团 体 标 准

T/CVMA 324-2025



实验动物生物样本采集规范

Specification for the collection of laboratory animal biological materials



2025 - 11 - 17 实施



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。

本文件由中国食品药品检定研究院提出。

本文件由中国兽医协会归口。

本文件起草单位:中国食品药品检定研究院、中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、中国科学院水生生物研究所、大连医科大学、吉林大学、中国水产科学研究院珠江水产研究所、东北农业大学、斯贝福(北京)生物技术有限公司。

本文件主要起草人: 巩薇、左琴、董浩、张乐颖、董青花、陈洪岩、潘鲁湲、王靖宇、袁宝、李凯 彬、刘芳萍、战大伟。





实验动物生物样本采集规范

1 范围

本文件规定了实验动物组织、血液、唾液、精液、阴道内液、乳汁、尿液、粪便等生物样本的采集前准备、样本采集过程、采集后处理的要求。

本文件适用于实验动物生物样本库及实验动物学研究的生物样本的采集。

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/Z 44314 生物技术 生物样本保藏 动物生物样本保藏要求

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3. 1

实验动物 laboratory animal

经人工培育,对其携带微生物和寄生虫实行控制,遗传背景明确或者来源清楚,用于科学研究、教学、生产、检定以及其他科学实验的动物。

3. 2

实验动物生物样本 laboratory animal biological materials

从实验动物个体或其衍生物中获得的各种生物材料,包括但不限于组织、血液、尿液、粪便、毛发、体液、细胞、遗传物质(如 DNA、RNA)、蛋白质等。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DNA: 脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic acid)

RNA: 核糖核酸 (Ribonucleic acid)

T/CVMA 324-2025

5 实验动物生物样本的采集准备

5.1 样本采集方案的制定

在样本采集前,根据研究内容,制定详细的样本采集方案,包括采集类型(全血、血清、血浆或细胞、尿液、组织等)、样本采集数量、采集时间等。

5.2 福利伦理审查

样本采集方案应通过福利伦理审查机构的审查,样本采集活动应接受监督检查和项目结束时的终结审查。

5.3 设备与耗材确认

根据采集方案、样本类型和规格等提前准备试剂和耗材。设备及耗材应符合GB/Z 44314要求。

5.4 样本储存条件确认

应根据采集后的样本的类型确认是否满足相应的储存条件。

5.5 个人防护准备

应根据采集对象的潜在风险,正确使用适当的个体防护装备,如手套、护目镜、防护服、口罩、帽子、鞋等。存在空气传播的生物安全风险时应进行呼吸防护,呼吸防护面具、呼吸防护装置、正压服等在使用前要进行适配性测试。

5.6 场地、人员要求

场地有紫外和其他消毒设施,开展样本采集的实验室应符合 GB 19489 中生物安全相关的要求。操作人员应为经过相应培训的专业人员。

6 实验动物生物样本的采集

6.1 一般要求

实验动物生物样本的采集和处理应按照 NY/T 541 有关规定进行。

6.2 组织样本

- 6.2.1 注意样本离体时间,遵循及时取材原则,尽可能在30 min内完成样本采集。
- 6.2.2 采集时候遵循无污染原则,不同样本或相同样本不同部位操作应使用不同的干净无污染器具, 有无菌要求时,应在无菌条件下取材。
- 6.2.3 遵循距离病灶中心由远及近的原则,先后采集正常组织、病灶旁组织、病灶组织样本。所采集组织样本用去离子水或等渗溶液漂洗干净后,根据实际大小再行分切。
- 6. 2. 4 应尽快降低所采集组织样本的温度,必要时使用试剂(如RNA later等试剂)、液氮或其他合适的处理方式抑制酶活性,保证核酸的完整性。
- 6.2.5 记录相关信息,包括但不限于样本编号、样本类型(正常、病变旁、病变)、样本采集部位、采集日期、采集人员等。

6.3 血液样本

- 6.3.1 根据具体实验目的确定采血前是否需要禁食。
- 6.3.2 应根据采血方式选择麻醉方式和麻醉药物。

6.3.3 血液样本采集方法

6.3.3.1 眼眶后静脉丛取血

动物麻醉后,用左手拇指和食指抓住两耳之间的头部皮肤,使头部固定、眼球充分外突,眶后静脉丛充血。右手持玻璃毛细取血管(内涂抗凝剂)。与面部成 45°的夹角,经眼睑和眼球之间刺入眼球后部的静脉丛。血液自动流入采血管。此采血法适合小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠的血液样本的采集。

6.3.3.2 眶动脉或眶静脉取血

动物麻醉后,用左手拇指和食指抓住两耳之间的头部皮肤,使头部固定、眼球充分外突并固定用眼科镊子迅速钳取眼球。将眼眶内流出的血液滴入采血管。此采血法适合小鼠、大鼠、地鼠的血液样本采集。

