

兽医在高等级生物安全动物实验室活动中的作用

高家红, 龙海亭, 董荫良, 匡德宣*

中国医学科学院/北京协和医学院医学生物学研究所, 云南 昆明

收稿日期: 2023年1月9日; 录用日期: 2023年3月5日; 发布日期: 2023年3月14日

摘要

随着急性呼吸道综合症、中东呼吸综合征、西尼罗病毒、埃博拉病毒、猴痘、禽流感、新冠病毒肺炎等疾病从地域性流行演变为全球范围内暴发和流行, 形成了传染性极强及危害性极大的烈性传染病。高等级生物安全动物实验室成了开展高危险度烈性病原体研究必需的技术平台, 其中兽医在高等级生物安全动物实验室活动及生物安全评价与管理工作中的角色和作用日益重要。本文结合高等级生物安全动物实验室的工作内容、实验活动风险及责任目标, 从动物实验设计、动物实验操作技术推广与运用、实验动物福利伦理监督与管理、生物安全控制、人畜共患病防控等方面, 阐述了新形势下兽医在高等级生物安全动物实验室中的作用。

关键词

兽医, 高等级生物安全实验室, 动物实验, 生物安全

The Role of Veterinarians in High-Level Biosafety Animal Laboratory Activities

Jiahong Gao, Haiting Long, Yinliang Dong, Dexuan Kuang*

Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Institute of Medical Biology, Kunming Yunnan

Received: Jan. 9th, 2023; accepted: Mar. 5th, 2023; published: Mar. 14th, 2023

Abstract

With the development of acute respiratory syndrome, Middle East respiratory syndrome, West

*通讯作者。

Nile virus, Ebola virus, monkeypox, avian influenza, COVID-19 pneumonia and other diseases from regional epidemics to global outbreaks and epidemics, a severe infectious disease with strong infectivity and great harm has been formed. The high-level biosafety animal laboratory has become a necessary technical platform for carrying out research on highly dangerous virulent pathogens, among which the role of veterinarians in high-level biosafety animal laboratory activities and biosafety evaluation and management are increasingly important. Combined with the work content, experimental activity risks and responsibility objectives of the high-level biosafety animal laboratory, this paper expounds the role of veterinarians in the high-level biosafety animal laboratory under the new situation from the aspects of animal experiment design, animal experiment operation technology promotion and application, laboratory animal welfare ethics supervision and management, biosafety control, prevention and control of zoonosis.

Keywords

Veterinary, High Level Biosafety Laboratory, Animal Experiment, Biosafety

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

动物高等级生物安全实验室(Animal High Level Biosafety Laboratory, ABSL)是指生物安全防护级别为三级和四级的动物生物安全实验室(简称 ABSL-3/ABSL-4 实验室) [1]。ABSL-3/ABSL-4 实验室主要工作内容包括高危险度烈性病原体流行病学调查与溯源, 新发突发传染病动物模型建立, 诊断试剂和疫苗及药物研发生产, 安全防护设施设备研究和评价以及未知病原微生物研究检测等, 并将物种间的生物相似性和差异联系起来并加以利用, 更好地去理解人类和动物疾病发生机制, 并寻找预防和治疗方式[2]。兽医在 ABSL-3/ABSL-4 实验室动物实验活动过程中的每一个环节都发挥着重要和不可替代的作用, 主要涉及啮齿类、比格犬、小型猪、非人灵长类及牛羊大型动物等实验动物, 具体内容包括动物实验设计、动物实验技术推广与运用、维护和监管动物福利和伦理审查、实验室生物安全以及人畜共患病防控等[3]。在动物实验实践过程中往往发现管理责任和兽医或实验动物医师技术路径责任不清, 缺乏兽医或实验动物医师强有力的专业支持, 很难做到精准管理和实现风险控制的目的。一般而言, 兽医在 ABSL-3/ABSL-4 实验室动物实验活动中的作用主要表现在如下几个方面。

2. 兽医参与动物实验方案设计制定

在 ABSL-3/ABSL-4 实验室开展高危险度烈性病原体疾病动物模型的建立及相关研究, 存在严重感染性、职业暴露及公共生物安全风险隐患, 必须设计制定严密、完整、科学的动物实验方案。兽医作为实验动物医学专家, 对动物的习性和生物学特性有着深刻了解, 在动物实验准备工作中必须由兽医人员制定出一套完善的实验动物饲养管理和使用相关的标准作业程序和管理制度等, 如实验方案的审阅和批准程序、行为学管理、设施检查、疼痛分级、动物福利问题的处理, 安乐死方法的推荐都是需要反复揣摩的。兽医人员在标准作业程序的撰写、修订和执行过程中起到了非常重要的作用, 可为研究人员提供许多有关动物实验的建议和咨询, 包括动物模型及替代方法选择、麻醉和镇痛技术优化、解剖学、生理学、营养学、相关技术和方法、动物实验仁慈终点以及安乐死、环境设施设计和优化等。

