

ICS 65.020.30
CCS B44



中国实验动物学会团体标准

T/CALAXxx-202x

实验动物 非洲爪蟾生物安全管理指南

Laboratory animal - Guidelines for Biosecurity management for *Xenopus laevis*

（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：杜凯、张艺钟、卢选成、刘美、鹿双双、刘帅、李晓燕、张帆、吴佳、孔琪。

实验动物 非洲爪蟾生物安全管理

1 范围

本文件规定了非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 在繁育饲养、人员管理、运输、及废弃物处置全过程的生物安全要求。

本文件适用于涉及生物安全风险的非洲爪蟾饲养、研究、教学及相关活动。

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 14925 实验动物环境及设施

GB 50346 生物安全实验室建筑技术规范

3 术语和定义

以下术语和定义适用于本文件。

3.1

非洲爪蟾 *Xenopus laevis*

一种原产于撒哈拉以南非洲的水生两栖动物，是负子蟾科爪蟾属脊索动物。

注：发育生物学研究常用的模式生物。

3.2

实验用非洲爪蟾 *Xenopus laevis for Research*

通过人工繁育且符合生物安全管理要求，专用于科研、教学或检测的非洲爪蟾活体（含成体、幼体、蝌蚪及卵），其来源、健康状况及用途均受控，排除野外来源及非实验用途爪蟾。

3.3

生物安全 Biosafety

生物技术开发和应用所能造成的对生态环境和人体健康的潜在威胁,及对其所采取的一系列有效预防和控制措施。

4 设施与环境要求

不涉及病原的普通饲养，其设施与环境应符合 GB14925 的规定；涉及病原的，应根据风险等级符合 GB19489 和 GB50346 中相应生物安全等级的要求，本章第 4.1、4.2、4.3 条是在 GB 50346 基础上的专项补充。

4.1 饲养区

4.1.1 饲养场所

饲养场所要求：

- a) 排水管道须安装双层不锈钢滤网（孔径 $\leq 1\text{mm}$ ）；
- b) 门窗密闭性需通过烟雾测试（每年 1 次）。

4.1.2 饲养设备

饲养设备要求：

- a) 饲养容器必须配备锁闭式盖板，孔隙尺寸 $\leq$ 爪蟾头部最小直径（建议 $\leq 5\text{mm}$ ），水槽边缘垂直高度 ≥ 35 厘米；
- b) 养殖缸、养殖箱等饲养容器应采用无毒、耐腐蚀、易清洗消毒的材料制作，且具有良好的密封性；
- c) 应配备消毒设备，如紫外线消毒灯、臭氧发生器等，用于饲养容器、器材及环境的消毒。

4.2 实验区

4.2.1 操作台面应为 304 不锈钢或耐腐蚀聚合物。

4.2.2 涉及病原微生物样本采集、病原检测等操作时，应在 II 级生物安全柜中进行。饲养区内不开展 BSL-2 及以上级别的感染性实验。

4.2.3 应配备急救设备（洗眼器、喷淋装置），且距操作台应 $\leq 10\text{m}$ 。

4.3 辅助区域

4.3.1 应设置更衣室、淋浴间，供工作人员更换工作服、进行清洁消毒。

4.3.2 应设置废弃物暂存区，用于临时存放废弃物，暂存区应具有防渗漏、防异味扩散的功能。

4.3.3 应配备应急照明设备和消防器材，确保在突发情况下的安全。

5 人员管理

5.1 人员资质

5.1.1 从事非洲爪蟾饲养工作的人员应具备相关的专业知识和技能，经过生物安全培训并

考核合格后方可上岗。

5.1.2 工作人员应熟悉非洲爪蟾的生物学特性、饲养管理要求及生物安全防护知识。

5.2 个人防护

5.2.1 工作人员进入饲养区前应更换专用工作服、工作鞋，佩戴口罩、手套等防护用品。

5.2.2 工作结束后，应及时更换工作服、工作鞋，并进行彻底的清洁消毒。

5.2.3 严禁在饲养区内饮食、吸烟、存放个人物品。

5.3 健康管理

5.3.1 机构应定期组织工作人员进行健康检查，建立健康档案。

5.3.2 工作人员如出现发热、咳嗽、腹泻等不适症状，应及时就医，并暂停从事饲养工作，直至康复。

5.3.3 直接接触人员手部存在开放性伤口者禁止进行饲养操作。

6 饲养繁殖管理

6.1 生长繁殖阶段

6.1.1 蝌蚪期饲养密度控制在每升水体不超过 50 尾，水温稳定在 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照周期设定为 12 小时光照/12 小时黑暗。

6.1.2 亚成体阶段每升水体饲养面积容纳个体不超过 5 只，水温调节至 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，延长光照至 14 小时/天。

6.1.3 成年繁殖爪蟾的饲养密度为每 3L 水 1 只至每 5-10L 水 4 只为宜，最佳水温 $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，模拟自然光照周期调整为 10 小时光照/14 小时黑暗。

