

陈沫,陶佳颐,王宏旭,等. 医药学实验室潜在的生物安全风险与防范措施 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(4): 109-113.
Chen M, Tao JY, Wang HX, et al. Risks of biosafety and prevention strategies in medical and pharmaceutical research laboratories [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(4): 109-113.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.04.013

医药学实验室潜在的生物安全风险与防范措施

陈沫,陶佳颐,王宏旭,张庆建*

(中国医学科学院药物研究所,条件设备处,北京 100050)

【摘要】医药学研究实验室涉及的研究领域十分宽泛,实验中应用的多种材料包括动物、微生物及纳米颗粒等,所产生的废弃物也日益增多,存在着一定的生物安全隐患。本文概述了基因扩增、基因重组、病原微生物研究、纳米研究、动物实验、基因编辑动物及实验废弃物等的潜在安全风险,提出了从制定严格的规章制度和完善的硬件设施、加强教育培训、增强安全防范意识为主导的实验室生物安全风险防范措施。

【关键词】医药学研究实验室;生物安全;安全管理

【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856 (2024) 04-0109-05

Risks of biosafety and prevention strategies in medical and pharmaceutical research laboratories

CHEN Mo, TAO Jiayi, WANG Hongxu, ZHANG Qingjian*

(Equipment Purchase Department, Institute of Materia Medica Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100050, China)

【Abstract】Medical and pharmaceutical research laboratories encompass a wide range of study areas. They utilize diverse materials ranging from animals and microorganisms to nanoparticles and other substances. However, as laboratory waste increases, more biosafety risks are created. In this context, we outlined the safety risks associated with gene amplification, gene recombination, research involving pathogenic microorganisms, nanotechnology, animal experiments, genetically modified animals, and experimental waste. Additionally, we here in propose preventive measures to mitigate laboratory biosafety risks. These measures primarily involve the development of strict legal frameworks, improvement of hardware infrastructure, strengthening of safety awareness, and enhancement of education and training programs.

【Keywords】medical and pharmaceutical research laboratory; biosafety; safety management

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

医学和药学研究实验室是疾病发生原因、发生机制、治疗药物及预防制剂研究的基本载体,是疾病防治不可或缺的基础和重要保障条件,但也涉及诸多生物安全问题。长期以来,国内外医学和药学研究室生物安全事件时有发生,从实验者被动物咬伤、抓伤到实验室工作人员的感染、有害物及病原

微生物泄漏,给科研工作者和环境造成威胁。因此,全面梳理医学和药学研究实验室潜在的生物安全风险因素,制定合理、可靠的实验室生物安全防范措施,对提高科研人员的生物安全防范意识,维护实验人员身体健康和保护环境具有非常重要的意义。

1 实验室潜在生物安全风险

1.1 PCR 基因扩增潜在安全风险

PCR 基因扩增是医药学研究中常用的实验技术,广泛应用于病原检测、疾病诊断、基因型鉴定等。但 PCR 扩增过程中易造成核酸污染和病原微生物扩散,主要原因是操作不当,如加样中加样器枪头随意丢弃、样品倒流加样器、样本污染实验台面、操作中产生气溶胶、消毒灭菌不确实等。调查显示,有 40% 以上的 PCR 实验室存在生物安全风险^[1]。这不但能导致人员感染,而且产生环境污染。

1.2 基因重组潜在安全风险

重组基因是用人工的方法将不同物种同源染色体或具有相似序列的两个 DNA 分子之间的序列交换,是控制不同性状基因的重新组合,从而改变宿主遗传特性,创造新品种系或新的生物材料。基因重组存在的生物安全风险主要可能发生在用于重组细菌的 DNA 分子可能会与其他细菌的 DNA 发生重组,使受到“基因污染的细菌”的生物学特性发生改变,可能产生致病性或耐药性。此外,将人类的有害基因片段重组质粒操作中,可能会在人类或其他物种中传播,从而增加患病的风险^[2-3]。重组微生物还存在微生物毒力增强、抗逆性改变、病毒休眠激活、免疫逃逸、病毒跨物种传播、改变病毒的宿主细胞、增加病毒的复制能力及改变细胞周期等风险^[4]。

