

DB4403

深 圳 市 地 方 标 准

DB4403/T XXX—XXXX

海域水生生物鉴定工作规范

Working regulations for the identification of aquatic organisms in the
sea area

(送审稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

深圳市市场监督管理局 发 布

目 次

前 言 II

1 范围 3

2 规范性引用文件 3

3 术语和定义 3

4 缩略语 4

5 物种鉴定一般原则 4

6 物种鉴定指标 4

7 实验室区域设置 5

8 人员要求及管理 5

9 鉴定程序 6

10 鉴定方法的认可 8

11 档案资料 8

12 污染风险预防与处理 9

13 安全防护 10

附 录 A（资料性附录）检验鉴定文书 10

附 录 B（资料性附录）物种鉴定信息检索指南 10

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。

本文件由中华人民共和国深圳海关提出并归口。

本文件起草单位：深圳市检验检疫科学研究院、深圳海关动植物检验检疫技术中心

本文件主要起草人：朱崧琪、杨锦鹏、徐浩、史亚千、黄韞、徐鹏、阮周曦、张荣荣、吴影仁、张彩虹、于力、肖颖、陈坤、郑晓聪、邵建宏

海域水生生物检验鉴定工作规范

1 范围

本标准规定了海域水生动物、植物物种的鉴定规范，包括但不限于物种鉴定指标、鉴定程序、鉴定结果、文件档案资料、污染风险预防与处理、安全防护等主要技术内容和规范。

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/T 43650 野生动物及其制品DNA物种鉴定技术规程
- GA/T 382 法庭科学DNA实验室规范
- GB/T 27025 检测和校准实验室能力的通用要求
- LY/T 2501 野生动物及其产品的物种鉴定规范
- GB/T 27401 实验室质量控制规范 动物检疫
- GB 19489 实验室 生物安全通用要求

3 术语和定义

本标准适用于海域水生动物、植物的物种鉴定（本标准所指的水生生物，其生物分类方法参照林奈两界分类系统，包括但不限于鱼类、甲壳类、藻类等）。下列术语和定义适用于本文件。

3.1

海域水生生物 **marine aquatic organisms**

指主要生存环境和生长阶段在海水区域内的水生动物、植物。

3.2

海域水生生物样本检测 **sample detection of marine aquatic organisms**

指对水生生物（如鱼类、甲壳类等）进行取样并进行一系列生物、化学和物理特性的检测和分析。通过这些检测，可以评估海域的健康状况、生物多样性、污染程度以及潜在的生态风险。

3.3

物种鉴定 **species identification**

采用形态学、生物化学、分子生物学等检验技术，对海域水生生物进行生物学分类（科、属、种）的认定。

3.4

检材 **check materials/check samples**

用于物种鉴定的海域水生动物、植物个体、部分组织或其制品。

3.5

形态学鉴定 **morphological identification**

通过海域水生动物、植物个体、部分组织或其制品的形态特征或其结构特征进行鉴定的科学方法。

3.6

生物化学鉴定 biochemical identification

通过样品利用物质的能力、代谢产物等生化反应的特征进行物种分类鉴定。

3.7

分子生物学鉴定 molecular identification

通过提取海域水生动物、植物或其制品的核酸进行扩增，再测定序列与数据库信息进行比对的科学鉴定方法。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DNA: 脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid)

PCR: 聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction)

RT-qPCR: 实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time Fluorescence Quantitative PCR)

dPCR: 数字聚合酶链式反应 (Digital PCR)

CITES: 濒危野生动植物物种国际贸易公约 (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora)

BOLD: 生命条形码数据系统 (The Barcode of Life Data System)

NCBI: 美国国立生物技术信息中心 (National Centre for Biotechnology Information)

