SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2610—2010

可疑样品中生物高风险因子现场排查方法 免疫层析法

Detection methods for biological high-risk factors on site—Immunochromatographic test

2010-05-27 发布　　2010-12-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局　发布

中国标准出版社
数码防伪

食品伙伴网http://www.foodmate.net

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
可疑样品中生物高风险因子现场排查方法
免疫层析法
SN/T 2610—2010
*
中国标准出版社出版
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
*
开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 9千字
2010年10月第一版 2010年10月第一次印刷
印数 1—1 600
*
书号：155066·2-21223 定价 16.00 元

食品伙伴网http://www.foodmate.net

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。

本标准起草单位：中国检验检疫科学研究院、军事医学科学院微生物流行病研究所、中华人民共和国河北出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：杨宇、周蕾、韩伟、王慧兰、胡孔新、孙肖红、张顺合、张乐、王静。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

可疑样品中生物高风险因子现场排查方法
免疫层析法

1 范围

本标准规定了胶体金免疫层析法和上转磷光免疫层析法用于快速筛查国境口岸现场生物高风险因子的检验对象、方法、结果判定和处置。

本标准适用于国境口岸发现的可疑物品中生物恐怖因子或重要病原体的现场快速检测，包括固体（如：粉末、易粉碎性固形物、物体表面等）、半固体、液体和医学媒介生物等。

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

SN/T 1552 国境口岸生物因子恐怖事件监测规程

SN/T 1876 医学媒介生物标本采集、制作及保存规程

WS 233 微生物和生物医学实验室生物安全通用准则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

生物高风险因子 biological hight risk factors

可用于危害人体健康的病原微生物或生物毒素，在外环境中稳定性好，易于生产、保存、包装、运输和释放，经不同途径感染人体可造成人群失能和死亡。例如鼠疫耶尔森菌、炭疽芽孢杆菌及其芽孢、肠出血性大肠杆菌O157、肉毒毒素、蓖麻毒素等。

3.2

免疫层析法 immunochromatographic test

利用微孔膜的毛细血管作用，通过液体样品在层析介质中的移动，检测特异性抗原或抗体存在的免疫学方法。

3.3

上转磷光免疫层析法 Up-Convertion phosphor technology，UPT

一种采用上转换发光材料作为标记物的新型光学免疫层析方法，简称UPT法。

4 生物安全防护要求

4.1 排查前做好个人防护，防护方法和标准见SN/T 1552。

4.2 实验室应遵循GB 19489和WS 233对生物安全2级（BSL-2）实验室的生物安全要求。

4.3 使用过的实验用品应遵照GB 19489的要求，对废弃物的处理要求进行无害化处理。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

5 检验对象

本标准可用于检测国境口岸生物因子恐怖事件监测过程发现的可疑样品，包括：

——固体或半固体样品；

——地表面及物体表面样品；

——液体样品；

——医学媒介生物。

6 主要设备

普通台式离心机、微量移液器、金标条阅读仪、UPT 生物传感器。

7 样品制备

7.1 样品采集

可疑生物恐怖因子样品采集方法和工具按 SN/T 1552 进行，医学媒介生物样品采集方法和工具按 SN/T 1876 进行。

7.2 样品制备

7.2.1 液体样品：取可疑污染液体 5 mL 作为样品检测液，如样品不足则加生理盐水或缓冲液（参见附录 A 第 A.1 章、第 A.2 章）补足 5 mL。

7.2.2 固体或半固体样品：分多点取可疑污染的固体样品，粉碎后加适量生理盐水或缓冲液充分混匀使内容物浸出，12 000 g 离心 5 min 或自然沉降 20 min 后，取上清作为样品检测液。

7.2.3 地表面及物体表面样品：取可疑污染的土壤、灰尘、物体表面、动物皮毛或疑似粉末的拭子，浸于适量生理盐水或缓冲液中，振荡 10 min，12 000 g 离心 5 min 或自然沉降 20 min 后，取上清液作为样品检测液。

7.2.4 医学媒介生物：根据筛查项目和检测要求取医学媒介生物或相应靶器官的样品（如：检测鼠疫耶尔森菌取啮齿动物的肝、脾等），粉碎后加适量生理盐水或缓冲液充分混匀使内容物浸出，12 000 g 离心 5 min 或自然沉降 20 min 后，取上清液作为样品检测液。

7.2.5 为提高检出率，样品应尽量用小体积液体溶解。

8 检验方法

8.1 胶体金免疫层析方法

8.1.1 操作步骤

取包装完整的胶体金免疫层析试纸条一个，撕开外包装，用微量移液器或刻度吸管吸取样品检测液 200 μL，滴加 3 滴～4 滴（约 150 μL）于试纸条圆孔中，2 min 后即可开始观察结果，15 min 终止观察。

