

ICS 65.020.30
CCS B44



中国实验动物学会团体标准

T/CALAS xxx-202x

实验动物 斑马鱼生物安全管理指南

Laboratory animal - Guidelines for biosecurity Management for zebrafish

（征求意见稿）

202x-xx-xx 发布

202x-xx-xx 实施

中国实验动物学会 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。

本文件由中国实验动物学会归口。

本文件由全国实验动物标准化技术委员会（SAC/TC281）技术审查。

本文件由中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会提出并组织起草。

本文件起草单位：中国科学院遗传与发育生物学研究所、中国科学院武汉病毒所、中国疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：张艺钟、杜凯、卢选成、刘美、鹿双双、刘帅、李晓燕、张帆、吴佳、孔琪。

实验动物 斑马鱼生物安全管理指南

1 范围

本文件规定了斑马鱼饲养、科研实验、运输及废弃物处置中，设施与环境的生物安全要求，人员以及饲养繁殖、运输过程、废弃物生物等生物安全管控措施与要求，并规定了涉及生物安全的记录与档案管理。

本文件适用于涉及生物安全风险的实验用斑马鱼(含野生型、突变体及遗传修饰品系)的饲养、繁殖、实验及运输。

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 39649-2020 实验动物 实验鱼质量控制

GB 19489 实验室生物安全通用要求

GB 14925 实验动物 环境及设施

GB 8978 《污水综合排放标准》

3 术语和定义

以下术语和定义适用于本文件。

3.1

斑马鱼 zebrafish

一种脊椎动物，生物分类学上属于脊索动物门、硬骨鱼纲、鲤形目、鲤科、短担尼鱼属、斑马鱼种，可用于教学和科研的模式动物。

3.2

实验用斑马鱼 zebrafish for Research

人工繁育、来源可追溯、健康状况受控，排除野生个体，专用于科研、教学或检测的斑马鱼活体。

4 设施与环境生物安全要求

4.1 不涉及病原微生物及基因编辑的普通斑马鱼饲养与实验，其设施与环境应符合 GB 14925 和 GB/T39649 的规定。涉及病原微生物或基因编辑的斑马鱼实验活动，其设施与环境除应符合上述规定外，还应符合 GB50346 中相应生物安全等级的要求