5 物种鉴定一般原则

5.1 根据具体案(事)件缩小目标物种的范围、确定适用的检验鉴定方法。

5.2 形态特征完整、物种特征鲜明的检材，采用宏观形态学的方法进行检验鉴定。

5.3 具有物种特异性的微观结构特征的检材，采用微观形态学方法进行检验。

5.4 具有物种特异性生化成分的检测样品，可采用生物化学方法进行检验鉴定。

5.5 采用宏观和微观形态学方法无法进行物种鉴定(但能够获取生化成分或提取DNA的检材)，可采用生化或分子生物学方法进行检验鉴定。

5.6 宏观或微观形态学方法中具有物种唯一性的特征指标可以单独使用，如指标特征不具有物种唯一性，则应联合使用2个以上指标作出鉴定结论。

如果单独使用一种分子生物学方法不能可靠地确认来源物种，则应使用两种以上方法进行联合印证。

6 物种鉴定指标

6.1 宏观形态学指标

以物种典型或特异的形态表征作为鉴定指标。

6.2 微观形态学指标

以动物皮肤、鳞片、甲壳等，或藻类胶被、细胞、鞭毛色素体等组织或结构的典型或特异性形态作为鉴定指标。

6.3 生物化学指标

以物种典型或特异的生化特征，如藻类细胞的生物大分子成分或含量差异作为鉴定指标。

6.4 分子生物学指标

以物种DNA长度多态性（如短串联重复序列STR）和序列多样性（如单核苷酸多态性SNP）作为分子生物学指标。应经过有效性验证。

7 实验室区域设置

7.1 实验室基本要求

7.1.1 实验室应设立完善的组织机构、质量保障和管理体系，在满足相关法律法规的同时保障实验室作业安全。

7.1.2 实验室的各功能分区应布局合理，通风良好、光线适度、设备完善，达到检验鉴定的要求。

7.1.3 配置生物安全设施，确保环境不受海域水生生物携带病原的污染。

7.2 实验室区域设置原则

7.2.1 实验室区域设置的一般原则

区域设置应符合实验流程，避免实验过程中形态鉴定受到干扰或检测样品和试剂受到污染，保障结果的可靠性。

7.2.2 基本区域设置

7.2.2.1 宏观形态学检验、微观形态学检验、生物化学检验和分子生物学检验应分别设置检验区域。

7.2.2.2 微观形态学检验室和生物化学检验室应分别设置样品制备和检验两个基本区域。

7.2.2.3 分子生物学的DNA检验室应至少设置样品准备（前处理）区、核酸提取区、核酸扩增区和产物分析区四个基本区域。

7.2.3 其他区域设置

7.2.3.1 检材贮存室：主要用于检材的妥善保管和贮存，待检检材和剩余检材应有明确标识并分区存放。

7.2.3.2 初检室/区：主要用于案件的登记、检材的初验和照相、录像、固定等。

7.2.3.3 试剂配制室/区：主要用于试剂耗材的贮存、配制、消毒等。

7.2.3.4 数据分析室：主要用于检验结果的分析、比对、鉴定报告的形成等。

7.2.3.5 档案室：主要用于案件资料、实验操作相关资料的存档保存等。

8 人员要求及管理

8.1 工作人员包括实验室负责人、技术负责人、质量负责人、鉴定人和鉴定助理等。工作人员应遵守国家有关法律法规，诚实守信，有良好的职业道德操守，严格遵守行业主管部门相关规定和要求，严格保守秘密。

- 8.2 技术负责人应具备相关专业本科及以上学历或副高以上专业技术职称；拥有五年以上相关工作经验，具备动物学、植物学、生物学、分子生物学与生物化学、遗传学等相关专业背景和熟练操作技能，了解海域水生动植物鉴定领域的前沿技术。
- 8.3 质量负责人应具备相关专业学位或中级以上专业技术职称，拥有五年以上相关工作经验，具有质量管理体系实施经验，熟练掌握与工作有关的法律、法规、标准和规定。
- 8.4 鉴定人应具备动物学、植物学、生物学、分子生物学与生物化学、遗传学等相关专业背景，接受过行业相关培训并获得单位认可，或通过行业资质考试，且具有一年以上相关鉴定工作经验。
- 8.5 鉴定助理应具备相关专业背景，具有6个月以上相关技术培训的经历。
- 8.6 鉴定人及鉴定助理应定期参加相关能力验证或资质考试或教育培训。
- 8.7 必要时，根据有关要求技术负责人和鉴定人有配合相关部门履行结果解释和出庭的义务。

9 鉴定程序

9.1 受理

- 9.1.1 检材受理时，送检人应填写送检登记表，详细填写送检单位、送检人姓名、送检日期、检材类型、数量及特征、鉴定要求等基本情况，并进行检材的交接、拍照或录像存档。
- 9.1.2 依据委托单位的鉴定需求采取鉴定方法，并告知委托单位。
- 9.1.3 检材进入实验室后应贴上标签并填写检材处理表，由专人管理；待检、在检和检毕的检材应分别存放；转移检材或使用后经手人应签名。
- 9.1.4 检材提取样本时应分别采样、分别包装，注意工具清洁和消毒，防止交叉感染。
- 9.1.5 检验鉴定如需对检材进行破坏性取样而严重改变其原有价值的，应征得委托单位同意。
- 9.1.6 无法鉴定的，经技术负责人同意后方可向委托单位取消委托。