3. 兽医负责动物实验活动技术推广与运用

3.1. 兽医参与动物接收和进入实验室

在动物接收和进入 ABSL-3/ABSL-4 实验室过程中, 兽医承担着十分重要的职责, 对实验动物可能产生的疾病和带来的损失有着清晰的认识, 能对动物生物安全风险做出正确判断和评估, 并制定相应的控制管理方案和有效的防护措施。兽医涉及的主要工作内容包括: 检查动物是否有实验动物合格证, 清点动物数量, 观察临床外观健康状况, 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; 不挑逗动物, 不野蛮对待动物, 尽量避免直接接触动物, 防止动物逃逸、抓伤、咬伤, 避免人为因素给动物带来不必要的痛苦或伤害[4]。组织人员培训, 熟悉操作规程, 监督和纠正实验相关人员不当操作和行为, 降低人员不当操作和行为或其他因素造成交叉感染, 确保弄清每一只非正常死亡的实验动物的死亡原因, 处理好相关病害动物和死亡动物, 如果发现严重问题应当及时上报, 采取妥善有效的防护措施, 并对督促相关实验工作人员进行全面的检查, 防止疾病传播带来的严重危害。

3.2. 兽医负责动物麻醉及病毒接种技术操作

在 ABSL-3/ABSL-4 实验室动物实验麻醉过程中, 感染实验动物时若麻醉用量过大, 容易使动物发生窒息死亡, 麻醉用量过小, 作用时间短, 动物易突然苏醒, 极易导致人员被抓伤、咬伤、动物逃逸, 可能存在病毒气溶胶泄露的风险, 或病毒液飞溅到防护服、手套或操作空间等造成实验室污染的风险, 同时也会造成病毒的滴漏使得接种量不够等情况, 因此必须有兽医参与或指导动物麻醉。在动物实验中兽医根据动物年龄、体重、药物具体作用器官、实验操作时间、药物安全性等因素, 制订麻醉药选取、麻醉诱导、麻醉时间、解救复苏措施以及病毒接种剂量、接种方式等相关的支持性材料。大多数的麻醉药物都是受到严格管制的药物[5], 必须兽医亲自给药观察或做好监督管理, 并根据动物实验过程中动物的表现(呻吟、沉郁)或姿态异常及其它行为学、生理学变化等判定疼痛和痛苦的性质和程度, 及时采取补救措施, 消除实验动物在实验过程中的疼痛和不适感, 利于实验者操作, 确保动物实验顺利进行, 实验结果准确、科学可靠和实验人员安全。

3.3. 兽医指导实验活动中动物饲养观察

感染动物在观察饲养期间, 它们在呼吸、排泄、抓咬、挣扎、逃逸、跳跃时, 在更换垫料、饲料或进行感染接种(特别是鼻腔内接种)时, 会大量产生传播危害性极大的动物性气溶胶。在 ABSL-3/ABSL-4 实验室动物饲养观察过程中存在各种风险: 1) 病毒接种动物后, 病毒在动物体内扩增, 病毒会通过粪便等各种排泄物和分泌物将病毒排出体外, 使整个饲养内环境存在较多病毒, 气溶胶外泄风险较大。2) 动物转运过程中, 笼盒掉落、开裂或打开, 动物饲养笼具密封不严、故障等, 会使笼内感染性气溶胶随空气流动并在实验室广泛扩散, 污染实验环境和人员。3) 病毒在动物体内进行适应性增殖, 可能出现病毒变异, 存在广泛传播的风险。4) 饲养员对动物饲养笼具及动物排泄物等的清理操作不当, 导致病原体对外界环境的污染, 可能造成病毒外泄的风险。5) 饲养过程中, 存在被实验动物(如实验猴)抓伤或主动攻击工作人员的风险。针对上述风险, 兽医必须亲自观察动物, 制定详细的动物饲养管理程序, 对相关工作人员进行相关培训, 考试合格并持证上岗, 熟悉工作中可能涉及的危险以及必要的预防措施, 遵照 ABSL-3/ABSL-4 实验室防护标准进行相应级别的防护, 严格遵守相关设施设备及科研仪器的 SOP 和生物安全操作手册, 饲养剩余饲料、垫料、排泄物等应按规定程序进行高压灭菌处理, 将动物实验风险因素严格限制并化解处理在 ABSL-3/ABSL-4 实验室内, 防止病毒重组或变异带来的风险。

