

林凯丽,刘梅轩,麻昊然,等. 动物生物安全三级实验室应急管理经验交流 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(9): 76-79.

Lin KL, Liu MX, Ma HR, et al. The emergency management experience of animal biosafety level 3 laboratory [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(9): 76-79.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.09.014

动物生物安全三级实验室应急管理经验交流

林凯丽,刘梅轩,麻昊然,潘思丹,乔红伟,高虹*

(中国医学科学院医学实验动物研究所,北京 100021)

【摘要】 ABSL-3 实验室是国家应对新发再发传染病的生物安全体系基础支撑平台,是研究新型冠状病毒生物学特性、预防和治疗手段的重要硬件基础。新型冠状病毒的应急工作中,在人类对病毒有限认知的前提下,系统、规范化的生物安全管理措施是生物安全三级实验室高效、有序运行的重要保障,是规避和降低实验室意外事故发生的 key 要素。本文就动物生物安全三级实验室内紧急开展新型冠状病毒动物实验活动的生物安全管理展开讨论,旨在为相关实验室的应急管理工作提供思路。

【关键词】 新型冠状病毒;动物生物安全三级实验室;应急管理

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 09-0076-04

The emergency management experience of animal biosafety level 3 laboratory

LIN Kaili, LIU Meixuan, MA Haoran, PAN Sidan, QIAO Hongwei, GAO Hong*

(Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China)

【Abstract】 The Animal biosafety level 3 laboratory is a basic support platform of the national biosecurity system for responding to emerging and re-emerging communicable disease. It is also an important hardware foundation for studying the biological characteristics, prevention, and therapeutic tools of the novel 2019 coronavirus. In the emergency operation associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the development of knowledge of the virus, systematic and standardized biosafety management measures are essential for the efficient and orderly operation of the Biosafety Laboratory, and are critical in preventing the occurrence of accidents in the laboratory. This article discusses the biosafety management of the urgent development of SARS-CoV-2 experimental activities in the Animal biosafety level 3 laboratory, and aims to provide ideas for emergency management of related laboratories.

【Keywords】 SARS-CoV-2; Animal biosafety level 3 laboratory; emergency management

目前,新型冠状病毒肺炎(COVID-19)在全球呈现爆发式流行,截止2020年7月初,全球已经有196个国家出现COVID-19病例,累计确诊病例达到1163万人。在COVID-19暴发初期,对新型冠状病毒(SARS-CoV-2)的生物学特性、流行病学特征、致病性、COVID-19临床表现等尚不明确,预防和治疗

手段也亟待解决,为加强对SARS-CoV-2的认识,有效开发特异性诊断试剂,系统的评价机体的免疫网络及组织病变,为临床诊断、预防与治疗、疫苗与药物的筛选提供详细的参考资料,开展病毒分离和动物感染实验迫在眉睫。根据目前所掌握的基本信息,该病原暂按照病原微生物危害程度分类第二类

【基金项目】“十三五”国家科技重大专项课题(2018ZX10734401-011)。

【作者简介】林凯丽(1989—),女,博士研究生。E-mail:linkl@cmilas.org

【通信作者】高虹(1968—),女,研究员,研究方向:实验动物。E-mail:gaohongdws@aliyun.com

病原微生物进行管理,病毒培养和动物感染实验均应当在生物安全三级实验室内操作^[1]。

为应对新发再发传染病、防范生物恐怖袭击、防御生物武器攻击,我国已经规划并建成一批高等级生物安全实验室,作为国家生物安全体系的基础支撑平台,为人口健康与动物卫生领域开展科研、生产和服务提供重要保障条件^[2]。在对 SARS-CoV-2 有限认知的前提下,如何迅速、高效、有序的开展 SARS-CoV-2 应急实验活动,最大程度的控制潜在风险,保护实验人员健康与安全,保障实验室正常运转,除了硬件设施外,规范化的管理措施也是生物安全三级实验室安全运行的重要保障。

1 生物安全管理措施

系统、规范化的管理措施是生物安全三级实验室高效、有序运行的重要保障,是降低实验室意外事故发生的关键要素。开展实验活动前,实验人员应充分了解实验室活动涉及的任何危险,由于人类对 SARS-CoV-2 的有限认知,无法对其进行充分的风险评估,因此管理部门应采取恰当的管理措施,并为实验人员提供如何在风险最小情况下进行工作的详细指导^[3],包括人员管理、活动管理、设施设备管理、消毒灭菌及意外事故处理等。

1.1 人员管理

在 SARS-CoV-2 应急研究工作中,人员管理是保证实验室安全、有效运行的关键环节。开展实验活动前,首先应成立法人负责的应急团队,包括技术负责人、安全管理人员和项目负责人在内,落实组织管理责任,密切追踪疫情的发展情况,完善风险评估、制定研究方案、分析研究结果、协调应急物资、调拨实验人员,还要密切关注实验人员的工作状态,及时做好人员的心理疏导和技术培训。