4.2 饲养区生物安全防护

4.1.1 物理隔离与防扩散

饲养区物理隔离与防扩散措施应包括：

a) 饲养区设置独立生物安全屏障，与非工作区保持合理物理隔离，出入口设门禁、生物安全警示标识及更衣缓冲间，地面设防泄漏导流设施；

b) 建筑结构需防渗漏、易消毒，配备独立通风系统及高效过滤装置，控制气流方向防止气溶胶交叉污染，保持适宜温湿度；

c) 配备防逃逸与防污染设施，排水口、地漏设多级防护装置，养殖区域与自然水体保持安全距离，严禁废水直接排放，定期开展防逃逸及防渗漏检测。

4.1.2 饲养设备生物安全

饲养设备生物安全措施应包括：

a) 养殖容器需防渗漏、防逃逸，所有养殖容器必须配备牢固的盖板或网罩，孔隙尺寸应能防止最小阶段幼鱼逃逸，配备防跳装置，养殖架易消毒，底层设接水防护设施；

b) 水系统采用独立分舱设计，配备消毒及水质监测模块，确保水体病原灭活，配备应急供水系统保障突发断水时供水安全；

c) 配备必要消毒设备，满足水体、容器、环境多场景病原灭活需求。

4.3 实验区生物安全配置

4.3.1 基础生物安全设施

基础生物安全设施要求应包括：

a) 操作台面防渗漏、耐腐蚀，设废液收集装置，实验台间距合理；涉及病原的实验需在相应级别生物安全柜内进行，定期检测性能；

b) 配备洗眼器、紧急喷淋装置、生物安全应急药箱及专用洗手池，定期核查设备可用性。

4.3.2 隔离实验区强化要求

隔离实验区强化要求包括：

a) 感染性实验需在独立负压隔离区开展，设双道门互锁系统，配备独立废水消毒及空气净化装置。

b) 隔离区出口设消毒设施，实验废弃物需在区内完成初步消毒后再转运。

4.4 辅助区域生物安全保障

4.4.1 人员清洁消毒区

设置二级更衣室及手部消毒站，配备专用防护装备，确保人员进入工作区前彻底清洁。

4.4.2 废弃物暂存管理

废弃物暂存管理要求包括：

a) 分设各类废弃物密闭暂存设施，外贴清晰生物危害标识及分类标签；液态废弃物暂存池需密闭且具备消毒功能；

b) 暂存区控制适宜温度抑制病原繁殖，配备消毒设备，限定废弃物暂存时间，定期消毒环境。

4.4.3 应急保障设施

配备应急照明、备用发电机及水体泄漏应急处理包，定期开展巡检。

5 人员生物安全管理

5.1 人员资质与培训

5.1.1 资质准入

从事相关工作的人员需具备相关专业背景或从业经验，经考核合格后方可上岗。

5.1.2 生物安全培训

生物安全培训要求包括：

a) 上岗前需完成生物安全相关培训，考核合格颁发生物安全上岗证书。

b) 在岗人员需定期参加生物安全再培训，培训记录归档，未完成培训或考核不合格者暂停上岗。

5.2 个人生物安全防护

5.2.1 防护装备配置与使用

防护装备配置与使用要求包括：

a) 进入工作区需穿戴专用防护装备，涉及高风险操作时额外佩戴防护器具。

b) 防护装备需集中清洁消毒，不得带出清洁区；装备破损时需立即更换并对污染区域应急消毒。

5.2.2 人员行为规范

人员行为规范要求包括：

a) 不应在工作区及废弃物暂存区内饮食、吸烟、存放个人物品，不应徒手接触斑马鱼体液、排泄物或病死个体，不应违规使用工作区水源；

b) 操作过程中避免产生大量气溶胶，不同区域器具不得交叉使用，确需使用需彻底消毒；工作人员在不同品系饲养区之间流动前需清洁消毒。

5.3 人员健康与职业暴露管理

5.3.1 健康监测

人员健康监测要求包括：

a) 机构定期组织工作人员体检，建立个人健康档案。

b) 工作人员每日上岗前进行健康自查，发现异常立即上报并暂停上岗，排查无感染风险后再评估返岗。

5.3.2 职业暴露处置

职业暴露处置要求依据 GB 19489，包括：

a) 皮肤接触暴露后需及时冲洗、消毒，必要时就医并上报，开展医学观察；

b) 黏膜接触暴露后需立即用大量清水或生理盐水冲洗，避免揉搓，及时就医并跟踪观察；

c) 器具划伤暴露后需挤压伤口、冲洗消毒，及时就医，根据情况接种疫苗并评估感染风险。

6 饲养繁殖生物安全管理

6.1 生长繁殖阶段生物安全控制

生长繁殖阶段生物安全控制要求包括：

a) 胚胎期采用无菌孵化环境及消毒后的水体，不同品系或实验分组胚胎分开孵化，器具专用，及时清理污染物；

b) 仔鱼期、幼鱼期控制饲养密度，定期清洁养殖环境、更换水体及养殖容器，分开饲养不同品系或实验分组个体，器具专用，引种后需隔离检疫合格方可入群；

c) 成鱼期控制饲养密度，定期清洁消毒养殖环境，繁殖期采用单独繁殖缸，繁殖后及时处理亲鱼及繁殖水体，避免病原扩散；定期开展种群病原筛查，淘汰阳性个体，优化种群遗传结构。

6.2 饲料与水体生物安全防控

6.2.1 饲料安全管理

饲料安全管理要求包括：

- a) 饲料需从具备资质的单位采购，索要质检报告，按要求储存，过期饲料按规定销毁；
- b) 严禁投喂变质或未消毒的天然饵料，特殊饲料需经审批，投喂过程中避免污染。

