

魏强. 动物生物安全实验室管理和技术要点 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(3): 94-97.
Wei Q. Issues of Animal Experiments in Bio-safety Laboratories [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(3): 94-97.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.03.016

动物生物安全实验室管理和技术要点

魏 强*

(北京协和医学院比较医学中心, 中国医学科学院医学实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学重点实验室, 国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室, 北京 100021)

【摘要】 动物生物安全实验室的管理分两条路径进行, 一是行政管理路径, 由单位授权的部门管理; 二是兽医技术路径, 是通过兽医巡检管理。两条路径各负其责, 又相互配合, 覆盖生物安全所有环节。由于动物感染实验的活动越来越多, 用于病原性研究的动物种类跨度也越来越大, 远远超过经典“实验动物”的种类, 比如蝙蝠、野鸟、蝗虫和各种患病的源头动物, 动物实验生物安全问题伴随而来, 使得实验室管理和技术要求难度加大, 有时甚至觉得无从管理。动物生物安全实验室的管理中, 往往发现管理责任和技术要求主体不十分清楚。该文就有关问题进行了讨论并提出一些建议, 供管理人员和使用人员参考。

【关键词】 动物实验; 生物安全管理

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 03-0094-04

Issues of Animal Experiments in Bio-safety Laboratories

WEI Qiang*

(Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College (PUMC) & Institute of Medical Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences(CAMS); Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine, Ministry of Health; Key Laboratory of Human Diseases Animal Models, State administration of Traditional Chinese medicine, Beijing 100021, China)

【Abstract】 The management of biosafety laboratories is usually based on both officials and veterinarians, but sometimes the management is not clear enough to continue many facilities, and experiments using various animals have increased in recent years. The new situation has caused difficulties with facility management, animal management, risk control, and care of animals infected with pathogens. In this review, comments and suggestions are provided for discussion.

【Keywords】 animal experiment; biosafety management

动物生物安全实验室 (animal biosafety laboratory, ABSL) 的运行管理至关重要, 涉及的方面错综复杂, 容易出现偏颇。尤其是在实践过程中往往发现管理责任和技术要求主体不十分清楚。具体表现在行政管理路径和兽医或实验动物医师技术路径责任不清。由于动物感染实验的活动越来越多, 使得实验室管理和技术要求难度加大, 需

要大家集思广益, 充分论证, 提出有效策略。

1 动物生物安全实验室的行政管理中重点关注的问题

良好的动物实验室管理是有单位指定的专门部门进行行政管理, 如实验室管理处, 科研处室或其他挂靠部门。这些部门是单位的实体部门, 具有

【基金项目】 中国医学科学院医学与健康科技创新工程经费资助 (2017-I2M-1-014); 国家重点研究计划项目: 基于重大神经疾病非人灵长类模型的干细胞治疗评价研究 (2017YFA0105204)。

【作者简介】 魏强, (1964—) 男, 博士, 教授, 研究员, 博士生导师, 长期从事动物生物安全活动管理及艾滋病致病机制研究。

E-mail: weiqiang0430@cnilas.org

行政权力。按照国家实验室生物安全管理及实验动物管理相关规定和要求,单位或 ABSL 实验室应同时设立生物安全委员会和实验动物使用管理委员会(或福利伦理审查委员会)^[1-3]。

ABSL 实验室管理部门应当以设计、实施、维持和改进安全管理体系为重点。例如:规划实验室的组织管理架构;设定实验室人员的权责内容和协作关系;负责为实验室人员提供履职需要的权限和资源;安排资深专家对不同资历和不同部门的工作人员进行培训;编制安全管理体系文件^[3]。此外,管理部门还需对安全管理体系文件的使用和实施进行必要的指导。最常见的问题是,关于动物实验活动的管理文件和技术文件没有单位认可证明或授权证明。管理责任、内容、要求不是十分清楚,缺乏管理记录等。

生物安全委员会和实验动物使用管理委员会(或福利伦理审查委员会),主要负责对人员、设施设备、实验活动风险与控制等进行指导、评估、监督,以及咨询实验室的动物生物安全活动和动物福利伦理等相关事宜。单位也可以委托委员会全面管理,但应有法律意义上的委托证明。实验动物的使用应按国家相应的法规、制度、指南和标准进行^[4-7]。有些单位,尤其是 ABSL-3 高等级实验室只设有生物安全委员会,而没有专业的动物使用管理委员会或动物福利伦理审查委员会,不符合关于实验动物相关要求,对动物生物安全要求也是不全面的。

2 实验动物医师或兽医等关键岗位人员设置问题

管理人员是安全责任执行的主体,由于责任不同,应设置不同关键岗位的专业性强的管理人员。通常来讲,实验室的管理分两条路径进行,一是行政管理路径,即上述谈到的有单位授权的部门管理;二是兽医技术路径,是通过兽医巡检管理。两条路径各负其责,又相互配合,覆盖生物安全所有环节。