项目组成员最好具有动物生物安全三级实验室研究背景,熟练掌握病毒培养、动物饲养和感染的基本操作程序,充分了解实验动物的习性,降低抓伤咬伤、动物逃逸等风险,必要时可佩戴防抓咬手套。非人灵长类是研究 SARS-CoV-2 理想的实验动物之一,由于其体格较大、生理结构复杂,芯片植入、肺泡灌洗、动物解剖等操作对实验人员的技术造成极大的挑战,因此要求实验人员具有扎实的操作基础。其次,加强人员持续培训,不仅能够巩固人员的实验基础,还能够提高警惕性、加强风险意

识,培训重点不仅要包括人员防护、实验室风险、意外事故处理、废弃物的处置、清场消毒和紧急撤离等方面,还要阶段性总结实验室内基本情况,及时反思前期出现的问题。再次,管理人员要关注人员的身体健康和心理健康,通过交流与实验人员建立良好的互信关系,充分了解实验人员所承受得工作压力和生活压力,使其避免受到任何不利于其工作质量的压力或影响。

在应急工作中,往往时间紧、任务重,多个核心实验室同时开展试验活动,应有制度明确规定不同核心实验室的研究人员退出时间需错开半小时以上,以使公共区域得到充分自净。由于疾病流行初期,对 COVID-19 缺乏有效的预防和治疗方案,因此实验活动前,人员要留取本底血清;实验过程中,阶段性采集咽拭子检测核酸,如发生意外事故,一旦检测结果呈阳性或出现与 SARS-CoV-2 有关的临床症状时,应立即上报、隔离、就诊。

1.2 实验活动管理

SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 相似性达到 79.6%,通过细胞膜表面 ACE2 受体进入细胞^[4],我国暂时按照第二类病原微生物管理。值得注意的是,《SARS-CoV-2 实验室生物安全指南》中明确指出未经培养的感染性材料操作可在生物安全二级实验室中操作,同时采用三级实验室的个人防护^[1],因此实验室应急管理可参考 SARS-CoV,遵循“防护加强、程序减少”的基本原则。

SARS-CoV-2 主要传播途径是呼吸道飞沫和接触传播,不排除气溶胶、消化道和结膜感染等传播途径,因此除生物安全三级实验室基本的防护外,实验人员必须佩戴一次性 N95 医用防护口罩、护目镜或者一次性面罩,佩戴 N95 口罩可能存在边缘漏气的情况,因此每次佩戴时需要进行简易的吹气检验,根据操作者鼻部尺寸自行调整防护口罩的鼻金属夹,吹一口气,感觉口罩边缘是否漏气,保证呼出和吸入气体确实通过口罩过滤。实验人员每年需要进行 N95 口罩的个体适配性检测,应同时适配两款以上的口罩,当长时间开展实验活动时可交替使用,避免人员脸部压痕难以恢复的情况。在实际使用过程中,护目镜不仅容易起雾,而且反复消毒会导致镜片模糊,影响人员操作安全和舒适性,因此推荐佩戴一次性防护面罩。当实验人员进行非人灵长类动物解剖实验时,可能存在因动物咳嗽或排

泄形成的大量气溶胶或喷溅现象,实验人员可以佩戴半身电送风正压防护装置,外穿一次性手术反穿衣,方便污染后随时更换。

应急工作期间,实验室仍然要按管理要求执行实验活动申请、审批制度,管理部门严格审查风险评估和标准操作程序、人员资质、病原种类、动物种类和实验活动内容,鉴于实验活动较多,同一项目可提交一个较长周期的实验室使用申请,减少项目组的申请压力,但是每次进动物前,项目组均需要提交经过实验动物管理委员会(IACUC)批准的动物使用申请,确保管理部门掌握实验活动进展和动物饲养情况,合理安排饲养笼位,协调各项目组实验时间。实验活动中,病毒培养要严格控制单次的操作数量,建议少量多次,缩短操作时间,生物安全柜内从左到右依次分为洁净区、工作区和污物区,不能遮挡排风口以免影响气流或引发设备报警。动物感染实验可以根据单次感染动物的数量,增加进入人数,比如平时进入 2 个人操作 3 h 左右,应急期间可同时进入 3~4 个人缩短操作时间,或者轮流操作,降低因人员疲倦发生意外的概率,每次进入时间严格控制在 4 h 以内。为了减少人员在实验室内的停留时间,实验前要制定完整的方案,包括给药剂量、感染剂量和给药途径等,做好充分的实验准备;实验过程中,除病理解剖、动物临床观察等必须现场完成的记录外,仪器设备记录、感染性材料记录等可在离开实验室后补齐。

1.3 设施设备管理

设施设备是开展 SARS-CoV-2 实验活动的基础保障,在实验室正常运转的情况下,开关门、局部排风设备的启停以及房间温湿度的变化等因素均能够引起房间的压力波动,在满足现有生物安全实验室建筑技术规范和设备生物安全性能评价技术规范的前提下,可根据实际情况提高设施运行的参数,以增强实验室对压力波动的抗干扰能力,如增大房间换气次数,增加实验室换气次数到每小时 15 次或每小时 20 次,通过增大换气次数提高房间净化能力。