6.3.3.3 耳缘静脉采血

动物固定后,选静脉清晰的耳朵拔去采血部位的被毛,用 75 %乙醇消毒。可用手指擦搓血管局部或用电灯照射加热使血管扩张,针头沿耳缘静脉末梢端刺入血管。也可用刀片在血管上切一小口的方法,让血液自然流出即可。取血后用棉球压迫止血。此采血法适合兔的血液样本采集。

6.3.3.4 股静脉采血

动物固定后,剪去采血部位的毛,用 75 %乙醇消毒局部皮肤,用胶皮绑在股部,或由助手用手握紧股部,即可明显见到充血静脉,右手持注射器,将针头向血管旁的皮下先刺入,而后与血管平行的方向刺入静脉,由股静脉下端向心方向刺入。见回血后,放松对静脉近心端的压迫,徐徐抽动针筒即可取血。取血后用棉球压迫止血。此采血法适合犬、猴、兔的血液样本采集。

6.3.3.5 心脏取血

动物麻醉后,将动物仰卧固定于固定板上,用75%乙醇消毒心区部。用左手拇指和食指触摸心搏动处。右手持注射器,选择心博最强处刺入,见血后保持注射器位置不动,向后缓缓抽针芯保持一定的负压,血液自动流入注射器。此采血法适合小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、兔的血液样本的采集。

6.3.4 血液样本采集后应立即按照制造商的说明要求,将含有添加剂的采血管中的血液样本缓慢地翻转并按需要的翻转次数进行彻底混匀。

6.4 唾液样本

- 6.4.1 实验动物唾液样本的采集通常指犬、猪等大动物,一般采用刺激法。
- 6.4.2 通过食物的颜色、气味等刺激动物的视觉、嗅觉而致动物唾液分泌增加,再通过引入导管采集。
- 6.4.3 采集犬、猪的颌下腺的唾液,需将动物进行中长效麻醉后,在颌下腺排泄管管壁上作一切口,放置聚乙烯管,插管到达腺体内部附近进行结扎,当刺激舌神经外周末端时,腺体受到刺激,唾液流出,用容器收集。由于唾液腺共有三对,故采取不同腺体的唾液时,放置聚乙烯收集管的位置不同。

6.5 精液样本

6.5.1 采集精液样本应使用性成熟的实验动物。

T/CVMA 324-2025

6.5.2 精液样本采集方法

6.5.2.1 阴道栓采精

需要将雌性和雄性小型动物进行交配,在交配后 24 h 内,检查雌性动物的阴道口。寻找雄性动物交配后形成的透明或乳白色的阴道栓,轻轻地使用镊子或类似工具从阴道内提取阴道栓。将收集的阴道栓放置于无菌容器中。

6.5.2.2 手握采精法

徒手或戴乳胶手套直接把握雄性动物的阴茎,施以适当压力和刺激即可引起射精,从而收集富含精子的精液。

6.5.2.3 人工阴道采精

准备适配动物种类的人工阴道,并确保装置清洁并处于适当温度,模拟自然交配环境。将雄性动物引导至人工阴道装置附近,通过适当的刺激,促使动物进行射精。在射精时将精液收集于人工阴道装置中。

6.5.2.4 电刺激法

采精时需借助电刺激采精器进行。采精时,让雄性动物站立或侧卧固定,剪去包皮周围的被毛,用 生理盐水冲洗并拭干。将电极棒插入直肠,靠近输精管壶腹部的直肠底壁,插入深度按照动物品种而确 定,然后调节控制器,调节电压由低到高,直至雄性动物伸出阴茎,勃起射精。

6.5.2.5 附睾内采精

此法用于无法通过自然射精或其他非侵入性方法获得精液的情况,采集时通过小的腹部切口暴露附睾,使用显微外科工具轻轻切开附睾管并提取精液。

6.6 阴道内液样本

6.6.1 采集阴道内液一般进行涂片检查,检查雌性动物的生理周期等特征。

6.6.2 阴道内液样本采集方法

6. 6. 2. 1 冲洗法

将装有灭菌生理盐水的移液器枪头轻轻插入动物阴道内,将生理盐水打入阴道后再吸出,重复 2~3 次,最后将移液器枪头中的阴道冲洗液滴在载玻片上,显微镜下可观察涂片细胞。