1.3 病原微生物研究潜在安全风险

依据病原微生物感染后对个体或者群体的危害程度及微生物的传染性特征,国家卫健委 2006 年发布了《人间传染的病原微生物名录》,规定了不同病原体危害程度分类,对微生物操作所需生物安全实验室级别、菌种毒性及感染性样本的包装运输等提出了相应的要求。生物安全实验室是防止病原微生物对实验人员感染和病原体逃逸的必要设施,生物安全实验室分为 1~4 级,不同生物安全级别的实验室对设施设备、个人防护措施、涉及的微生物种类及 SOP 都做了详细规定^[5],有效避免了病原微生物的泄漏和感染危害。但除了《人间传染的病原微生物名录》规定的微生物研究外,医学、生物学及药物研究实验室往往通过改造或合成微生物进行研究,给人类和环境带来了潜在生物安全问题。

1.3.1 细菌研究潜在安全风险

工程菌是将高效表达的基因通过基因重组技

术或构建质粒的方法转移到细菌中(多为大肠杆菌),通过细菌繁殖扩增表达出所需蛋白或分子^[6-7]。但在构建工程细菌时,可能会使细菌改变生物学特性,表现为侵袭性和感染性增强,出现致病性、耐药性和抗逆性改变等^[8-9]。进行基因操作可改变细菌致病谱,且因其基因组相对稳定可在环境中长期存在。另外,工程菌泄漏到环境中极易通过基因交流将基因转移给野生菌,对生态系统产生潜在威胁。酵母是发酵工业的常用微生物,人们通过合成生物学技术方法,构建了高效表达系统^[10]。研究表明一些改造的工业酿酒酵母菌具有潜在的致病风险,表现出侵袭性生长、激活固有免疫应答等^[11]。

1.3.2 病毒研究潜在安全风险

现代医学生物学研究常常通过 DNA 重组技术来开发基因工程疫苗或进行病毒学研究,但在病毒重组过程中会出现意想不到的新的病毒株,出现病毒的跨物种传播、致病力增强、免疫耐受、毒力改变等,使风险较低的普通病毒安全风险增加^[12-13]。病毒属于较低等的生物,在病毒复制过程中极易出错,其基因组的胞内复制,常常发生基因突变而产生新的病毒毒株,使重组病毒的子代存在潜在的安全风险。

1.3.3 寄生虫研究潜在安全风险

《人间传染的病原微生物目录》中未纳入寄生虫病原,医药学和生物学的有关寄生虫病原实验多数在普通实验室或生物安全 1 级实验室开展,使寄生虫病原感染相关研究存在风险。寄生虫病原实验感染大多由污染的利器刺伤、割伤等引发^[14],也可能误食或感染样本意外溅入眼睛或被实验动物咬伤而发生获得性感染。

1.4 纳米研究的潜在安全风险

随着纳米科技的飞速发展,纳米材料和技术广泛应用于药物开发研究。纳米材料是粒径<10 nm 的晶体或非晶体材料,具有特殊的物理、化学性质。由于纳米颗粒微小,在纳米材料操作实验中工作人员可能会通过皮肤和呼吸道进入体内的血液循环系统和肺,甚至进入中枢神经系统,因而产生潜在危害。纳米颗粒进入机体的主要途径是呼吸道,经呼吸道进入肺组织,引起炎症反应导致肺损伤^[15-16]。研究发现纳米颗粒物使肺泡巨噬细胞吞噬能力降低,从而加重肺部炎症的症状^[15]。研究显示空气中纳米颗粒物浓度升高与心脏病的发病率

呈正相关^[17], 纳米颗粒物是心血管疾病发病率和死亡率升高的重要因素^[18]。

1.5 动物实验的潜在安全风险

动物实验是开展医学研究的重要手段, 通过动物实验人们不但了解了诸多生命现象, 获取了重大理论知识, 也取得了疾病发生发展机制研究和疫苗及药物开发的巨大突破。为人类诠释自我和维护健康发挥了重大作用。但动物实验也存在如下安全风险。

1.5.1 意外伤害

在实验动物饲养和动物实验过程中, 由于抓取、保定、操作不当或麻醉不确实易造成被动物咬伤、抓伤, 被注射器等利器刺伤、药物接触眼结膜引起伤害等, 是动物实验中经常发生的安全事件。