9.2 鉴定方法确定原则

本着由简单到复杂、由无损到有损的原则，确定检验鉴定方法。特殊情况下，检验鉴定方法的采取依据委托单位的需求而协商决定。

9.3 检验鉴定

9.3.1 宏观形态学方法

适用于相对完整、形态特征保存较好的检材。通过借助放大镜的方式或直接观察的方式先整体、后局部鉴定检材形态特征，以鉴定指标为依据进行鉴别。

9.3.2 微观形态学方法

适用于组织结构保存较好、具有明确特征的材料。根据检材类别，借助显微镜等实验仪器鉴定检材组织或结构特征，并确定样品制备方法。显微图片应标注放大倍数。

9.3.3 生物化学方法

根据检材特性，通过蛋白质测定、酶等方法进行鉴定，根据鉴定方法制备样品，检验时应设置标准样品对照。

9.3.4 分子生物学方法

9.3.4.1 DNA 提取

根据鉴定目标选择的检验方案确定DNA提取的方法，应设置空白对照并严格防止样品相互污染。需要纯化的DNA，可选择高质量纯化试剂盒或其他纯化方法。对于DNA提取区，检测样品和比对样品的DNA提取应在时间或空间进行分离；涉及微量腐败检测样品检验的DNA实验室，应另设专门区域进行DNA提取，应减少潜在的对样本的污染。

9.3.4.2 DNA 扩增

可参考 GB/T43650，结合检材特性和鉴定要求，选择 PCR、RT-qPCR、dPCR 等方法进行核酸扩增。严格设置阳性（已知物种的 DNA 样品）和阴性（不加 DNA 的空白对照）。检验时样本要在分子量标准之间的泳道上电泳。

9.3.4.3 扩增产物的纯化

采用纯化试剂盒或其他同行公认的纯化方法。

9.3.4.4 测序

扩增产物应双向测序。扩增产物纯化（按纯化试剂盒）或直接测序（混合样品克隆测序）。采用克隆测序时每个 PCR 产物应测定 5 个以上。考虑到基因组测序法目前尚未普遍运用于物种鉴定，从可操作性出发，本规范暂时未将全基因组测序纳入分子生物学方法。

9.3.5 检材的检毕处理

9.3.5.1 检验鉴定结束后，除留存备份样品以外，剩余的检材返还委托单位。

9.3.5.2 死亡、腐败变质和超过保留时限的检材，及携带疫病的检材应进行无害化处理。

9.4 结果分析

检验后，对检验结果进行分析，能够明确给出认定或否定结论的，形成鉴定意见，包括鉴定结果所必需的和所用方法要求的全部信息。

9.5 复检

检验应保证两次重复检验。

9.6 纠正和纠正措施

9.6.1 管理问题

当出现明显的错误结论并被判定为管理问题（样品分发错误、保存不当等）时，应对照质量控制各项规程核查或完善。

9.6.2 系统问题

当出现明显的错误结论并被判定为系统问题（仪器、试剂、实验环境等）时，应立即查找错误原因并纠正，然后立即核查上次合格的测试与本次测试之间所有检验。并应告知所有实验室人员。

9.6.3 分析检验问题

当出现明显的错误结论并被判定为鉴定人本人的原因时，该鉴定人应停止检验。实验室应对该鉴定人上次合格的案例与本次案例之间的检验适当核查。找到问题所在并纠正后，该鉴定人可参加再培训或附加的能力测试，合格后方可检验。

9.7 检验鉴定文书的起草

形成鉴定意见的，起草鉴定意见书；不需要或不能够明确给出认定或否定结论的，出具检验报告书。文书起草要求详见附录A。

9.8 检验鉴定文书的审核和签发

由技术主管审核检验鉴定文书的内容，审核后签发。

10 鉴定方法的认可

10.1 认可的或有效验证的标准

- 10.1.1 有选定的标准样品。
- 10.1.2 灵敏度检验：确定能可靠鉴定所需的最小样本量。
- 10.1.3 物种群体遗传学调查适用性。
- 10.1.4 具有特异性、适用性、稳定性或通用性。
- 10.1.5 PCR 及相关检验方法的认可按照 GA/T 382。

10.2 新方法的使用

在现有方法无法解决的情况下，需采用新方法进行检验鉴定时，应由同行专家组成的专家组认可。

10.3 标准方法验证

- 10.3.1 根据检测样品的需要和实验室的实际情况优先选择使用标准方法。
- 10.3.2 实验室在采用标准方法之前，应对实验室能否正确执行该标准方法进行验证。具体验证要求按 GB/T 27025 执行。
- 10.3.3 如实验室采用的标准方法发生了改变，实验室应重新进行验证。

