

华南理工大学ABSL-2/BSL-2实验室病原微生物实验活动风险评估表

实验名称	(请填写具体实验名称, 并与动物实验伦理系统申请名称相一致)				
所用实验室类型	<input type="checkbox"/> ABSL-2 <input type="checkbox"/> BSL-2				
实验室所在单位	<input type="checkbox"/> 实验动物中心 (ABSL-2 ) <input type="checkbox"/> 医疗器械研究检验中心 (____校区____栋____实验室) <input type="checkbox"/> 前沿软物质学院 (____校区____栋____实验室) <input type="checkbox"/> 材料科学与工程学院 (____校区____栋____实验室) <input type="checkbox"/> 生物科学与工程学院 (____校区____栋____实验室) <input type="checkbox"/> 食品科学与工程学院 (____校区____栋____实验室) <input type="checkbox"/> 生物医学科学与工程学院 (____校区____栋____实验室)				
课题负责人及联系人信息					
实验负责人	我校在编在岗教师	单位	华南理工大学XX学院 具体到二级学院	电话	130XXXXXXX
				邮箱	Xxx@scu.edu.cn
实验联系人	参与实验人员之一	单位	华南理工大学XX学院 具体到二级学院	电话	130XXXXXXX
				邮箱	Xxx@scu.edu.cn
实验人员信息					
姓名	单位	人员类别	联系方式	健康状况	是否经过所操作病原微生物的相关培训
王XX	华南理工大学XX学院	(硕士研究生、博士研究生、博士后、正式教职工)	130XXXXXXX	良好	是/否 (病原微生物的培训由课题组负责)
实验活动描述					
实验目的	分析XX小鼠感染XX病毒/细菌后的XX变化规律, 为XX提供指导, 不少于100字				
病原微生物信息	中文名称(英文名)、来源、类型(培养液、血液、组织、咽拭子等)				

实验动物	品种、品系、周龄、体重、性别、数量
分组信息	1、XX组，X只，处理方式 2、XX组，X只，处理方式 3、XX组，X只，处理方式
实验操作	<p>主要描述病原接种方式、剂量、感染周期等（需要有详细的操作步骤）</p> <p><b>1、病毒准备</b></p> <p>（1）将分装好的XX病毒毒种从-80° C冰箱或液氮中取出，在冰上或冷水浴中缓慢解冻。</p> <p>（2）用无菌PBS或细胞维持液将病毒原液稀释至所需感染滴度（如 <math>1 \times 10^8</math> GC/mL）。所有稀释操作均在生物安全柜中进行。</p> <p>注意： 避免反复冻融病毒，以免降低病毒滴度。</p> <p><b>2、动物准备：</b></p> <p>（1）实验前动物在ABSL-2设施中适应至少5天。</p> <p>（2）动物根据体重随机分组，并做好清晰的笼卡和耳标标记。</p> <p>（3）感染前禁食（可选，根据实验设计，可增强某些毒株的感染效率）。</p> <p><b>3、动物染毒</b></p> <p>（1）XX组，对动物进行灌胃染毒，100 <math>\mu</math> L/只。</p> <p>（2）XX组，动物染毒后，给与XX剂量的XX, 灌胃，100 <math>\mu</math> L/只。</p> <p>（3）XX组，动物染毒后，给与XX剂量的XX, 灌胃，100 <math>\mu</math> L/只。</p> <p><b>4、感染周期/给药周期</b></p> <p>动物感染后XX日，处死动物；动物给药后XX日，处死动物。</p> <p><b>5、注意事项</b></p> <p>动物所有的操作均在生物安全柜内执行。</p> <p>（根据具体实验内容填写）</p>
实验观察、标本采集、检测指标	1、动物观察：每天进行一般观察，包括动物活动情况、毛发、分泌物、行为活动，死亡情况等 2、感染后XX日，动物用XX浓度的XX麻醉后，心脏采血，分离血清，进行XX指标检测 3、感染后XX日，取肝脏、肾脏进行福尔马林固定，石蜡切片，HE染色 4、感染后XX日，取脑组织液氮冻存，进行XX指标的分子生物学检测
标本运输、标本处理、废弃物处理	<p>1、标本处理方式</p> <p>（1）血液标本：三层包装（UN3373标识），在BSL-2及以上级别实验室完成检测；</p> <p>（2）病理标本：三层包装（UN3373标识），固定后，在普通病理室完成；</p> <p>（3）冻存组织：三层包装（UN3373标识），在BSL-2及以上级别实验室完成操作。</p> <p>2、固体废弃物</p> <p>（1）垫料与固体废物：所有接触过感染动物的垫料、饲料、一次性耗材等，均须作为感染性废</p>

