增、载体构建、基因表达分析以及分子标记等。	基本配置	-
	凝胶成像系统	用于紫外荧光、化学发光样品和可见光样品的成像检测。	基本配置	-
	凝胶电泳仪	用于琼脂糖凝胶电泳实验。	基本配置	-
	恒温混匀仪	用于实验试剂的混匀操作。	基本配置	-
	水浴恒温振荡器	用于微生物或分子试剂组分的水浴恒温震荡孵育。	基本配置	-
	多功能离心机	用于分离细菌提取 DNA 和质粒等核酸分子试验。	基本配置	-
	普通冰箱	用于核酸分子试剂、DNA 模板、PCR 扩增产物等试剂的 4℃ 和 -20℃ 低温储藏。	基本配置	-
	荧光定量 PCR 仪	用于基因表达的绝对定量和相对定量，以及单核苷酸多态性（SNPs）基因分型等检测。	拓展配置	-
	核酸提取工作站	用于细菌核酸提取。	拓展配置	-
	真空离心浓缩仪	用于各种样品中的水或有机溶剂的浓缩和干燥，尤其适用于核酸和蛋白浓缩前处理。	拓展配置	-
	多功能微孔板检测仪	用于酶动力学、酶活性分析等分光光度计量。	拓展配置	-
	超微量 DNA 检测仪	用于核酸，蛋白浓度定量分析。	拓展配置	-
	超低温冰箱（-80℃）	用于实验室生物试剂及细菌 DNA 的低温保存。	拓展配置	-
废弃物处理区	高压灭菌锅	用于动物源样品和实验带菌废弃物的高压灭菌处理。	基本配置	有条件的实验室安装于落地通风柜（橱）中。
	可移动紫外灯	用于特定区域的紫外消毒。	基本配置	-
<p>注1：“基本配置”为实验室需配置的仪器，“拓展配置”为实验室推荐配置的仪器。</p> <p>注2：同一仪器是否在不同分区交叉使用，实验室根据防止交叉污染原则，以实际场地特点和需求选择配置。</p>				

参 考 文 献

- [1] 《动物病原微生物菌（毒）种保藏管理办法》（农业农村部令 2022 年第 1 号修订）
 - [2] 《动物病原微生物分类名录》（农业部令 第 53 号）
 - [3] 《人间传染的病原微生物目录》（国家卫生健康委员会国卫科教发〔2023〕24号）
-

征求意见稿