10.4 非标方法确认

- 10.4.1 非标方法包括各部委下发的技术文件、其他实验室采用、权威刊物发表和实验室自行研制的尚未形成标准的鉴定方法。
- 10.4.2 实验室在没有标准方法或现有标准方法无法完成鉴定的情况下可考虑采用非标方法，但必须经过验证确认并记录存档。非标方法的确认按照 GB/T 27025 执行。

11 档案资料

11.1 鉴定档案

- 11.1.1 登记资料：包括受理记录、送检单位的委托证明材料、检材照片、检材保管或返回记录、检验

中交接记录、鉴定文书的发放记录等。

11.1.2 鉴定记录资料：根据不同鉴定方法所需要的不同资料，如形态学的各种量度、检验记录，生化检验的实验记录，分子生物学的 DNA 提取记录、PCR 反应记录、电泳检验记录、测序结果、数据处理等。

11.1.3 图谱图片：包括扫描电镜照片、光镜照片、仪器分析图表、照片、干燥胶等。

11.1.4 鉴定文件：包括鉴定意见书或检验报告、检验结果图谱等。

11.2 操作手册

11.2.1 实验方法类：扫描电镜样品的制备方法及其程序；特殊成分的生化检验方法；各种 DNA 提取方法、DNA 定量方法、检验方法和各种物种鉴定方法及其程序等。

11.2.2 仪器操作类：各种仪器的操作使用方法、维护方法。

11.2.3 试剂配制类：各种试剂的配制方法、贮存方法。

11.3 说明书类

重要仪器设备说明书、特殊试剂盒操作说明书、特殊试剂说明书等应留档备案。

11.4 方法认可记录

鉴定方法等的认可程序、专家会议纪要、认可过程记录等。

11.5 管理档案

实验室质量控制守则、实验室管理规则、安全操作守则、人员培训记录、实验室核查记录、资格测试记录、实验室运行记录（包括主要仪器设备的使用记录、保修和维修记录、突发事件处理记录等）等。