	<p>弃物，装入双层生物安全垃圾袋，经高压蒸汽灭菌后方可运出处理。</p> <p>（2）利器：使用过的注射器针头、灌胃针等必须立即弃入耐刺的利器盒，严禁徒手分离或复帽。</p> <p>（3）液体废物：病毒稀释液、清洗液等须用1%次氯酸钠溶液（终浓度）浸泡30分钟以上灭活，再倒入专门的废水处理系统。</p> <p>（4）工作台面与设备：实验结束后，所有台面、设备表面（包括生物安全柜内部、鼠笼外表面）均需用1%次氯酸钠溶液或等效消毒剂彻底擦拭。</p> <p>（5）防护服：离开实验室前，将所有PPE脱下，放入指定的高压灭菌袋中。</p>		
实验过程风险分析（应全面考虑各项操作风险）			
实验操作	可能存在的风险	预防措施	意外事故应急预案
活菌接种操作	操作过程中可能产生气溶胶；或因动物挣扎和抽液操作不当导致菌液溅洒、器械刺割，使得病原体直接接触皮肤黏膜。	<p>1. 规范操作与防护：在生物安全柜内进行；操作者须穿戴防护衣帽、口罩、手套；采用正确的动物保定方法，防止挣扎。</p> <p>2. 安全使用器械：使用针头固定的或针筒一体式注射器；抽液时动作轻柔，避免产生气泡；严禁使用注射器混合感染性液体。</p>	<p>1、刺伤或切割伤：立即脱下手套，由近心端向远心端挤压伤口，尽可能挤出血液，用流动水冲洗，75%酒精或碘伏消毒。立即报告主管负责人，并进行医学评估和观察。</p> <p>2、病毒溅洒：</p> <p>（1）皮肤接触：立即用大量清水和肥皂冲洗至少15分钟。</p> <p>（2）眼内溅入：立即用洗眼器冲洗至少15分钟。</p> <p>（3）台面或地面溅洒：用纸巾覆盖，从外围向中心倾倒足量消毒剂，作用30分钟后清理。</p>
病原微生物信息			
病原微生物名称	中文名（英文名）	危害程度分类	<input type="checkbox"/> 三类 <input type="checkbox"/> 四类
感染宿主	大小鼠、人、牛、马、猪、羊	人畜共患病原体	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否
传播途径	<input type="checkbox"/> 呼吸道 <input type="checkbox"/> 消化道 <input type="checkbox"/> 血液 <input type="checkbox"/> 媒介 <input type="checkbox"/> 接触 <input type="checkbox"/> 母婴传播 <input type="checkbox"/> 性传播	涉及遗传修饰生物体（GMOs）	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否
病原微生物简介	铜绿假单胞菌（ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ）是一种广泛存在于自然环境（如水、土壤）中的革兰氏阴性杆菌，呈长棒形的细菌，只有单向的运动性，常见的分型有。它是一种机会性感染细菌，且对植物亦是机会性感染的，感染后因脓汁和渗出液等病料呈绿色。该菌以环境适应力极强著称，可在微量营养甚至消毒剂中存活，并易形成生物膜，从而抵抗多种抗生素和消毒措施。为需氧菌，在普通培养基上易于生长，培养适宜温度为35度，PH值为7.2。		
流行病学特征	铜绿假单胞菌的流行病学特征集中表现为一种典型的医院内机会性感染模式：其传染源主要来自被污染的医院环境（如水源、潮湿表面及医疗设备），通过接触或气溶胶传播；易感人群高度集中于免疫缺陷者、重症患者、有器械植入（如呼吸机、导管）或结构性肺病（如囊性纤维化）的个体，使其成为呼吸机相关性肺炎和ICU血流感染的主要病原之一；更严峻的是，该菌凭借强大		