1.5.2 动物感染人

虽然病原微生物动物实验国家明文规定了在相应的生物安全实验室内操作, 但动物感染实验由于控制难度大, 不确定因素多而常常有实验人员感染或泄漏事故发生。尤其一些生物安全控制级别较低的微生物(如幽门螺杆菌、沙门氏菌、寄生虫等)动物感染实验常常不被重视, 甚至有的在普通实验室内饲养感染动物。动物通过含微生物的气溶胶、唾液、血液、排泄物感染人或污染环境^[19]。有些实验者将未经处理的动物样品带回实验室进行病原分离等实验, 存在较大风险。

1.6 基因编辑动物潜在安全风险

随着基因编辑技术的飞速发展, 尤其是 CRISPR/Cas9 技术的应用, 大大降低了基因编辑动物模型制备的门槛, 使基因编辑小鼠的品种呈爆发式增多。目前, 基因编辑小鼠已成为医学生物学研究和新药开发不可或缺的实验动物模型材料, 应用领域十分广泛^[20]。但基因编辑小鼠亦存在较大的生物安全风险, 如通过基因编辑技术构建的 hACE2 转基因小鼠对不易感新冠病毒的小鼠变得易感, 以此动物模型研究新型冠状病毒的感染机制、疫苗开发和治疗^[21]。收到巨大成效但模型小鼠感染新冠病毒如果操作不当可能会对工作人员产生安全风险。在自然界中, 不同物种的基因组相对独立, 一般很难跨界交换遗传物质, 这是生态稳定的基础, 而基因编辑却打破了这种自然规律, 可以随人所愿在不同物种间进行基因转移, 这不但有破坏生态环境的风险, 而且一旦基因编辑动物逃逸可能会通过与野生近缘动物杂交造成物种改变, 危害正常的生

态系统, 甚至导致某些疾病跨物种传播, 给人类带来灾难性的后果。

1.7 实验废弃物的潜在安全风险

医学和药学会产生不同种类的实验废弃物, 包括用过的刀片、注射针等锐器, 与病原微生物操作有关的实验废弃物, 以及构建的基因重组质粒、工程化细胞、病理组织样本、实验动物尸体和组织等废弃物。这些废弃物须分类按规定处理, 否则将给实验室工作人员及环境带来潜在风险。

2 实验室生物安全风险防范措施

2.1 制定严格的规章制度

建立健全实验室安全防范的规章和管理制度是保证实验人员安全和防止生物安全事故发生的基础和前提。存在潜在生物安全的实验室应收集整理国家及地方生物安全管理相关法律法规和文件, 在此基础上针对本实验室的科研领域、可能涉及的潜在危害及环境要求, 依照相关法律法规和要求, 制定具有针对性的各项生物安全管理制度与操作规程^[22]。如《病原生物安全操作规程》、《病原生物实验室生物安全管理规定》、《实验室菌毒种及样本管理规则》、《化学药品和危险品保存使用管理规则》、《实验室锐利物及医疗废物处理规则》、《基因重组安全管理规定》、《基因编辑动物管理规定》等及相应的风险应急预案。这些规章制度和操作规程要根据实验室新开展的研究领域和内容及时更新完善, 存档备案。实验室要指定安全负责人员, 实时检查安全措施落实情况, 发现问题及时纠正。

2.2 完善实验室硬件设施

生物实验室应依据科研需求和相关国家标准建设和验收。生物和医药学研究实验室亦应设立各种警示标识及区域划分, 并完善硬件设施设备。如实验室门口设置外人禁入标牌、危险区域在醒目位置贴有生物危害标识, 设施设备定期检查校准和维护, 确保设施设备运行正常, 尤其注重生物安全柜、通风柜、灭菌器、紫外灯、消毒设备、手消毒装置、洗眼器等防护设施设备, 以及与个人防护级别相关的个人防护用品。禁止在未取得动物实验许可证的实验室饲养实验动物, 动物解剖和采样要在规定的实验室或区域内开展, 感染样品处理和检测要按规定执行, 防止病原体扩散。

2.3 加强教育培训、增强安全防范意识

实验室的安全教育和培训是增强实验人员防

范意识、保障健康和避免生物安全事故与有效处理生物安全风险的必要手段。实验室要制定科学合理的安全控制培训计划,包括国家生物安全有关政策法规、人员健康管理、规范实验操作技术、消毒灭菌设备使用和效果验证、正确选择和使用个人防护用品及设备演练,以及诸如菌液溢洒、动物咬伤、注射针刺伤等应急事件处理演练。对实验室工作人员定期开展实验室安全及生物安全培训,尤其是实验室新增研究领域或项目并涉及有害风险时,应针对性开展安全防范培训。新入职或研究生必须在工作前进行培训,通过考核合格后方可开展工作。对负责实验室安全的人员要定期参加由各类专业机构组织的生物安全培训活动,培训后要在实验室工作会上进行宣贯。对于动物实验操作者,必须经实验动物从业人员岗前培训,并取得实验动物管理机构颁发的“实验动物从业人员上岗证”方可开展动物实验工作。对拟在生物安全实验室开展有害微生物研究的人员,必须接受严格的相关实验室的特殊培训。

