

ICS 点击此处添加 ICS 号

CCS 点击此处添加 CCS 号

T/CVDA

团体标准

T/CVDA XXXX—XXXX

草食动物病原感染实验质量管理与生物安全控制指南

Guidelines for Quality Management and Biosafety Control in Pathogen Infection
Experiments of Herbivorous Animals

（征求意见稿）

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

中国兽药协会 发布

目 次

前言 II

引言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 风险评估 2

5 基本要求 2

6 实验设计 2

7 实验操作 3

8 实验报告 5

附录 A（资料性） 可能干扰草食动物病原感染实验的微生物与寄生虫 7

参考文献 9

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这些专利的责任。

本标准由中国兽药协会提出并归口管理。

本文件起草单位：中国兽医药品监察所、中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、山东省动物疫病预防与控制中心、中国动物卫生与流行病学中心、中国合格评定国家认可中心。

本文件主要起草人：郭桐同、张广川、李倩琳、孟伯龙、刘元杰、王团结、王秀丽、马欣、王甲、刘永刚、王苗利、王君玮、陶雨风、富宏坤、岳怀宁、刘燕、姚文生。

引 言

牛、羊等草食动物是兽药行业在草食动物疫病致病机理研究、牛羊用疫苗的研发检验中常用动物。病原感染实验是生产检验用菌（毒、虫）种制备检定与筛选、牛羊用疫苗免疫效果评价的常用方法。全周期的病原感染实验包括实验设计、实验操作、实验报告。良好的实验设计是实验成功的一半，规范的实验操作是实验质量的保证，完整的实验报告是实验结果获得充分应用的基础。病原感染实验的生物安全风险受到国家、社会的广泛关注。风险评估是现代风险管理的核心工具，有必要将风险评估引入病原感染实验的质量管理与生物安全控制过程，助力提升病原感染实验的质量与生物安全水平。鉴于用于病原感染实验的健康草食动物筛选不易、牛羊饲养存在特殊性且牛羊动物实验室运行成本高、实验操作较为困难、生物安全防护要求严以及兽药行业高质量发展需要，为提升实验牛羊利用效能、保证病原感染实验质量、强化生物安全防范能力，在目前国家标准、行业标准无草食动物病原感染实验全周期的质量管理与生物安全控制标准的情况下，有必要制定本指南性团体标准，以推动国家法律法规和国际国内标准规范在草食动物病原感染实验的细化落地，助力兽药行业提质增效和创新发展。

在本文件中，使用了以下助动词：

- “应”表示要求；
- “宜”表示建议；
- “可”表示可以。

草食动物病原感染实验质量管理与生物安全控制指南

1 范围

本文件规定了草食动物病原感染实验的风险评估、基本要求、实验设计、实验操作、实验报告。本文件适用于牛、羊等草食动物病原感染实验的质量管理与生物安全控制。

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 5749 生活饮用水卫生标准
GB 19489 实验室 生物安全通用要求
GB/T 18641 伪狂犬病诊断技术
GB/T 18645 动物结核病诊断技术
GB/T 18646 动物布鲁氏菌病诊断技术
GB/T 18935 口蹄疫诊断技术
GB/T 27982 小反刍兽疫诊断技术
GB/T 39602 牛结节性皮肤病诊断技术
NY/T 541 兽医诊断样本采集、保存与运输技术规范
NY/T 561 动物炭疽诊断技术
NY/T 562 动物衣原体病诊断技术
NY/T 576 绵羊痘和山羊痘诊断技术
NY/T 3465 山羊关节炎脑炎诊断技术
SN/T 2710 山羊传染性胸膜肺炎检疫技术规范
中华人民共和国兽药典

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

病原感染实验 pathogen infection experiment

用活的病原（包括细菌、病毒或寄生虫）感染动物以及感染动物的相关实验操作（包括动物的饲养、临床观察、特殊检查，样本采集、处理和检测，动物解剖，动物排泄物、组织、器官、尸体等废弃物处理）。

3.2

质量管理 quality management

为确保病原感染实验的准确性和可靠性而采取的一系列措施。这些措施旨在监控和评估实验的全过程，包括实验设计、实验动物的选择与饲养、实验操作、数据采集和分析、实验报告等各环节，以确保实验结果的有效性。

3.3

生物安全控制 biosafety control

在病原感染实验过程中，为防止病原体对实验人员、实验室环境和社会造成危害而采取的一系列措施。这些措施旨在确保实验动物和实验人员的安全，防止病原体的泄露和传播，保证环境安全。

