



动物实验中的生物安全问题

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】 实验动物用于病原性研究越来越多, 生物安全问题也随之显现出来, 有时还会非常严重。近十年来, 实验动物相关法规、标准不断完善, 加之实验室生物安全标准进一步提高, 为保障动物实验的生物安全, 提供了良好的控制要求。但是, 目前依然存在一些认识上、操作和管理上的问题, 如实验动物和实验用动物的使用要求、动物大小与饲养设备的安全控制、福利要求与生物安全的取舍侧重等方面。本文就以上问题, 进行了分析, 并提出一些观点, 以期良好控制动物实验中的生物安全起到借鉴作用。

【关键词】 动物实验; 生物安全

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 06-0075-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.006.014

Biosafety issues in animal experiments in China

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】 Animal experiments in pathogen studies such as avian influenza viruses are increasing in recent years. Different Animal Biosafety Level (ABSL) facilities have been established completely according to the national standards for biosafety. However, issues of personal protection, experiment management, risk recognition and control, animal care with infectious pathogens, etc. should be strengthened. In this review, suggestions and comments are proposed, and hopefully, are useful for related guideline compilations.

【Key words】 Animal experiment; Laboratory animals; Biosafety

实验动物用于病原性研究越来越多, 生物安全问题应当引起重视。SARS 之后, 生物安全相关法规、标准不断完善, 加之实验室生物安全标准进一步提高, 为保障动物实验的生物安全, 提供了良好的控制要求。但是, 目前依然存在一些认识上、操作和管理上的问题, 如实验动物和实验用动物的使用要求、动物大小与饲养设备的安全控制、福利

要求与生物安全的取舍侧重等。通过问题分析, 提出一些观点, 以期良好控制动物实验中的生物安全起到借鉴作用。

1 实验动物的生物安全特性

“标准化实验动物”是指以科研需要为目的的、人工饲养的有清楚的微生物、寄生虫学背景(即体

[基金项目] 卫计委行业基金: 新时期我国实验室生物安全重要问题及其对策研究(201302006)。

[通讯作者] 魏强(1964-), 男, 研究员, 主要研究方向: 微生物病原学, E-mail: Weiqiang 0430@sohu.com。

内病原微生物,寄生虫的携带\控制状况)和遗传学背景(即品系和品种)的实验动物。“人工饲养”涉及的环境设备因素,“携带微生物”和“遗传背景明确或者来源清楚”涉及的微生物、寄生虫和遗传因素,都会直接影响实验动物质量。

实验动物具有两大特点:一是为人类研究需要被改变,似像非像原种动物,成为“病态异类”;二是由于遗传改变,原有抵抗病原的能力呈现不同程度下降,对病原谱系发生改变,更易得病。实验动物、分泌物、排泄物、样品、器官、尸体等控制、操作不当会变成病原污染的扩大器,造成更大范围传播,因此,了解实验动物生物安全特性,就应该首先要做好思想准备,注重病原防控,防备于未然。

实验用动物由于种类繁多,目前尚无国家相应标准,病原体携带情况十分复杂,特别是有些严重人兽共患病病原宿主性动物严重威胁实验人员和环境的安全,应引起高度重视,制定通用性实验要求。

2 实验动物使用要求和安全保障

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。

普通级动物一般在普通环境或更好环境中繁殖和使用。普通动物由于排除的病原种类较少,主要排除对人体和动物健康造成危害的人兽共患病病原和动物烈性传染病的病原,残留微生物、寄生虫对动物的干扰也较大。考虑到繁育环境不是十分严格,一些危害较大的人兽共患病和动物烈性传染病有些要求必须免疫,达到保护动物和使用者的安全目的,但同时,干扰了动物机体免疫状态,对实验本身,尤其是免疫学、病原学研究可能造成程度不同的影响,因而,国外发达国家已经不使用此类动物。我国由于发展不平衡,完全取消普通动物的使用会造成诸多困难,因而规定,这类动物只适用于教学示范,一般不可用于科研性实验使用。

清洁级实验动物要求在屏障环境中繁殖和使用。清洁动物由于排除了对动物危害大和对科学研究干扰大的主要病原种类,因而,基本上能满足动物实验的要求。清洁级动物一般要求不能通过使用疫苗的方法控制动物病原性疾病,因为疫苗可诱发机体不同程度的免疫反应,影响实验结果,尤其是免疫学实验。理论上讲,清洁级动物要求在屏障环境中繁殖,发生感染的几率非常低。考虑到我