2.4 加强信息化建设,提高实验室安全管理水平

实验室应该全部安装监控摄像头,实行全方位无死角监控。监控视频按照相关规定保存足够时长,以便及时发现问题或出现事故时分析原因。医药学实验室最好建立安全培训考核的软件系统和门禁系统,加强对不同身份人员的培训考核和准入授权管理。部分风险较高的医药实验室,例如 P2 及以上级别的实验室,应通过门禁系统禁止未被授权的人员进入。

3 结束语

安全无小事,任何生物学、医学和药学实验室都有潜在的生物安全风险,实验室生物安全管理工作任重道远,应根据国家相关法律法规要求,结合自身实验室实际情况,通过加强实验室软件和硬件建设,不断完善实验室安全管理,针对各个环节,查漏补缺,有效防范和化解安全风险,控制和消除潜在的生物安全隐患,保护人员生命健康及环境安全。

参考文献:

[1] 林梅芬,周明施,周晔,等.温州市基因扩增实验室生物安全风险评估[J].中国公共卫生管理,2023,9(4):580-582,586.
LIN M F, ZHOU M S, ZHOU Y, et al. Biosafety risk assessment analysis of gene amplification laboratory in Wenzhou City [J]. Chin J Public Health Manag, 2023, 9(4): 580-582, 586.

[2] BERG P, BALTIMORE D, BOYER H W, et al. Letter: Potential biohazards of recombinant DNA molecules [J]. Science, 1974, 185(4148): 303.
[3] HUG K. Genetically modified organisms: do the benefits outweigh the risks? [J]. Medicina (Kaunas), 2008, 44(2): 87-99.
[4] 左锟澜,邹诗施,吴宗震,等.病原体相关合成生物学的生物安全风险和应对策略研究[J].中国生物工程杂志,2023,43(9):120-130.
ZUO K L, ZOU S S, WU Z Z, et al. Biosafety risks and countermeasures of pathogen related synthetic biology [J]. China Biotechnol, 2023, 43(9): 120-130.
[5] 蔡启良,蔡霞,瞿涤,等.我国高等级生物安全实验室现状、发展和挑战[J].国家安全研究,2023,37(1):61-76.
CAI Q L, CAI X, QU D, et al. The status quo of and development challenges facing China's high-level biosafety labs [J]. China Secur Stud, 2023, 37(1): 61-76.
[6] ROSANO G L, MORALES E S, CECCARELLI E A. New tools for recombinant protein production in *Escherichia coli*: a 5-year update [J]. Protein Sci, 2019, 28(8): 1412-1422.
[7] SMOLSKAYA S, LOGASHINA Y A, ANDREEV Y A. *Escherichia coli* extract-based cell-free expression system as an alternative for difficult-to-obtain protein biosynthesis [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 928.
[8] 宁峻涛,邹诗施,左锟澜,等.合成生物活性物质的生物安全风险和应对策略研究[J].中国生物工程杂志,2023,43(2):180-189.
NING J T, ZOU S S, ZUO K L, et al. Biosafety risks and countermeasures of active substance in synthesis biology [J]. China Biotechnol, 2023, 43(2): 180-189.
[9] STEINMETZ M, RICHTER R. Plasmids designed to alter the antibiotic resistance expressed by insertion mutations in *Bacillus subtilis*, through *in vivo* recombination [J]. Gene, 1994, 142(1): 79-83.
[10] NIELSEN J. Yeast systems biology: model organism and cell factory [J]. Biotechnol J, 2019, 14(9): e1800421.
[11] ANOOP V, ROTARU S, SHWED P S, et al. Review of current methods for characterizing virulence and pathogenicity potential of industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains towards humans [J]. FEMS Yeast Res, 2015, 15(6): fov057.
[12] 付萌萌,苏丹丹,左锟澜,等.人体免疫相关的合成生物学生物安全风险和应对策略研究[J].中国生物工程杂志,2023,43(6):125-132.
FU M M, SU D D, ZUO K L, et al. Biosafety risks of synthetic biology related to human immunity and the countermeasures [J]. China Biotechnol, 2023, 43(6): 125-132.
[13] VENKATESAN S, ROSENTHAL R, KANU N, et al. Perspective: APOBEC mutagenesis in drug resistance and immune escape in HIV and cancer evolution [J]. Ann Oncol, 2018, 29(3): 563-572.
[14] HERWALDT B L. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures [J]. Clin Microbiol Rev, 2001, 14(4): 659-688.