3.4

样本 specimen

含有或疑似含有具有感染活性的病原体的相关材料，来自动物的体液、排泄物、组织等，经适当处理后，用于病原分离以及血清学、分子生物学、病理学等方面的实验。

3.5

个人防护用品 personal protective equipment

防止人员个体受到生物性、化学性或物理性等危险因子伤害的器材和用品。包括口罩、面罩、手套、防护服、鞋套等。

3.6

处理因素 processing factors

外加给动物的实验条件因素，包括物理因素、化学因素和生物因素。

4 风险评估

4.1 开展病原感染实验前宜以病原为对象，搜集相关资料并对其进行分析，风险识别可能存在的风险。这些资料包括但不限于：

- a) 病原的危害程度分类、生物学特性、传播途径、在环境中的稳定性、对人的感染性以及人员的预防与治疗；
- b) 不同品种、性别、日龄（或体重）的动物对该病原的敏感性；
- c) 动物自身携带的微生物或寄生虫（见附录 A）可能对实验的干扰；
- d) 国内相关法律法规、部门规章（或部令公告）和标准规范；
- e) 国际组织或行业权威机构发布的指南、预案；
- f) 实验室环境及设施设备等相关信息。

4.2 评估风险可接受的程度，分为可接受风险和不可接受风险。对于不可接受风险应采取相应的风险应对。风险应对的方法包括但不限于：

- a) 停止具有风险的实验活动，以规避风险；
- b) 采取有针对性的防范措施，将风险降低至可接受程度。

5 基本要求

5.1 用于病原感染实验的动物实验室应符合《中华人民共和国兽药典》三部附录 3006 要求。用于高致病性动物病原感染动物实验的动物实验室还应符合生物安全三级防护或 GB 19489 规定的生物安全三级实验室要求。

5.2 用于病原感染实验的动物应符合风险评估后确定的健康动物筛选标准，并附有动物检疫合格证明。

5.3 使用高致病性动物病原开展病原感染实验活动应获得省级以上农业农村行政主管部门的批准。

5.4 动物实验人员和饲养人员在实验操作和饲喂动物过程中应佩戴符合相应生物安全防护水平的个人防护用品。

5.5 实验操作过程中应充分考虑动物福利。

6 实验设计

6.1 实验设计原则应包括但不限于：

- a) 实验设计时应充分利用风险评估结果；
- b) 动物福利；

- c) 实验设置对照组时，除感染操作外，实验组和对照组的其他处理因素保持一致；
- d) 根据实验类型选择基于标准、文献、经验或基于统计学方法来确定动物数量；
- e) 确定实验观察指标时，宜尽量选择客观性指标，不用或少用带主观成分的指标；
- f) 分析实验结果时，采用科学适用的方法筛选数据、推理结果；
- g) 必要时，在正式实验前设计预实验。预实验使用的动物数量可比正式实验要求的少，但实验方法和观察指标应和正式实验相同。预实验的结果不可归入正式实验的结果中一并分析。

6.2 实验方案内容应包括但不限于：

- a) 适宜的动物实验室设施和个人防护用品；
- b) 动物的选择，包括品种、性别、日龄（或体重）以及不应携带的微生物或寄生虫；
- c) 实验分组及动物数量，包括是否设置对照组、感染剂量组以及是否设盲；
- d) 病原接种物的制备，包括制备方法、保存条件以及有效期；
- e) 感染操作，包括感染途径、感染剂量；
- f) 临床反应预期指标；
- g) 样本采集与检测的指标与方法，包括病原学、血液学、病理学、免疫学、分子生物学等指标；
- h) 实验废物处置方法；
- i) 结果评价方法。