国实际国情,在不能提供充足 SPF 动物使用时,这类动物可被认为是低级别 SPF 动物,在我国作为标准实验动物,可用于科研性实验使用。

无特定病原体级动物(SPF)要求在屏障或隔离环境中繁殖和使用。在很大程度上满足了动物实验的要求。同时要求不能通过使用疫苗的方法控制动物病原性疾病,因而排除了因疫苗诱发的免疫反应而影响实验结果,基本实现了“实验动物应该处于、保持病原不可触及的机体状态”要求。理论上讲,SPF 动物要求在屏障或隔离环境中繁殖,发生病原感染的几率非常低。这类动物是较理想的实验动物,通常作为标准实验动物用于广泛科研使用。

无菌级实验动物体外、体内不存在任何实验室方法可检测到的外源性活性生物体。无菌动物要求在隔离环境中繁殖和使用,空气、饲料、饮水经过严格的消毒灭菌处理维持无菌环境。由于来源困难,目前尚未有用该类动物的系统病原研究应用。

实验用动物的使用原则上应有人兽共患病检测和控制,使用中应视为“生物体危险源”动物,必须加强生物安全防护措施。

3 实验动物病原体检测和检疫

使用的实验动物或实验用动物应经过质量监测,检疫合格,来源明确。动物实验之前应了解拟使用动物可能的携带、感染病原;动物必须排除人兽共患病病原污染,并做好防控。实验室应动态监控实验动物污染或携带微生物状况,及时了解实验动物健康状态,并采取一定综合措施保证实验动物安全。实验动物病原体检测和检疫强调:(1)实验动物饲养必须控制在《实验动物环境及设施标准》要求的饲养条件内,将污染的可能性降到最低;(2)必须按照《实验动物 微生物学等级及监测》和《实验动物 微生物学检测方法》两部分内容进行定期检测监控;(3)应采取相应卫生检疫、生物安全及管理要求对不合格、不健康实验动物进行相应处理,确保使用的实验动物质量合格。

微生物检测标准和指标是实验动物微生物质量控制的依据,具体检测要求及项目,包括动物的外观指标、病原菌指标和病毒指标,同时要求寄生虫检测同步进行。动物健康外观指标是指实验动物可以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。实验动物要求外观必须健康、无异常,实验室检测合格。为确保生物安全,必须使用合格的实验动物用于实验。

实验用动物应参照类似要求或国家现有相关法规、标准等进行检测和检疫,最大限度上限定病原微生物的污染和扩散。

4 实验动物种类、病原种类和防护要求

实验动物体型不同,饲养设施、设备环境及安全控制存在客观差异。小型动物小鼠、大鼠、地鼠和豚鼠等饲养设备如 IVC、隔离器等条件较好,一般易于控制。中型动物兔、犬、猴等受到体型、特性等限制,应尽量做到有效控制。大型动物羊、牛、马等实验用动物尚无国家微生物、寄生虫等检测标准,实验应按相关要求要求进行。

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、二类病原要求在 ABSL-3 或 ABSL-4 高等级实验室中进行。动物饲养应控制在能有效隔离保护的设施或环境内,如 IVC、隔离器、单向流饲养柜、特定实验室等。三类病原感染性动物实验应采用 IVC 或同类饲养设备进行饲养;四类病原应严格控制实验环境,有条件或必要时应采用 IVC 饲养。动物密度不可过高,饮水须经灭菌处理。动物的移动应做到每个环节实行有效防护,避免病原污染环境。

5 动物实验的安全操作和控制

在进行动物实验中,应该重点注意三方面内容:一是正确选择实验动物,对所用动物必须了解其整体概况,特别是微生物携带情况、免疫情况;二是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。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。三是在使用动物进行感染性病原研究时,必须保护好实验人员和周围环境,防止感染和污染。所以要求实验人员必须了解动物实验的原则和要求。

动物实验不同于体外实验,任何对动物带来的不良操作,都会影响实验结果或造成生物危害。要求所有从事实验动物和动物实验的人员,包括临时实验人员,必须经过一定时间的生物安全专业培训,考试合格,并取得上岗证后,才能进行动物实验。动物实验的安全控制要求实验人员应该具有

良好的动物实验的能力,包括动物饲养能力、对动物认知能力、操作能力、信息采集能力、分析能力、关怀能力、设施设备掌握能力和生物安全防护能力。具备了这些能力,才能完成良好的动物实验,同时保证实验中的生物安全。

动物实验不可避免要进行病原感染性实验,也是感染性动物模型制备的基础。比如艾滋病动物模型要用到猴,流感病毒要感染小鼠、雪貂;结核模型动物有小鼠、豚鼠和猴等;肝炎模型动物有树鼩、转基因小鼠、土拨鼠等。做这些感染性实验既要了解病原的危害,也要了解动物感染后的危害,和可能的生物安全风险,操作中要提高控制能力,降低风险。