[15] RENWICK L C, BROWN D, CLOUTER A, et al. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types [J]. Occup Environ Med, 2004, 61(5): 442-447.

[16] NEMMAR A, HOYLAERTS M F, HOET P H, et al. Size effect of intratracheally instilled particles on pulmonary inflammation and vascular thrombosis [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2003, 186(1): 38-45.

[17] PETERS A, DOCKERY D W, MULLER J E, et al. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction [J]. Circulation, 2001, 103(23): 2810-2815.

[18] GOLD D R, LITONJUA A, SCHWARTZ J, et al. Ambient pollution and heart rate variability [J]. Circulation, 2000, 101(11): 1267-1273.

[19] 刘丽艳, 韩艳梅, 李文超, 等. 实验动物潜在生物安全威胁及降低风险的建议 [J]. 实验技术与管理, 2020, 37(2): 264-266, 278.

LIU L Y, HAN Y M, LI W C, et al. Potential biosafety threats of laboratory animals and suggestions for risk reduction [J]. Exp Technol Manag, 2020, 37(2): 264-266, 278.

[20] ITO R, TAKAHASHI T, ITO M. Humanized mouse models: Application to human diseases [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(5): 3723-3728.

[21] SUN J, ZHUANG Z, ZHENG J, et al. Generation of a broadly useful model for COVID-19 pathogenesis, vaccination, and treatment [J]. Cell, 2020, 182(3): 734-743.

[22] 栾一飞, 杨悦, 刘英奎, 等. 中美高校生物学实验室准入安全培训工作比较 [J]. 中国高等医学教育, 2021, 35(2): 129-130.

LUAN Y F, YANG Y, LIU Y K, et al. Comparison of safety training for admission of biological laboratories in Chinese and American universities [J]. China High Med Educ, 2021, 35(2): 129-130.

[收稿日期] 2024-03-18

编者·读者·作者

勘误声明

本刊对下述论文进行勘误：

出版信息	2024 年 34 卷 2 期,页码为 161-166
论文标题	环状 RNA 在帕金森病中作用机制研究进展
稿次	☐ 录用定稿 ☐ 排版定稿 ☐ 整期定稿 ☒ 印刷版 ☐ 其它
作者	刘娟,李彦杰,秦合伟,马璐瑶,赵楠楠,徐振华
DOI	10. 3969/ j. issn. 1671-7856 2024 02 020
勘误内容	文中标题 1.5 中 circip2、circcip-2 和 circip-2 改为 circzip-2 原为:Kumar 等^[7]发现在 PD 的转基因秀丽隐杆线虫 NL5901 模型中 circip2 的表达显著下调,在检测到的 11 个分子中,miR-60-3p 是唯一一个确认有 mRNA 靶标的 miRNA,结果表明 circip-2、miR-60-3p 和 α-syn 之间可能存在联系。进一步的分析显示, circip-2 可能作为 miR-60-3p 的海绵,抑制 FOXO 通路的 mRNA,进而对 PD 和衰老的发展具有保护作用。 更改为:Kumar 等^[7]发现在 PD 的转基因秀丽隐杆线虫 NL5901 模型中 circzip-2 的表达显著下调,在检测到的 11 个分子中,miR-60-3p 是唯一一个确认有 mRNA 靶标的 miRNA,结果表明 circzip-2、miR-60-3p 和 α-syn 之间可能存在联系。进一步的分析显示, circzip-2 可能作为 miR-60-3p 的海绵,抑制 FOXO 通路的 mRNA,进而对 PD 和衰老的发展具有保护作用。
其他说明	

特此告知并诚挚地向读者致歉。

《中国比较医学杂志》编辑部

日期:2024 年 4 月 7 日