7 实验操作

7.1 动物饲养

7.1.1 饲养密度应利于草食动物采食、活动、躺卧为宜。

7.1.2 饲料应满足草食动物不同生长阶段的营养需求，以饲喂商业化配合饲料为宜，适用时可饲喂天然草料。

7.1.3 饮水应符合 GB 5749 要求。

7.1.4 适应性饲养时间不少于 3 日，以至草食动物生理和行为达到稳定状态。适应性饲养时间的长短可依据运输类型、运输时间、动物来源以及预期用途确定。

7.1.5 适应性饲养期间应观察草食动物的精神、采食、饮水、被毛、粪便、行动等，对表现出不良健康迹象的草食动物应予以淘汰。

7.1.6 饲喂应每日定时定量，上下午各 1 次，间隔时间宜为 6~8h。

7.1.7 宜每天清理草食动物饲养区域的动物排泄物、饲料（草料）残渣以及食盒、饮水器具等。

7.1.8 宜优先选用物理的方法清理动物饲养区域，不应使用对人和动物有毒有害、有气味、易残留的清洁剂和消毒剂。

7.2 抓取与保定

7.2.1 抓取保定动物时应避免粗暴操作，尽量减少草食动物的不适和应激反应。

7.2.2 应根据动物体重与实验需要，兼顾操作便利性和安全性，选择适宜的保定方法。

7.2.3 抓取保定时应穿戴适当的个人防护用品，防止人员损伤。

7.2.4 保定结束释放动物时，应确保其处于安全状态，避免因突然释放导致草食动物受伤或逃逸。

7.3 分组与标记

7.3.1 应按照实验方案对动物进行随机分组，每组动物饲养条件应相同。

7.3.2 分组标记应不影响动物福利和动物正常活动，且实验周期内均应可有效辨认。

7.3.3 分组标记可采用耳标法、纹身法、电子标识法或其它适用方法。

7.4 病原接种物制备

7.4.1 应依据病原的特性制备感染用接种物。

7.4.2 接种物的包装应至少具有内、外两层，含高致病性动物病原的接种物的包装应达到三层要求。

注1：两层包装应至少满足：内层包装应不透水、防泄漏并保证完全密封；外层包装应防水、防泄漏、防破损。

注2：三层包装（从内往外分别是主容器、辅助包装、外包装）应至少满足：主容器和辅助包装应不透水、防泄漏，保证完全密封；外包装应防水、防泄漏、防破损、耐高温、耐高压；主容器和辅助包装之间应填充吸附材料，其填充量应能满足吸收主容器内所有内装物；辅助包装与外包装之间应使用适当的衬垫材料，其使用量应能达到安全固定辅助包装的要求；主容器的表面应予以标识信息；外包装应粘贴生物危险标识和警告语。

7.5 感染操作

7.5.1 接种剂量、接种途径应符合实验方案要求。

7.5.2 接种物应在规定的时间内完成使用。

7.5.3 使用后的尖锐器材（如针头）应放入利器盒，装量应不超过利器盒容积的 2/3。其它实验废物应使用至少两层包装进行密封包装后送至指定地点暂存。

7.5.4 感染操作结束后应对实验区域环境和设备进行清洁消毒处理。

7.5.5 不慎发生病原接种物溢散时，可参照 GB 19489 附录 C 处理。

7.6 实验观察

7.6.1 应根据病原的特性定期观察实验动物的临床反应，做好观察记录。

7.6.2 草食动物临床反应如超出临床反应预期指标，应及时分析原因并采取应对措施（如：采样检测是否感染其他病原、变更变质饲料等）。

7.7 样本采集与检测

7.7.1 采样原则

7.7.1.1 应依据实验方案选择样本采集的种类、数量、部位。必要时，可根据草食动物的临床表现反应，适当调整应采集的样本。

7.7.1.2 病原分离样本的采样过程应保证无菌操作，刀、剪、镊子、器皿、注射器、针头等采样用具应事先严格灭菌。采集其它用途的样本时宜做到无菌操作。

7.7.1.3 采集死亡动物的样本，宜于动物死亡后 2h 内完成。无法完成时，样本采集应在发现动物死亡后及时完成。

7.7.1.4 样本包装应至少具有内、外两层，并满足本文件 7.4.2 条注 1 要求。高致病性动物病原样本包装应具有三层，并满足本文件 7.4.2 条注 2 要求。

7.7.2 采样顺序 需要采血时，首先选择采血，然后进行解剖，采集需要的相应组织器官。

7.7.3 样本采集、处理、保存可参照相关国家标准和行业标准执行。

注：伪狂犬病毒样本的采集、处理、保存可参照GB/T 18641诊断技术，牛分支杆菌和结核分枝杆菌样本的采集、处理、保存可参照GB/T 18645执行，布鲁氏菌样本的采集、处理、保存可参照GB/T 18646执行，口蹄疫病毒样本的采集、处理、保存可参照GB/T 18935执行，小反刍兽疫病毒样本的采集、处理、保存可参照GB/T 27982执行，牛结节性皮肤病病毒样本的采集、处理、保存可参照GB/T 39602执行，炭疽芽孢杆菌样本的采集、处理、保存可参照NY/T 561执行，衣原体样本的采集、处理、保存可参照NY/T 562执行，羊痘病毒样本的采集、处理、保存可参照NY/T 576执行，山羊关节炎脑炎病毒样本的采集、处理、保存可参照NY/T 3465执行，山羊支原体山羊肺炎亚种样本采集、处理、保存可参照SN/T 2410执行，其它病原样本的采集、处理、保存可参照NY/T 541定执行。