6.2 遗传资源管理

6.2.1 建立核心种群遗传谱系数据库。

6.2.2 不同地理株系繁殖操作必须实行物理隔离，采用独立的水循环系统且空气处理单元不得交叉。

6.3 引种与检疫管理

6.3.1 新引进的非洲爪蟾（含境外引种及国内跨区域调运）应在隔离检疫设施中进行检疫观察，检疫期应不少于 30 天。

6.3.2 检疫期间应按照《实验动物 非洲爪蟾隔离检疫场管理指南》的要求，开展蛙虹彩病毒、脑膜炎败血伊丽莎白菌、蛙壶菌、致病性嗜水气单胞菌等病原检测。

6.3.3 检疫期内无异常死亡且病原检测结果为阴性的个体，方可转入主饲养区。检测阳性个体应按照规定进行无害化处理，并报告机构生物安全负责人。

7 运输管理

7.1 容器要求

7.1.1 防逃逸

使用双层密闭容器（内层防水袋+湿海绵，外层 $\geq 5\text{mm}$ 抗压绝缘箱），透气孔 $\leq 3\text{mm}$ 且通过 1.5m 跌落测试。

7.1.2 标识

外箱清晰标注“实验动物-非洲爪蟾”、生物安全等级（BSL-1/2）、收发方信息及温度敏感标签。

7.1.3 环境控制

维持 $15\text{--}22^{\circ}\text{C}$ （全程温度记录仪监控，波动 $\leq \pm 2^{\circ}\text{C}/\text{小时}$ ），冷热包方案需保障 ≥ 48 小时保温时效。

7.2 运输过程

7.2.1 短途运输

专人专车避光运输（ $\leq 50\text{km}/2$ 小时），中途禁止开箱且货舱温度可控。

7.2.2 长途运输

跨区域需检疫证明，航空包装符合 IATA 902 条款并粘贴“Live Animal”标签。

7.2.3 应急预案

随车配备泄漏处理包（含消毒剂、吸附材料、备用容器）及 24 小时应急联系人卡片。

8 生物安全管理

8.1 人员进出管理程序

进入准备间后首先使用抗菌皂液进行手部清洁（持续时间不少于 1 分钟），戴好丁腈双层手套。

8.2 水系统生物安全控制

循环水系统保持 pH6.5-7.5，总氨氮 $<0.1\text{ mg/L}$ ，亚硝酸盐 $<0.05\text{ mg/L}$ （每天监测）。

8.3 哨兵动物监测

每季度按养殖种群总量 5%的比例投放经 PCR 检测确认无特定病原体（SPF）的健康爪蟾，与目标种群共同饲养 30 天后，进行蛙虹彩病毒、脑膜炎败血伊丽莎白菌、蛙壶菌、致病性嗜水气单胞菌检测。

8.4 动物逃逸应急响应预案

8.4.1 单只逃逸处置流程

单只逃逸处置流程要求：

- a) 发现后 10 分钟内立即封锁半径 5 米区域；
- b) 24 小时内组织专业人员使用红外热成像仪对设施外围 10 米范围进行地毯式搜索；
- c) 事件处理完毕后形成书面报告报送机构生物安全委员会备案。

8.4.2 群体逃逸 ≥ 5 只处置流程

处置流程包括：

- a) 发现后一小时内通报相关管理单位，如实验动物管理办公室；
- b) 在专业技术人员指导下，于设施外围 50 米处设置诱捕包围圈；
- c) 开展持续 7 天的每日巡查并记录捕获情况。

8.4.3 逃逸动物原则上一律处死，并进行尸体无害化处理。如实验需要必须保留此动物，则要求实验人员给出必要且充足的理由，逃逸的动物不可放回原笼，需贴好逃逸标识。

9 废弃物处理

废弃物处理应根据污染性质（病原污染、化学污染、普通废弃物）实行分级管理。

9.1 液态废弃物

不涉及病原的饲养废水，经沉淀、过滤等简单处理后达标排放；涉及病原的废水，应先行高压灭菌或化学灭活处理，经检测确认无病原体后方可排放。涉及化学试剂的实验废液，应按国家危险化学品管理规定收集并交由有资质的单位处理。

9.2 固态废弃物

残饵、粪便等普通固体废弃物应分类收集，密封后按一般废弃物处理。可能受病原污染的固体废弃物（如使用过的垫料、滤材等），应先行高压灭菌处理，再按医疗废弃物要求转运处置。

9.3 动物尸体

死亡个体及实验处死个体应装入密封容器，冷冻暂存，按医疗废弃物要求进行无害化处理。涉及病原的动物尸体应先行高压灭菌等灭活处理后再进行无害化处置。

9.4 实验耗材

一次性实验器具（吸管、培养皿等）使用后应经消毒处理，再按医疗废弃物的要求处理。可复用器具应经消毒、清洗、灭菌后方可再次使用。

9.5 废弃物处理应符合国家相关法律法规及 GB 19489 的要求，防止环境污染和病原扩散。

10 记录与档案管理

10.1 机构应建立非洲爪蟾饲养管理记录制度，对引种、检疫、饲养、繁殖、清洁消毒、废弃物处理等情况进行详细记录。

10.2 记录应真实、准确、完整。常规记录保存期限不少于 3 年；涉及病原检测、疫病处置、逃逸事件等敏感记录的保存期限应不少于 5 年。

10.3 应建立生物安全管理档案，包括人员培训记录、健康检查记录、应急预案及演练记录等。