6.2.2 水体安全保障

水体安全保障要求包括：

- a) 养殖用水需符合相关标准，定期检测水质指标并记录；水系统需确保水体病原灭活率达标；
- b) 定期对水系统进行清洗消毒，校准消毒设备参数，定期更换关键耗材。

6.3 遗传与种群管理

6.3.1 谱系与病原追溯

建立种群遗传谱系数据库及病原监测档案，确保种群健康状况可追溯，发现阳性个体立即隔离淘汰。

6.3.2 品系隔离与检疫

不同品系斑马鱼分区域饲养，水系统、器具、人员严格分开；引种新种群需隔离检疫，经病原筛查合格后方可并入核心种群。

7 运输过程生物安全管理

7.1 运输容器生物安全

运输容器生物安全要求包括：

- a) 运输容器采用双层密闭结构，防渗漏、防逃逸，通过相关安全测试；合理控制装载密度，保障鱼体存活，避免病原扩散；
- b) 外箱清晰标注相关标识及信息，注明生物安全等级、温度要求、应急联系方式及防控注意事项；
- c) 运输水体需经消毒，添加必要稳定剂，控制适宜温度并保持稳定，长途运输可采取适宜措施减少鱼体应激。

7.2 运输过程管控

7.2.1 短途运输

短途运输要求包括：

- a) 采用专用恒温运输工具，专人押运，避免运输过程中容器破损；配备消毒用品，中途不应开箱；
- b) 运输路线避开敏感区域，选择适宜运输时间，减少鱼体应激及病原传播风险。