7.7.4 采样记录

7.7.4.1 采样时，应清晰标识每份样本。

7.7.4.2 采样记录内容应包括但不限于：

- a) 样本名称；
- b) 采集部位；
- c) 采样时间；
- d) 被采样动物的编号；
- e) 采样人姓名；
- f) 对于病理组织样本，还应适当增加记录内容，如动物品种、组织名称和数量、固定液名称和浓度、组织固定日期、病理制片要求、病理切片观察要求等。

7.7.5 依据实验方案进行样本检测。

7.8 安乐死

7.8.1 达到以下条件时，可对动物实施安乐死。

- a) 已到实验设计的时间终点；
- b) 虽未到实验设计的时间终点，但已获得实验结果时；
- c) 其他原因不适合继续饲养。

7.8.2 适用于草食动物的安乐死方法包括但不限于：

- a) 静脉注射巴比妥类药物致死，推荐使用剂量为 90mg/kg 以上；
- b) 麻醉后静脉注射氯化钾致死，氯化钾推荐使用剂量为 10mg/kg~20mg/kg。

7.9 实验废物处理

7.9.1 活毒废水应集中收集，并彻底消毒或灭菌后方可排出。

注：含高致病性动物病原的废水必须彻底灭菌方可排出。

7.9.2 病原感染实验中产生的废气应经高效过滤处理后排出。

7.9.3 固体废物应依据病原的危害程度，采用适宜的消毒或灭菌方法进行处理方可传出实验室。

注1：固体废物包括动物尸体、组织、粪便残渣、饲料（草料）残渣及其他可能沾染病原体的废物（一次性隔离服、口罩、手套、注射器、玻璃器皿、废过滤器芯材等）。

注2：含高致病性动物病原的固体废物必须彻底灭菌后才可传出实验室。

7.9.4 消毒或灭菌后的固体废物应按医疗废物进行无害化处理。

7.10 实验记录

7.10.1 实验记录应涵盖动物引入、饲养、实验、观察、处理、检测等全过程，应准确、完整、清晰，保证可追溯性。

7.10.2 实验记录不应随意修改。如必须修改，应采用单横线或双横线进行杠改，保证原错误记录清晰可辩，并由修改人签字，注明修改时间和原因。

8 实验报告

8.1 实验报告应至少包括实验目的、实验方法、实验结果、实验结论等内容。

8.2 实验报告应以实验记录为依据进行撰写。

8.3 必要时应利用适宜的统计学方法分析原始数据。应用统计方法之前，应先了解数据的特性，包括数据的类型（定量或定性）、分布、异常值、数据的独立性等。

8.4 只要适用，量值应使用科学计数法和国际单位制表示。

8.5 应说明动物的品种、性别、日龄（或体重）、来源、健康状况以及是否有被剔除的动物及其剔除原因。

- 8.6 应说明病原的名称、来源、感染剂量、感染途径以及感染后的临床症状。
- 8.7 应说明获得原始数据的实验条件（如：使用的设施、仪器等）和所依据的来源（如：血液样本、拭子样本、组织样本等）。
- 8.8 应说明对原始数据或所依据资料的取舍规则，说明是否有原始数据未被采用。
- 8.9 应至少说明动物实验活动伦理审查是否经过批准。适用时，应说明实验活动是否经过生物安全批准。

附 录 A

(资料性)