	的环境生存能力、生物膜形成及内在耐药性，催生了多重耐药菌株的克隆传播，导致其在院内感染中发病率较高。
人感染后的主要临床表现	铜绿假单胞菌是医院内常见的条件致病菌，主要威胁免疫力低下或有严重基础疾病的患者，其感染临床症状凶险且极具特征性：在肺部可引起突发高热、呼吸困难并咳出大量黄绿色脓痰的急重肺炎；若入侵血液则导致寒战、休克及精神意识改变的致命性败血症；于皮肤创面或烧伤部位形成弥漫蓝绿色脓液并散发特殊水果气味的顽固感染，常伴有组织坏死；此外，它还可引发排尿灼痛的血性尿道感染、糖尿病患者中易侵袭颅骨的恶性耳道炎症，以及因角膜溃疡而迅速损害视力的眼部感染。该菌以其高耐药性和快速进展的破坏力，成为临床尤其需要警惕的致病菌。
对人的致病性、发病率和死亡率	铜绿假单胞菌在医院感染中占有显著地位，尤其在呼吸机相关性肺炎（VAP）中占比可达10%-20%，是院内革兰氏阴性菌感染的主要病原之一。一旦引发血流感染或肺炎，其病情进展迅猛，死亡率极高——菌血症相关死亡率达30%-50%，而由其引起的呼吸机相关性肺炎死亡率更可高达40%-70%，若菌株为多重耐药则预后更差，使之成为临床感染防控与治疗的重大挑战。
预防和治疗措施	<div> <input checked="" type="checkbox"/>治疗药物_____抗假单胞菌β-内酰胺类联合氨基糖苷类或氟喹诺酮类药物等_____         </div> <div> <input type="checkbox"/>疫苗_____         </div> <div> <input type="checkbox"/>特异抗血清_____         </div> <p>详述人感染后的治疗措施：</p> <p>铜绿假单胞菌的防治需采取多管齐下的策略：预防核心在于严格的感染控制，包括加强手卫生、严格消毒医疗器械与环境（尤其水源系统）、规范无菌操作及对耐药菌感染患者实施接触隔离；治疗则面临严峻的耐药性挑战，必须依据药物敏感性试验结果，遵循“及时、足量、联合”原则，常用抗假单胞菌β-内酰胺类联合氨基糖苷类或氟喹诺酮类药物，对于多重耐药甚至全耐药菌株，则需启用多粘菌素、头孢地尔等最后防线药物，并积极通过手术清创移除感染灶。</p>
消毒、灭菌方法	<p>化学法：有效消毒剂 1____含氯消毒剂____； 2____过氧化物类____；</p> <p>物理法：<input type="checkbox"/>压力蒸汽灭菌器；<input type="checkbox"/>干热灭菌；<input type="checkbox"/>紫外线；</p> <p>其他：</p>
参考文献列表	<p>1、Moradali M F, Ghods S, Rehm B H. Pseudomonas aeruginosa Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2017, 7: 39.</p> <p>2、姓名. 书面[M]. 第9版. 北京： 人民卫生出版社， 2018: 125-128.</p> <p>3、姓名. 论文名字[D]. 上海： 复旦大学， 2021.</p>
附件要求	<div> <input checked="" type="checkbox"/>1、ABSL-2实验室实验人员培训证明         </div> <div> <input checked="" type="checkbox"/>2、ABSL-2实验室实验人员风险认知与安全承诺书         </div> <div> <input checked="" type="checkbox"/>3、实验人员近期体检报告         </div> <p>注：附件1和2模版见动物中心官网-文件下载-常用表格</p>

评估结论	
实验负责人（签字）	<p>本人及课题组人员承诺将严格按照上述申请内容开展实验，同时严格遵守实验室规章制度，绝不在上述实验室开展未经申报的微生物实验。</p> <p>（签字）：</p> <p>年 月 日</p>
所在学院意见	<p>同意开展实验活动<input type="checkbox"/> 不同意开展实验活动<input type="checkbox"/></p> <p>其他意见：</p> <p>院长或分管安全的副院长（签字）：</p> <p>年 月 日</p>
所用ABSL-2/BSL-2 实验室意见	<p>同意开展实验活动<input type="checkbox"/> 不同意开展实验活动<input type="checkbox"/></p> <p>其他意见：</p> <p>实验室负责人（签字）：</p> <p>年 月 日</p>
华南理工大学 生物安全分委员会意见	<p>同意开展实验活动<input type="checkbox"/> 不同意开展实验活动<input type="checkbox"/></p> <p>其他意见：</p> <p>（签字）：</p> <p>年 月 日</p>