在动物实验活动中,兽医或实验动物医师起到无可替代的作用,既是动物福利的代言人,也是患病(感染)动物第一守护人。兽医制度明确了兽医队伍组成和临床职责,尤其是巡检管理,通过临床观察到的外观健康状况,如活动、精神、食欲等有无异常;头部、眼睛、耳朵、皮肤、四肢、尾巴、被毛等是否出现损伤、异常;分泌物、排泄物等是否正常。此外,兽医也应依据 ABSL 实验室安全管理体系控制

病原污染。痛苦和伤害往往使动物活动增加、暴露增大,增加生物安全风险。兽医能够贯彻保证动物应享有的福利,在使用动物进行实验研究时,尽量避免给动物带来不必要的痛苦或伤害^[1-2,8]。很多单位尽管有兽医岗位人员,但工作依赖于行政管理,或专业性不强,出现强管理,弱专业现象,暴露出一定的风险。

3 ABSL 实验室安全负责人和技术负责人的职责

实验室应该明确 ABSL 实验室安全负责人。安全负责人应监督 ABSL 实验室的所有活动,特别是做好 ABSL 实验室安全计划的制定、修改和监督实施工作。如负责实验活动中的风险识别、评估和控制方法,阻止不安全行为或活动的权力,负责制定年度安全计划,安全计划应包括动物实验涉及的所有环节,直接向决定实验室政策和资源的管理层报告的权力。因此,在某种程度上讲,生物安全负责人,直接对实验室安全负责,是行政管理的一部分,决定了生物安全活动的控制程度。

实验室还应该明确 ABSL 实验室技术负责人,并提供可以确保满足实验室规定的安全要求和技术要求的资源,如动物实验中消毒灭菌的具体要求、动物防护用品的选择等。项目负责人应共同制定动物实验计划、风险评估报告、安全及应急措施要求。技术负责人负责安全的技术保证,提供可靠、高效、特异的安全技术方案,为实验室整体安全提供技术支撑。

4 动物种类和安全设施问题

由于人兽共患病病原的深入研究,动物感染实验的活动越来越多,用于病原性研究的动物种类跨度也越来越大,远远超过经典“实验动物”的种类,比如蝙蝠、野鸟、蜚虫和各种患病的源头动物,带来了动物实验生物安全问题。比如,是否允许该类动物进入动物实验设施?除了 ABSL-3 以上级别的高等级实验室实行国家强制认可^[3],以 ABSL-2 为主的动物感染实验设施由谁批准建设或使用?已有的生物安全二级实验室全国普遍采取属地备案管理,有些地区鼓励申请 CNAS 自愿认可,但执行起来没有统一要求,甚至由于停顿影响了使用。建议当地实验动物管理部门和感染性实验活动管理部门高度重视,加强合作,积极协调。

病原感染性动物实验的设施、设备要求及人员

防护取决于病原种类,即病原的烈性程度。高致病性的一、二类病原或疑似携带该类病原的蝙蝠、野鸟、蜚虫和各种患病的源头动物要求在 ABSL-3 或 ABSL-4 高等级实验室中进行,特殊实验活动、或疑似不能确定的实验活动须经上级行政主管部门生物安全委员会,甚至国家生物安全委员会论证批准。三、四类病原或疑似病原感染性动物实验活动通常可有单位生物安全委员会论证批准即可。

蜚虫等无脊椎动物由于个体小、活动力强,易于藏匿。野生状态来源的蜚虫可携带种类繁多的病原体,实验室应有效评估风险,具备良好的防护装备、技术和功能,能有效控制动物的逃逸、扩散、藏匿等活动,最好有专业人员指导,有效控制动物本身的危害或可能从事病原感染的双重危害。

5 动物操作中的安全保障问题

动物实验中的安全保障是通过控制动物实验中操作环节、防止病原物质污染环境和人员实现的^[8]。易忽视环节主要包括以下方面。

5.1 动物实验样本采集中的生物安全保障

实验研究中,经常要采集实验动物的血液、组织、器官等样本,进行病原检测。因此掌握正确的采血和样本采集技术十分必要,良好的动物样本采集技术,既能满足实验需要,也能有效实现生物安全控制。手术、解剖操作时操作者可能被动物体液和样品污染,而且存在被锐器刺伤的风险,存在潜在生物危害,因此必须做到:动物操作时一定要采取措施减少动物的痛感;减少动物活体采集数量和频率;避免对同一个动物进行多次手术实验;严格实验操作规程,防止发生血液、体液外溅。在组织、器官等标本采集处置过程中避免意外划伤、针刺伤等;手术后的动物、标本以及用过的器械耗材等必须依据生物安全相关程序进行处理。动物实验中常用的利器包括手术刀、剪刀、注射器、缝合针、穿刺针和载玻片等,应严格操作,避免划伤、刺伤实验人员。应尽可能使用一次性的手术刀和注射器,禁止徒手安装、拆卸手术刀片和回套注射器针帽,必要时必须借助镊子或止血钳辅助;双人操作时,一般情况下禁止传递利器;一次性手术刀和注射器使用后应立即投入利器盒。