动物活体检测、外科手术、活体采样、解剖取材等技能更是要求人员能够熟练掌握。必须经过严格培训,才能实际应用。能力,是安全的保证。

6 动物实验的生物安全和福利、伦理审查

动物实验单位应设立生物安全委员会和实验动物使用管理委员会,负责咨询、指导、评估、监督实验室的动物生物安全活动相关事宜以及动物实验活动安全管理。一般实验人员往往注重动物实验本身,不太关注或不够专业懂得动物福利、伦理和生物安全要求。因此,国际上提倡成立动物实验福利、伦理委员会,负责审查动物实验,对每个环节把关。

动物实验福利、伦理审查的基本原则是兼顾动物福利和人员利益,在综合评估动物所受的伤害和使用动物的必要性基础上进行科学审查。涉及动物保护、动物福利、伦理、科学需要、生物安全等各方面内容。遵循动物保护原则,禁止无意义滥养、滥用、滥杀实验动物,制止没有科学意义和社会价值或不必要的动物实验。

动物福利原则强调保证实验动物的权利。伦理原则,既要考虑动物的利益,善待动物,又要保证实验动物项目的科学性。生物安全原则提倡要保证实验人员和环境的安全。

动物实验方案审查的内容应该包括:实验人员是否符合操作要求;设施设备是否符合动物要求;饲料、垫料、饮水是否符合动物要求;动物运输是否符合要求;实验方案是否符合动物福利要求;动物处置是否符合伦理规范;动物处死是否符合安乐死原则;动物尸体处理是否符合无害化环保要求等等

方面。这些方面,都要有生物安全作为保障。

舒适措施(环境丰荣):福利提倡提供必要的玩具,特别是犬、猴。有条件时可以给动物增加音乐和色彩环境,对于中大型实验动物实验会产生较好效果。尽量保证恒温恒湿、通风换气、噪声、光照度等的合理,同时,设置必要的活动场地。但这些要求,增加了生物污染的范围,应该注意玩具等的消毒灭菌。高等级病原动物实验时,应以生物安全为第一要素,可减少或不提供玩具等。中型以上动物在病原感染实验时,不宜提倡配合性训练,应麻醉后再进行操作。

7 无脊椎动物实验室要求

无脊椎动物由于个体小,活动力强,易于藏匿并携带病原体广泛、难于控制等特点,实验室应能

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。应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。特别是从事节肢动物(尤其是可飞行、快爬或跳跃的昆虫)的实验活动,应采取的主要措施包括:配备适用的捕虫器、灭虫剂和喷雾式杀虫装置。安装防节肢动物逃逸的纱网;设制冷温装置可以通过减低温度及时降低动物的活动能力;配备适用于放置装裱、螨容器的油碟;具备操作已感染或潜在感染的节肢动物的低温盘等一系列措施,防止动物失控。应配备消毒、灭菌设备和技术,能对所有实验后废弃动物、尸体、废物进行彻底消毒、灭菌处理;人员应根据动物种类危害和病原危害,以及风险评估结果采取相应防护水平。

简 讯

《中国实验动物学报》继续获得“中国科协精品科技期刊工程项目”资助

《中国实验动物学报》获得 2015 ~ 2017 年“中国科协精品科技期刊工程 - 学术质量提升项目”资助,这是本刊继 2013 ~ 2014 年“中国科协精品科技期刊工程”之后第 2 次获得该项目资助。

“精品科技期刊工程项目”由中国科协组织,目的是提升中国科协科技期刊的学术影响力和核心竞争力,发挥示范引领作用,更好地服务科技创新和广大科技工作者,发挥科技期刊在创新驱动发展战略中的重要支撑作用。2015 ~ 2017 年为中国科协精品科技期刊工程项目第 4 期。

《中国实验动物学报》是由中国科学技术协会主管,中国实验动物学会、中国医学科学院医学实验动物研究所主办的国家级学术刊物。是我国医学实验动物科学领域唯一的学报级期刊。本刊创刊于 1993 年,创刊以来,及时地反映了我国实验动物科学领域的重要研究成果,为本学科发展发挥了积极的作用。设有研究论著、研究快报、综述、进展、平台建设等栏目。

主要刊载有关实验动物和动物实验的理论专著、科研成果论文、科学实验新方法、新材料、实验动物新资源开发、新的动物品系的培育和应用以及与实验动物有关的其他学科的科学论述。

本刊获得的“精品科技期刊工程项目”资助,将进一步促进期刊的传播与发展,并推动本刊对生物医药的支持作用,对于提高公众对实验动物的认知、增强实验动物福利、促进我国实验动物技术的发展,向世界展示我国实验动物科学的创新研究,都具有重要意义!