3.4. 兽医在动物抓取及样本采集过程中的作用

在 ABSL-3/ABSL-4 实验室动物实验研究中,经常要抓取动物及采集其血液、组织、器官等样本,进行病原学和病理学检测,存在以下潜在生物危害或风险:抓取保定动物时被动物攻击抓伤、咬伤;实验操作中被手术刀、剪刀、注射器、缝合针、穿刺针和载玻片等锐器划伤刺伤;采样时操作者可能被动物血液、体液和样品污染等。兽医在参与执行动物抓取及样本采集工作中承受着巨大压力和义务责任,必须依据生物安全控制程序要求,制定相关的实验操作规程,并由熟练的兽医人员及相关人员进行严格操作。因此兽医和相关实验人员掌握正确的动物抓取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。

3.5. 兽医在处死动物及剖检取材过程中的作用

在 ABSL-3/ABSL-4 实验室动物处死或安乐死及剖检取材过程中可能存在被注射器刺伤、动物逃逸、咬伤、抓伤实验人员以及动物骨骼或解剖工具刺伤、划伤等风险,需要由兽医或专业的动物操作人员进行,兽医需要根据实验目的提前规划好实验方案设计,主要包括麻醉剂选择、使用剂量、解剖器具、解剖的动物数量、组织取材部位和数量以及病变组织的大体观察、组织大小、固定液的选取、固定时间等。动物解剖人员和取材人员必须是经过培训并在兽医监督下进行相关操作,以保证动物处死及剖检取材科学合理。

4. 兽医负责维护和监管实验活动中动物福利和伦理审查

国际上提倡成立动物实验福利伦理委员会,负责审查动物实验的每个环节。现在凡涉及动物实验的科研论文若要在国际刊物上发表,必须出示由“动物伦理委员会”提供的证明,证明实验研究符合动物福利准则,必须有兽医师审核签字。同样,ABSL-3/ABSL-4 实验室或单位也应设立“生物安全委员会”、“实验动物使用管理委员会”及“实验动物伦理委员会”,委员会成员必须有兽医师参与,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,在使用动物进行实验研究时,给动物带来不必要的痛苦或伤害,使动物活动增加、暴露增大,增加生物安全风险。因此,需要更多训练有素、经验丰富的高级兽医人员参与。兽医涉及动物保护、动物福利、伦理、生物安全、科学实验等方面的监管,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。兽医负责审查的内容包括:实验人员是否符合资格要求;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方面。兽医审查内容必须遵循动物保护、福利及伦理原则,保证实验动物享有舒适、健康、快乐等自然生活状态的五项自由或五项权利,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,确保动物实验科学合理,并兼顾动物福利、伦理及人员利益的基本原则和保障要求。

5. 兽医在动物实验活动生物安全控制中的公共卫生责任

生物安全是指为保护人类和环境而采取的措施或者为降低感染致病因子的风险和后果而实施的所有程序[6]。兽医公共卫生不仅是 ABSL-3/ABSL-4 实验室生物安全控制的一个组成部分,而且在国家公共卫生体系中也起到举足轻重的作用。高等级病原动物实验应以生物安全为第一要素,建立生物安全制度,必须在兽医的监督下按照生物安全原则处理 ABSL-3/ABSL-4 实验室动物实验中产生的动物排泄物、废水、废料、垫料、分泌物、毛发、体液、血液、组织样本、病原气溶胶、尸体以及受污染的相关实验器具、

设施设备、废弃针头、注射器、实验废弃物及其他物品等感染性材料，避免病原微生物流出实验室，并防止遗传修饰微生物外溢，保障操作人员的安全和环境安全。在实验室生物安全防护过程中兽医是主要执行者，担任着各种角色或义务，需要充分识别各种感染性材料可能产生的风险，必须严格进行消毒灭菌处置。同时兽医有责任对参与实验活动的相关人员进行兽医安全风险培训，提高其生物安全意识和操作水平，严格执行有关规章制度，控制动物实验中操作环节和防止病原物质污染环境，实现有效的生物安全防护控制。

6. 兽医在动物实验人畜共患病防控中的责任

在 1400 多种人类病原体中,约 60%是人兽共患病病原,大约 75%的新兴病原体是人兽共患病病原[7]。新现人兽共患病往往会引起灾难性后果,兽医是患病或感染动物第一守护人,兽医在疾病防控中理所当然冲锋在第一线,也是源头控制的第一道关口[8]。ABSL-3/ABSL-4 实验室是一种特殊的通过人工或自然感染进行动物感染试验的实验室,与常规生物安全实验室相比具有许多不同的特点,在其动物实验活动中,主要开展突发新发人兽共患传染病的研究、疫苗研发和评价等任务[9]。兽医依据 ABSL-3/ABSL-4 实验室安全管理体系控制病原污染,特别是要排除实验用动物本身可能患有能感染人的人畜共患病,如汉坦病毒病、SARS、新型冠状病毒肺炎、猴痘、禽流感、狂犬病、疱疹病毒感染、鼠疫、布鲁氏菌病、结核病、弓形虫病等疾病[10]。兽医在防控新现人兽共患病传播过程中起到不可替代的重要作用,动物疾病一般首先由兽医或饲养人员发现,兽医在常规诊疗、饲养监督及实验过程中可能发现指示病例,利用动物预警哨兵等及时发现疾病,能够及早采取检疫、扑杀和动物疫苗接种等措施控制多数传播途径。