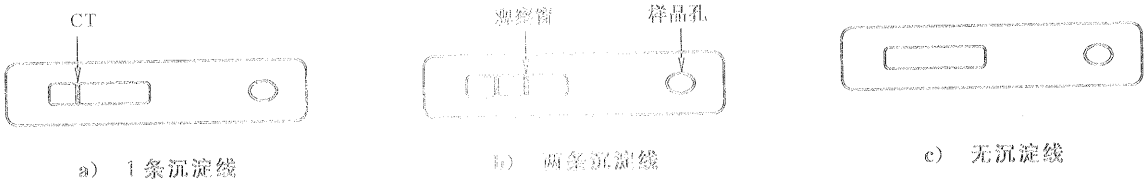
8.1.2 结果判定

8.1.2.1 在有效试验条件下，当控制线（C）出现紫红色沉淀线，而检验线（T）不出现紫红色沉淀线时为无反应性[见图 1a)]。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

8.1.2.2 当控制线(C)和检验线(T)均出现紫红色沉淀线时为有反应性[见图1b)]。

8.1.2.3 当控制线(C)和检验线(T)均不出现紫红色沉淀线，或只有检验线(T)出现紫红色沉淀线，表示检验卡失效或实验失败，应取一个试纸条重新实验[见图1c)]。



a) 1条沉淀线　　b) 两条沉淀线　　c) 无沉淀线

图1 检验卡结果判定示意图

8.1.2.4 除直观判断外，可利用金标条阅读仪读取结果，并根据说明书中的临界值判定结果。

8.1.2.5 实验结果中应注明采用样品量及稀释倍数。

8.1.2.6 可使用等效的试剂盒进行本试验，操作步骤和结果判定应按试剂盒说明书进行。

8.2 上转磷光免疫层析方法

8.2.1 操作步骤

8.2.1.1 将UPT检测条放置在检测箱操作平台上，用微量移液器或刻度吸管吸取100 μL反应缓冲液(参见附录A第A.3章)，加入1 μL处理后的样品检测液，在微量离心管中混匀。

8.2.1.2 取100 μL样品混合液加入试纸加样孔中，静置反应15 min，插入UPT生物传感器扫描并判读结果。

8.2.1.3 按UPT生物传感器操作说明书，运行Bio-sensor程序，启动“Start”扫描，直至扫描结束；按“SETPOS”确定峰值位置，并按照提示调整；点击平滑去噪键“ELI-NS”，并保存结果；点击数理计算键“CALCULATE”，获得检测报告。

8.2.2 结果判定

8.2.2.1 当T/C值<临界值时，判定为无反应性。

8.2.2.2 当T/C值≥临界值时，判定为有反应性。

8.2.2.3 每种病原体或每批试剂检测的临界值不同，根据说明书所述进行判断。

8.2.2.4 实验结果中应注明采用样品量及稀释倍数。

8.2.2.5 可使用等效的试剂盒进行本试验，操作步骤和结果判定应按试剂盒说明书进行。

9 处置

9.1 检测后所有可疑污染物样品或可能接触到可疑污染物的物品(如：棉签、试纸条、手套、吸管等)均需彻底消毒后处理。

9.2 对现场检测后阳性样品和现场无法检测的可疑物品进行封存或现场处置，并采样送实验室进一步检测、鉴定，样品的送检按照SN/T 1552进行。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

0102—0192 T/NS

附 录 A
（资料性附录）
常用试剂配制

A.1 生理盐水(0.85%生理盐水)

氯化钠 8.5 g

加纯化水或去离子水至 100 mL，溶解后分装(每瓶 50 mL)，121 ℃高压灭菌 20 min 备用。

A.2 样品制备缓冲液(pH7.4 0.15 mol/L PBS)

磷酸二氢钾	0.2 g
磷酸氢二钠($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)	2.9 g
氯化钠	8.0 g
氯化钾	0.2 g

加纯化水或去离子水至 1 000 mL

用 1 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 7.4，溶解后分装(每瓶 50 mL)，121 ℃高压灭菌 20 min 备用。

A.3 上转磷光免疫层析反应缓冲液

磷酸二氢钾	0.2 g
磷酸氢二钠($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)	2.9 g
氯化钠	8.0 g
氯化钾	0.2 g
吐温-20	1 mL

加纯化水或去离子水至 1 000 mL

用 1 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 7.4，溶解后分装(每瓶 50 mL)，121 ℃高压灭菌 20 min，加入终浓度 1%BSA 备用。

SN/T 2610-2010

书号：155066·2-21223

定价： 16.00 元

食品伙伴网http://www.foodmate.net