可能干扰草食动物病原感染实验的微生物与寄生虫

A.1 引言

本附录旨在供风险评估时参考。

A.2 微生物列表

微生物名称	可能会干扰的动物实验		
	牛	山羊	绵羊
口蹄疫病毒 (<i>Foot and mouth disease virus</i>)	●	●	●
布鲁氏菌 (<i>Brucella</i>)	●	●	●
钩端螺旋体 (<i>Leptospira</i>)	●	●	●
伯氏疏螺旋体 (<i>Borrelia burgdorferi</i>)	●	●	●
贝氏柯克斯体 (<i>Coxiella burnetii</i>)	●	●	●
副结核分枝杆菌 (<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>)	●	●	●
多杀性巴氏杆菌 (<i>Pasteurella multocida</i>)	●	●	●
牛羊衣原体 (<i>Chlamydia pecorum</i>)	●	—	●
蓝舌病病毒 (<i>Blue tongue virus</i>)	●	●	●
产气荚膜梭菌 (<i>Clostridium perfringens</i>)	●	●	●
产单核细胞李氏杆菌 (<i>Listeria monocytogenes</i>)	●	●	●
伪鼻疽伯氏菌 (<i>Burkholderia pseudomallei</i>)	●	●	●
沙门菌 (<i>Salmonella</i>)	●	●	●
链球菌 (<i>Streptococcus</i>)	●	●	●
支原体 (<i>Mycoplasma</i>)	●	●	●
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	●	●	●
溶血性曼氏杆菌 (<i>Mannheimia haemolytica</i>)	●	—	●
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	●	—	—
肺炎克雷伯杆菌 (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	●	—	—
牛分枝杆菌 (<i>Mycobacterium bovis</i>)	●	—	—
胎儿弯曲杆菌 (<i>Campylobacter fetus</i>)	●	—	—
牛病毒性腹泻-粘膜病毒 (<i>Bovine viral diarrhoea virus</i>)	●	—	—
牛传染性鼻气管炎病毒 (<i>Infectious bovine rhinotracheitis virus</i>)	●	—	—
牛白血病病毒 (<i>Bovine leukemia virus</i>)	●	—	—
牛流行热病毒 (<i>Bovine ephemeral fever virus</i>)	●	—	—
小反刍兽疫病毒 (<i>Peste des petits ruminants virus</i>)	—	●	●
羊痘病毒 (<i>pox virus</i>)	—	●	●
伪狂犬病病毒 (<i>Pseudorabies virus</i>)	—	●	●
口疮病毒 (<i>Orf virus</i>)	—	●	●
梅迪-维纳斯病毒 (<i>Maedi-visna virus</i>)	—	—	●
山羊关节炎-脑炎病毒 (<i>Caprine arthritis encephalitis virus</i>)	—	●	—
绵羊肺腺瘤病毒 (<i>Ovine pulmonary adenomatosis virus</i>)	—	—	●

注：●表示牛、山羊、绵羊可能携带的微生物

A.3 寄生虫列表

寄生虫名称	可能会干扰的动物实验		
	牛	山羊	绵羊
体外寄生虫 (<i>Ectoparasites</i>)	●	●	●
棘球蚴 (<i>Echinococcus</i>)	●	●	●
弓形虫 (<i>Toxoplasma</i>)	●	●	●
球虫 (<i>Coccidia</i>)	●	●	●
新孢子虫 (<i>Neospora</i>)	●	●	●
梨形虫 (<i>Piroplasma</i>)	●	●	●
隐孢子虫 (<i>Cryptosporidium</i>)	●	●	●
贾第虫 (<i>Giardia</i>)	●	●	●
锥虫 (<i>Trypanosome</i>)	●	●	●
蠕虫 (<i>Helminths</i>)	●	●	●
注：●表示牛、山羊、绵羊可能携带的寄生虫			

参 考 文 献

- [1] GB/T 27025-2019 检测和校准实验室能力的通用要求.
 - [2] GB/T 27416-2014 实验动物机构 质量和能力的通用要求.
 - [3] GB/T 27425-2020 科研实验室良好规范.
 - [4] GB/T 42011-2022 实验动物 福利通则.
 - [5] GB/T 43051-2023 实验动物 动物实验生物安全通用要求.
 - [6] RB/T 040-2020 病原微生物实验室生物安全风险指南.
 - [7] 程水生, 崔保安, 陈光华. 2012. 兽医实验动物学[M]. 北京: 中国农业出版社.
 - [8] 魏泓. 2016. 医学动物实验技术[M]. 北京: 人民卫生出版社.
 - [9] 杨永光. 2017. 兽医寄生虫学[M]. 北京: 中国农业出版社.
 - [10] 陆承平, 刘永杰. 2022. 兽医微生物学[M]. 北京: 中国农业出版社.
 - [11] 卢选成, 李晓燕, 刘晓宇. 2022. 美国兽医协会动物安乐死指南(2020版)[M]. 北京: 科学出版社.
 - [12] PERCIE DU SERT N, HURST V, AHLUWALIA A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research [J]. PLoS Biology, 2020, 18(7): e3000410. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000410.
 - [13] Terrestrial Animal Health Code(2024)[M]. 2024. World Organisation for Animal Health. <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/>.
 - [14] Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, thirteenth edition 2024[M]. 2024. World Organisation for Animal Health. <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/>.
 - [15] Key Certainties and Uncertainties in Animal Health and Welfare[M]. 2024. World Organisation for Animal Health. <https://www.woah.org/app/uploads/2024/12/v6-trendbook-foresight-17122024.pdf>.
-