5.2 含有感染性材料的动物实验操作

动物实验中会产生各种各样感染性材料,应该

充分识别可能的风险,严格进行生物安全防护,实现有效控制。对感染性材料污染的清除和处理最可能直接导致人员手、面等部位污染。被污染的手、手套会导致感染性物质的食入,或时常发生皮肤和眼睛的污染,同时也较易污染门把手、电话、书籍等公用环境。被破损玻璃器皿的刺伤或操作注射器方法不当可能被扎伤而引起经血液感染。血液样本采集时可能因血液喷溅和吸入气溶胶导致呼吸道感染或误入眼睛而发生黏膜感染等。动物等级、大小、特性、饲养、操作、咬伤、抓伤、气溶胶可导致的感染均有不同情况。因此,控制措施就会有所不同。在处理病原微生物的感染性材料时使用可能产生病原微生物气溶胶的搅拌机、离心机、匀浆机、振荡机、超声波粉碎仪和混合仪等设备,必须进行消毒灭菌处置。

5.3 实验废物和动物尸体的处理

动物实验会产生很多废物,如动物的排泄物、分泌物、毛发、血液、各种组织样品、尸体以及相关实验器具、废水、废料、垫料、福利环境丰荣物品等。处理不当,都会作为病原载体造成人员和环境污染,必须按照生物安全原则,根据不同特点和要求,进行严格消毒灭菌处置。具体分述如下:(1)血液和体液标本:检测后废弃的标本经 121℃、30 min 高压灭菌。(2)动物脏器组织:动物脏器组织进行病原微生物分离实验后按照标准程序进行处理;动物组织需经甲醛固定后再进行病理切片。剩余的组织经 121℃、30 min 高压灭菌。(3)动物尸体:动物安乐死后进行取材。剩余的动物尸体经 121℃、30 min 高压灭菌后,统一送环保部门进行无害化处理。动物 ABSL 三级及以上级别的实验室,其感染动物尸体原则上需经 ABSL 实验室内消毒灭菌装置处理后再经 ABSL-3 实验室双扉高压灭菌,才能移出实验室。(4)动物咽拭子:咽拭子进行病原分离和 PCR 检测后,剩余的标本经 121℃、30 min 高压消毒。(5)病原分离培养物:所有培养物必须经 121℃、30 min 高压灭菌处理。

6 结语

动物生物安全实验室的管理涉及方方面面,最重要的是部门行政管理和专业技术管理有机结合,实现无缝对接管理。没有实验动物医师或兽医强有力的专业支持,很难做到精准管理,实现风险控制的目的。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家科学技术委员会.《实验动物管理条例》[国家科委令第 2 号][J]. 北京实验动物科学, 1988, 3:1-9.

[2] 中华人民共和国国家科学技术委员会.《实验动物质量管理办法》[国家科委令第 593 号][Z]. 北京: 中华人民共和国国家科学技术委员会, 1997.

[3] 中华人民共和国国务院.《病原微生物实验室生物安全管理条例》[国务院令第 424 号][Z]. 北京: 中华人民共和国国务院, 2004.

[4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB19489-2008, 实验室生物安全通用要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[5] 世界卫生组织. 实验室生物安全手册(第三版)[M]. 日内瓦: 世界卫生组织, 2004.

[6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB19781-2005, 医学实验室安全要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.

[7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB14925-2010, 实验动物环境及设施[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.

[8] 魏强. 动物实验中的生物安全问题[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(6): 75-78.

[收稿日期]2019-10-11

(上接第 88 页)

[13] Suh SO, Grosso KM, Carrion ME. Multilocus phylogeny of the *Trichophyton mentagrophytes* species complex and the application of matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for the rapid identification of dermatophytes [J]. Mycologia, 2018, 110(1): 118-130.

[14] Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study [J]. J Bacteriol, 1991, 173(2): 697-703.

[15] 赵琳娜, 张伟, 刘娜, 等. 三种基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱系统对常见微生物鉴定结果的比较 [J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(8): 679-687.

[16] Adhikary S, Nicklas W, Bisgaard M, et al. *Rodentibacter* gen. nov. including *Rodentibacter pneumotropicus* comb. nov., *Rodentibacter heylii* sp. nov., *Rodentibacter myodis* sp. nov., *Rodentibacter ratti* sp. nov., *Rodentibacter heidelbergensis* sp. nov., *Rodentibacter trehalosifermentans* sp. nov., *Rodentibacter rarus* sp. nov., *Rodentibacter mrazii* and two genomospecies [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2017, 67(6): 1793-1806.

[17] 邢进, 岳秉飞, 赵德明. 利用 AFLP 方法研究嗜肺巴斯德杆菌的遗传多态性 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 92-98.

[收稿日期]2019-11-20