6.6.2.2 蘸取法

将消毒的细棉签用无菌生理盐水湿润,轻轻插入动物阴道内,慢慢转动两下取出,把带有阴道内含物的棉签在载玻片上均匀转动,做成涂片可以进行细胞学检查。

6.6.2.3 刮取法

用光滑的小勺或小刮片慢慢插入阴道中,在阴道壁轻轻刮取一点阴道内含物,进行检查。

6.7 乳汁样本

6.7.1 按摩法

用手抚摸哺乳期的乳头,可使乳汁自动流出。也可朝乳头方向加压按摩动物乳房,可挤出乳汁。

6.7.2 吸乳器法

采用吸乳器吸在动物乳头上,造成负压而使乳汁被动吸出。

6.8 尿液样本

- 6.8.1 通常在实验前宜给实验动物灌服一定量的水。
- 6.8.2 尽量避免食物、粪便、毛发和血液等对尿液样品的污染。

6.8.3 尿液样本采集方法

6.8.3.1 代谢笼法

将动物放入特制的笼内。动物排便时,可通过笼子底部的大小便分离漏斗将尿液与粪便分开,达到 采集尿液的目的。由于大鼠、小鼠尿量较少,操作中的损失和蒸发,膀胱排空不一致等原因,都可能造 成较大的误差,因此一般需收集5 h以上的尿液取平均值。此法适用于大鼠、小鼠。

6.8.3.2 导尿法

将动物轻度麻醉后,固定于手术台上。由尿道插入导尿管(顶端应用液体石蜡涂抹),可采到没有受到污染的尿液。

6.8.3.3 压迫膀胱法

将动物轻度麻醉后,用手轻柔而有力的在动物下腹部加压。当加的压力足以使动物膀胱括约肌松驰时,尿液会自动由尿道排出。此法适用于兔、犬等较大动物。

6.8.3.4 输尿管插管法

采集前,应对动物进行全身麻醉,确保动物手术过程中无痛感。采集时,通过腹部切口暴露输尿管,小心地将导尿管插入输尿管,确保位置正确。导管的另一端引出体外并固定,便于尿液的收集,定期转移到无菌收集容器中。

6.8.3.5 膀胱插管法

腹部手术同输尿管插管。将膀胱翻出腹外后,用丝线结扎膀胱颈部,阻断它同尿道的通路。然后在膀胱顶部避开血管剪一小口,插入膀胱漏斗,用丝线做以荷包缝合固定。漏斗宜正对着输尿管的入口处。注意不应紧贴膀胱后壁而堵塞输尿管。下端接橡皮管插入带刻度的容器内以收集尿液。

6.8.3.6 穿刺膀胱法

将动物麻醉后固定于手术台上,在耻骨联合之上腹正中线剪毛,消毒后进行穿刺,入皮后针头应稍 改变一下角度,以避免穿刺后漏尿。

6.8.3.7 剖腹采尿法

同穿刺法做术前准备,皮肤准备范围应大一点。剖腹暴露膀胱,操作者的左手用无齿小平镊夹住一小部分膀胱,右手持针在小镊夹住的膀胱部位直视穿刺抽取尿液。可避免针头贴在膀胱壁上而抽不出尿液。

6.8.3.8 反射排尿法

适用于小鼠,因小鼠被人抓住尾巴提起时排便反射比较明显。故需采取少量尿液时,可提起小鼠,将排出的尿液接到带刻度的容器内。

6.9 粪便样本

6.9.1 回盲部内容物的采集

将动物麻醉后固定于手术台上,用 75 %乙醇从腹股沟到颈部进行消毒。依次剪开下腹部皮肤和腹部肌肉,剪开回盲部,用灭菌接种环挑取适量内容物加入灭菌离心管内保存。

T/CVMA 324-2025

6.9.2 粪便的采集

将粪便前段弃去,取中段粪便样本用于保存。对稀软便,可直接收集样本;对干便可加适量 PBS 或培养液(以淹没粪便为宜)匀浆化后收集样本。小鼠和大鼠可以采取抓住尾巴提起引起排便反射的方式进行粪便样本的采集。

6.9.3 肛拭子的采集

将灭菌棉签用灭菌生理盐水或培养液稍浸湿后,轻轻插入动物肛门深处 3~4 cm,缓缓旋转后取出,加入灭菌冻存管内保存。

7 实验动物生物样本的采集后处理

采集完成后应按照国家相关法规对样本采集过程中产生的医疗废物进行分类处理。对采集区域设备进行清洁消毒,生物样本进行物理隔离及保存。整理资料,包括样品编号、采集时间、采集部位、采集人员、样本数量和质量等信息或数据。



参考文献

- [1] GB/T 14926.42 实验动物 细菌学检测 标本采集
- [2] GB/T 37864 生物样本库质量和能力通用要求
- [3] GB/T 40352.1 人类组织样本采集与处理
- [4] GB/T 42060 医学实验室 样品采集、运送、接收和处理
- [5] WS/T 662 临床体液检验技术
- [6] SZDB/Z 186 用于高通量测序研究的人类血液样本采集、处理、运输和储存规范
- [7] SZDB/Z 244 生物样本库中人类组织样本收集、处理、运输和储存规范
- [8] T/CNSS 017 研究用人乳样本的采集与储存规范
- [9] DB11/T 2313-2024 临床生物样本库运行质量技术要求