7.2.2 长途运输

长途运输要求包括：

a) 跨区域运输需提前办理相关许可证及检疫证明，明确生物安全要求，航空运输需符合相关条款并告知承运方防护要求；

b) 运输前适当减少饲喂量，抵达后立即将斑马鱼转入独立隔离设施，逐步适应环境，隔离期间开展病原筛查，合格后方可入群。

7.2.3 运输应急处置

运输应急处置要求包括：

a) 随车配备生物安全应急包，内含备用容器、消毒剂、吸附材料、防护装备及应急处理指南；

b) 若发生容器破损、水体泄漏，立即封锁现场，穿戴防护装备清理污染，消毒环境，转移鱼体；若出现鱼体死亡，按规定处理尸体并排查原因，加强剩余鱼体隔离检疫。

8 生物安全核心管控措施

8.1 人员进出流程

人员进出流程包括：

a) 进入工作区需按规定流程更衣、消毒、佩戴防护装备，经缓冲间进入，全程专人监督；

b) 离开工作区需按规定流程脱卸防护装备、消毒，经更衣、洗手后离开，防护装备集中消毒处理；

c) 外来人员需经批准并完成培训，在专人陪同下按流程进出，不得接触核心设施及动物，接触区域需即时消毒。

8.2 环境与设施监测

8.2.1 日常监测

定期监测工作区温湿度、水质指标、消毒设备运行状态，以及空气、水体、器具表面微生物情况，记录数据存档。

8.2.2 消毒与病原灭活

消毒与病原灭活要求包括：

a) 制定日常消毒计划，对养殖容器、工作环境、空气等定期消毒；对污染区域及时开展针对性消毒；

b) 斑马鱼转出、淘汰或发生疫病后，对相关区域及设施开展终末消毒，检测合格后方可复用。

8.3 哨兵动物与病原监测

哨兵动物与病原监测要求包括：

a) 定期投放 SPF 级斑马鱼作为哨兵动物，与目标种群同环境饲养，单独记录健康状况；

b) 按规定开展病原检测，检测结果实时录入档案；若哨兵动物检测阳性，立即封锁区域，开展全群筛查，隔离阳性个体，消毒污染设施，评估风险并整改。

8.4 动物逃逸应急响应

8.4.1 少量逃逸处置

少量逃逸处置要求包括：

a) 发现逃逸后立即封锁区域，关闭排水通道，通知相关部门及应急小组；

b) 及时组织人员穿戴防护装备搜索捕获，捕获后隔离检疫，不得放回原种群；未捕获的需持续监测相关区域病原指标，形成报告报送相关部门。

8.4.2 群体逃逸处置

群体逃逸处置要求包括：

a) 立即启动一级应急响应，通报相关管理部门，说明逃逸情况及潜在风险；

b) 封堵对外通道，设置拦截设施，对可能受污染水体进行消毒，设置警示标识；

c) 捕获个体隔离检测，阳性者无害化处理，阴性者隔离观察；持续巡查捕获情况，评估生态及病原风险，必要时联合相关部门防控。

8.5 疫病防控

疫病防控要求包括：

a) 建立健康巡查制度，及时发现异常个体并隔离诊断；定期改善水体微生态环境，提高鱼体免疫力；

b) 确诊传染性疫病后，立即封锁该区域，排查同群动物，扑杀阳性个体，按规定处理病死个体；对疫区开展多次终末消毒，暂停区域活动，检测合格后方可恢复；接触病鱼的工作人员需开展医学观察。

9 废弃物生物安全处理

9.1 液态废弃物处置

液态废弃物处置要求包括：

a) 工作区废水统一收集，经过滤、消毒、净化处理后，符合 GB 8978《排放标准》方可排放；排放前检测相关指标并记录；

- b) 实验废液收集于密闭容器中，经灭活处理后，按医疗废水流程排放，不得直接倾倒。
- c) 不涉及病原时，废水可经简单处理后排放；涉及病原时，应先行灭活处理。

9.2 固态废弃物处理

9.2.1 动物相关废弃物

动物相关废弃物处理要求包括：

- a) 残饵、污染滤材等装入双层医疗垃圾袋，密封后经灭活处理，再转运至指定机构处置，避免转运过程中破损；
- b) 病死斑马鱼、实验处死个体及组织样本装入密封容器，冷冻暂存，按规定时限送至具备资质的机构无害化处理，详细记录处理情况。
- c) 动物尸体涉及病原的，应先行高压灭菌等灭活处理。

9.2.2 实验废弃物

实验废弃物处理要求包括：

- a) 一次性实验器具使用后放入专用医疗垃圾袋，密封后经灭活处理，按医疗废弃物转运处置，不得与普通废弃物混放；
- b) 可复用实验器具使用后经消毒、清洗、灭菌后方可再次使用，消毒记录详细存档。
- c) 实验废液涉及化学试剂的，应按危险化学品管理规定处理。

9.3 废弃物应急处置

若发生废弃物泄漏，立即封锁污染区域，工作人员穿戴防护装备清理泄漏物，消毒环境，清理后的废弃物按医疗危险废弃物处理，后续对污染区域多次消毒并监测病原指标。

10 记录与档案生物安全管理

10.1 记录内容

记录内容包括：

- a) 饲养生物安全记录：包括引种检疫、病原检测、水质监测、清洁消毒、饲料安全、繁殖等相关记录；
- b) 人员生物安全记录：包括培训考核、健康档案、职业暴露处置、进出登记、防护装备领用消毒等相关记录；
- c) 实验与运输生物安全记录：包括实验审批、病原使用及灭活、运输消毒、温度监测、检疫证明、应急处置等相关记录；
- d) 废弃物处理记录：包括分类登记、消毒灭菌、转运交接、处置机构资质、废水检测等相关记录。

10.2 档案保存与查阅

档案保存与查阅要求包括：

a) 所有记录需真实、准确、完整，纸质记录归档存放于专用档案柜，电子记录加密存储并异地备份，按相关规定确定保存期限；

b) 建立档案查阅登记制度，非授权人员不得查阅、复制；外部单位查阅需经批准，不得带出档案存放区，不得泄露敏感信息。