11.6 其他资料

物种检验鉴定工作流程图、仪器设备清单、试剂耗材清单等。

11.7 电子化管理

对检验鉴定文书、备份样品名录等建立数据库，进行电子化管理。

11.8 保密

凡检验鉴定文书应在指定地点由专人负责保管，未经主管领导书面同意不能复制、外借，更不可遗失。主管领导签发的复制和外借凭证应与检验鉴定文书一起存档保存。

12 污染风险预防与处理

12.1 检材样品

12.1.1 取样时，根据样品特点，应取深层组织，或清洗掉外层附着物，减少外源性污染。

12.1.2 各样品应标记清楚，防止各样品间的混淆，造成样品污染。

12.2 鉴定人员

12.2.1 鉴定人员应严格按检验规程操作。

12.2.2 进入实验室应穿实验室工作服和工作鞋。

12.3 鉴定区域

12.3.1 鉴定开始前应用 75%乙醇将工作台擦拭干净，检验结束后再擦洗所有的工作台面，可选用 10%次氯酸钠。

12.3.2 检验室应定期清洁并进行紫外灯照射消毒。

12.3.3 DNA 检验室各区域应根据生物安全风险具体情况使用专用清洁工具。

12.4 鉴定器材

12.4.1 各区域应配置专用的移液器、试剂架等，不应拿到其他区域使用。

12.4.2 试管使用前应高压灭菌。

12.4.3 可高压灭菌的移液器等在使用前应高压灭菌；无法高压灭菌的应定期用 75%乙醇和纯水清洗，使用前再用紫外灯照射。

12.5 鉴定过程

12.5.1 开启试管前应瞬时离心。

12.5.2 应使用一次性移液吸头。

12.5.3 蛋白质类生化试剂应分装成小包装。

12.5.4 分子生物学检验应设置阳性和阴性对照。

13 安全防护

13.1 急救装置

在实验室的固定位置应设急救箱和紧急喷淋装置，并有明确标识，所有人员应掌握使用方法。

13.2 化学药品

13.2.1 化学药品应标记清楚，应有专门存放程序和记录。

13.2.2 化学药品的弃置应按专门程序进行，并备详细记录。

13.2.3 特殊药品使用前应有专门培训，并在规定要求的区域进行使用。

13.3 仪器操作

13.3.1 仪器操作说明中应注明该仪器操作中发生事故或故障的可能性及原因，并注明预防和处理的方法。

13.3.2 应按规定对仪器定期进行检查、保养。

13.4 鉴定人员

13.4.1 鉴定人员必须认真学习检验规程和有关的安全技术规程。

13.4.2 在使用前应了解化学药品的毒性，并清楚急救方法。

13.4.3 在使用前应了解设备性能及操作中可能发生事故的原因，掌握预防和处理事故的方法。

13.4.4 实验室内禁止吸烟、进食，严禁用试验器皿处理食物。

13.4.5 离开实验室前用清洁用品洗手。

13.5 检材、废弃物处置及其他生物安全要求

实验剩余检材的退还按照LY/T 2501相关规定执行，废弃物等的处置按照GB/T27401相关规定执行，其他生物安全要求按照GB 19489的相关规定执行。

附 录 A
(资料性附录)
检验鉴定文书

A.1 检验鉴定文书的分类

A.1.1 鉴定意见书

能够明确给出认定或否定结论的文书。

A.1.2 鉴定检验报告书

不能够或不需要明确给出认定或否定结论的文书。

A.2 检验鉴定文书的语言

A.2.1 使用符合国家通用语言文字规范、通用专业术语规范和法律规范用语。

A.2.2 使用国家标准计量单位和符号。

A.2.3 使用少数民族语言文字的，应当符合少数民族语言文字规范。

A.2.4 文字精练，用词准确，语句通顺，描述客观、清晰。

A.3 检验鉴定文书的图文表示

检验鉴定文书中文字、表格的颜色均应为黑色。图像、照片等可使用彩色。

A.4 检验鉴定文书内容

A.4.1 封面

包括鉴定机构名称、鉴定文书类别等必要信息。

A.4.2 鉴定文书的正文

A.4.2.1 标题

写明委托鉴定事项。

A.4.2.2 检验鉴定文书编号

包括鉴定机构、年份、专业缩略语、文书性质及序号等必要信息。年份、序号采用阿拉伯数字标识，年份应标全称。

A.4.2.3 基本情况

包括委托单位（人）、送检人、委托鉴定事项、受理日期、鉴定材料、鉴定日期、鉴定地点等内容。鉴定材料应当客观写明委托单位（人）提供的与委托鉴定事项有关的检材和简要情况，并注明鉴定材料出处。

A. 4. 2. 4 检验过程

写明鉴定的实施过程和科学依据，包括检材处理、鉴定程序、所用技术方法、技术标准和技术规范等内容。

A. 4. 2. 5 检验结果

写明对委托单位（人）提供的鉴定材料进行检验后得出的客观结果。

A. 4. 2. 6 鉴定意见

应当明确、具体、规范，具有针对性和可适用性（鉴定检验报告书没有此项）。

A. 4. 2. 7 落款

由鉴定人签名或者盖章。如为司法鉴定，写明鉴定人的执业证号。同时加盖鉴定机构的鉴定专用章，并注明文书制作日期等。

A. 4. 2. 8 附注

对鉴定文书中需要解释的内容，可以在附注中作出说明。

A. 4. 2. 9 附件

凡是需要对鉴定结论进行进一步说明或检验鉴定文书中涉及的照片、图谱、图表或复印件等相关材料按顺序附后。

A. 4. 2. 10 页码

检验鉴定文书每页均应注明页码和总页码。封面页不标识页码。

A. 5 检验鉴定文书的生效

A. 5. 1 检验鉴定文书的生效

检验鉴定机构除在检验鉴定文书上加盖鉴定专用章外，还应加盖骑缝章。对于多个单位共同参加检验的检验鉴定文书，应加盖所有参加单位的印章。出具的检验鉴定文书在加盖检验鉴定单位的检验鉴定专用章后方可生效。

A. 5. 2 检验鉴定文书的解释权

检验鉴定文书的解释权归出具该检验鉴定文书的检验鉴定机构。

附 录 B

(资料性附录)

物种鉴定信息检索指南

鉴定指标	分类	信息来源
形态学	动物	<p>https://checklist.cites.org/#/en 《鉴定手册第三卷：爬行动物，两栖动物，鱼纲，无脊椎动物》</p> <p>《Identification Manual Volume 3: Reptilia, Amphibia, Pisces, Invertebrata》</p> <p>https://checklist.cites.org/#/en</p> <p>《鉴定手册第一卷：哺乳动物》</p> <p>《Identification Manual Volume 1: Mammalia》</p> <p>https://www.fishbase.se/search.php世界鱼类数据库</p>
	植物	《中国植物志》
分子生物学	动物	<p>https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi美国国立生物技术信息中心数据库</p>
	植物	<p>http://www.boldsystems.org/</p> <p>生命条形码数据系统</p>