病毒培养、动物观察和解剖等常用设备是生物安全柜和负压解剖台,选用 II 级 A 型以上级别生物安全柜,部分生物安全柜可通过调节送排风按钮增大系统送排风量,在生物安全柜内的工作开始前和结束后,增加风机运行时间至 10 min,保证工作前气

流稳定和工作结束后安全柜内空气的净化程度,工作结束后,增加紫外灯照射时间。由于非人灵长类体格较大、呼吸量较大,感染后呼出气体能够产生气溶胶,建议使用生物安全型饲养设备,可增加设备换气次数,降低实验人员饲养过程中的暴露风险。

1.4 清场消毒

实验室清场消毒是保护实验人员、实验环境和外部环境的重要环节。所有移出实验室的物品都需要经过消毒处理,注明废弃物类别、处理时间、处理人员等基本信息,放到专门设计的、专用的和有标识的危险废物处置容器中^[1],集中回收后按照要求处理。高压蒸汽灭菌是生物安全实验室消毒灭菌的首选方法,适用于实验室内产生的废弃物、动物尸体、垫料等,对于不能高压的物品,比如仪器设备、动物标本等使用化学消毒法。

由于 SARS-CoV-2 传染性强、生物学特性尚不明确,建议在实验活动操作中增加消毒频次,延长消毒剂作用时间,有效氯含量为 0.55% 的含氯消毒剂是新型冠状病毒的首选消毒剂^[5]。在操作感染性材料或动物解剖实验活动前,需要在操作台面铺一次性吸水垫,表面喷洒不易挥发的消毒剂,一旦发生感染性材料的滴落,能够被迅速吸附消毒。实验过程中,操作人员切勿将手频繁移出生物安全柜,操作结束后对手部进行消毒,更换外层手套后,才能移出生物安全柜。

甲醛熏蒸是目前公认的能够杀死所有微生物的消毒方法,由于其极大的刺激性和致癌风险以及对设施设备的损害,一般情况下不推荐使用,但是当实验室设备故障出现压力逆转等现象,有潜在泄露风险时,应该立即终止实验,封闭实验室,在室温不低于 21℃、相对湿度 70% 的条件下使用甲醛(40%) 10 mL/m³ 熏蒸 4 h 以上,作用时间需达到 8 h 以上^[1],保障实验人员、实验环境和外界环境的安全。

1.5 意外事故的预防与处理

在 ABSL-3 实验室内从事动物实验活动时,潜在的意外事故包括动物实验器材扎伤,动物抓伤、咬伤,感染性物质溢洒,动物逃逸,个人防护装备污染等,因此实验室应制定恰当的预防措施和处置方案。比如为了避免人员扎伤,注射器排空时禁止盖帽,可以在针头上扎一个酒精棉球,吸附排空过程产生的气溶胶;为了避免动物抓伤、咬伤,抓取动物

时需佩戴防抓咬手套或者在动物麻醉状态下进行操作;为防止感染性物质溢洒而引起实验室污染,核心间应配备溢洒工具箱(内含毛巾、消毒剂、镊子、量杯、禁止进入的标识等),实验人员进入核心间后应配置消毒液,将毛巾浸泡在里面,一旦发生感染性物质溢洒,立即用浸有消毒液的毛巾覆盖,消毒防护装备表面后打开紫外灯离开实验室,待核心间充分自净后再返回处理;为了防止动物逃逸,核心间应配备捕捉桶和捕捉网,分别用于捕捉啮齿类动物和体型较大的动物,啮齿类动物跌落至地面时会有 3 秒钟左右的反应延迟,实验人员应充分利用该机会进行捕捉。

2 结语

在全国爆发 COVID-19 疫情的时期,生物安全三级实验室为人类认识病毒、有效开发诊断试剂、系统评价机体的免疫网络及组织病变等方面提供了重要的硬件设施保障条件。但是再好的硬件设施保障、再完美的防护条件,在实际操作层面上是无法取代人员自身的素质和责任心,完善的管理措施能够有效地预防实验室生物安全事故的发生,是实验室安全、稳定、有效运行的重要保障。因此,我

们需要不断完善应急措施,从实验人员、实验活动、设施设备、清场消毒和意外事故的预防与处理等几个方面加强实验室管理,保障实验室安全、稳定、有效的运行,为早日战胜疫情贡献自己的力量。

参考文献:

- [1] 国家卫生健康委办公厅.《新型冠状病毒实验室生物安全指南(第二版)》[EB/OL]. 北京:国家卫生健康委办公厅, [2020-1-23]. <http://www.nhc.gov.cn/qjjys/s7948/202001/0909555408d842a58828611dde2e6a26.shtml>.
- [2] 国家发展改革委员会,科技部.《高级别生物安全实验室体系建设规划(2016-2025)》[EB/OL]. 北京:国家发展改革委员会,科技部, [2016-11-30]. http://www.most.gov.cn/xxgk/xinxifenlei/fdzdkgknr/fzgc/gfxwj/gfxwj2016/201701/t20170111_130416.html.
- [3] 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.《实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008)[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [4] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273.
- [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.

[收稿日期]2020-07-07