7. 总结与展望

实验动物兽医是指具有兽医学位的,并且经由认证获得相应资质的;或有相应的实验动物科学或有相关实验动物种系的培训和工作经验的兽医[11]。其基本职责就是为实验动物的健康和福利提供兽医护理,为实验动物的管理和使用保驾护航,促进实验动物和动物试验的健康发展而且尽最大可能确保人类安全和环境保护。目前,国内的执业兽医考试制度并未专门开设实验动物的资格考试,大多数动物生物安全实验室或单位所招聘的实验动物兽医还是以持有执业兽医资格的人员为主。2008 年国家农业部发布《执业兽医管理办法》[12],2009 年首次在吉林、河南、广西、宁夏和重庆五省市进行执业兽医资格考试试点,2010 年在全国展开执业兽医资格考试,兽医从业者必须通过执业兽医资格考试。经过 10 多年的执业兽医考试,兽医在动物饲养、动物认知、技能操作、信息采集、数据分析、呵护动物、设施设备掌握和生物安全防护等方面的综合能力得到大幅度提升。在 ABSL-3/ABSL-4 实验室进行感染性病原体动物实验不同于普通实验室或体外实验,除避免动物活体检测、外科手术、活体采样、解剖取材等过程中的不良操作影响实验结果外,还必须保护好实验人员和周围环境,防止感染、污染及生物危害发生,将来势必会对兽医及相关实验人员科研素养、学历学位、服务范围、人员数量、技能操作等诸多方面提出更高要求。

随着中国经济的不断发展和生命科学的日新月异,ABSL-3/ABSL-4 实验室在高危险度烈性病原体研究、新发突发传染病疫情防控、生物技术开发、转基因技术和遗传基因工程应用等方面所发挥的作用日益增强,各国政府对高等级实验室的建设和使用越来越广泛[13]。随着兽医的作用和地位不断提升和扩大,满足了全社会多层次多样化的兽医服务需求。实验动物兽医在动物模型制备、病理学、毒理学、新药创制和转化医学、公共卫生与生物安全等诸多方面发挥重要作用,尤其在实验动物疾病防治、疾病动物模型制作及动物实验操作技能等方面具有独特优势,在高等级生物安全 ABSL-3/ABSL-4 实验室动物实验活动工作中的作用和地位也日益突显重要,将与医学结合为人类健康事业的发展做出突出贡献。

基金项目

云南省技术创新人才培养项目(编号: 2016HB006); 国家自然科学基金资助项目(编号: 32170166)。

参考文献

- [1] 由继红. 实验室生物安全问题的研究[J]. 实验技术与管理, 2011, 28(10): 169-171.
- [2] 李宁, 吴思捷, 张媛, 等. 兽医高等生物安全实验室安全隐患分析及对策建议[J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(8): 120-122.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 沈智, 庞万勇. 浅论实验动物兽医的职责及实践[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(6): 1-6.
- [6] 梁慧刚, 黄翠, 马海霞, 等. 高等生物安全实验室与生物安全[J]. 中国科学院院刊, 2016, 31(4): 452-456.
- [7] 马春峰, 胡盼, 柳增善, 等. 兽医公共卫生的不可替代性社会责任[J]. 中国兽医学报, 2019, 39(9): 1878-1884.
- [8] 柳增善, 任洪林, 马春峰. 从新型冠状病毒肺炎暴发反思兽医在国家公共卫生体系中的重要作用[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2020, 30(3): 92-94.
- [9] 周永运, 王荣, 翟培军, 等. 实验动物与生物安全研究进展[J]. 畜牧兽医科技信息, 2015(12): 4-6.
- [10] 杜小燕, 王超, 陈振文. 兽医在实验动物工作中的主要作用[J]. 实验动物科学, 2012, 29(6): 48-51.
- [11] 师福山, 庞万勇, 杨秀进, 等. 动物实验中的兽医作用[J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(10): 103-106.
- [12] 中华人民共和国农业部. 执业兽医管理办法[EB/OL]. http://www.gov.cn/gongbao/content/2022/content_5719989.htm, 2008-11-26.
- [13] 曹务春, 赵月娥, 史套兴. 应对突发生物事件应急保障能力建设的对策研究[J]. 中国应急管理, 2009(10): 8-14.