

实验动物及动物实验中 生物危害的预防对策

山之内孝尚

中日政府技术合作项目
中国实验动物人才培训中心

前 言

当医学家、生物学家们进行诊疗或实验研究的时候，必须严格地防止对自身或他人引起危害以及污染环境。

生物危害“Biohazard”主要是指在操作病原微生物的情况下发生的事。本书就是将进行动物实验时防止发生危害的有关文献，译成中文，并合成文集介绍给读者。其中包括本人的著作。

希望这本小册子有益于了解关于防止“生物危害”的知识与技术，以及对设备及其功能的理解。

生物危害（Biohazard），化学危害（Chemohazard）及辐射危害（Radiohazard）中的危害（hazard）一词，乃偶然引起事故的意思。

然而，对人引起的事故危害，必定存在着起因，故而并非偶然，所以应该认识到危害是必然的后果。

因此医学家、生物学家们，在进行研究实验时，必须认识到自己对保证安全负有神圣的责任和光荣的义务。

山之内孝尚

1993.10

1994.5 改编

目 录

- | | |
|------------------------------|---------|
| 1、防止动物实验中出现的感染事故 | 1-24 页 |
| 2、实验动物设施、设备和防止生物危害 | 25-67 页 |
| 3、生物危害的实际对策
——从动物实验的观点看—— | 68-72 页 |
| 4、生物灾害参考资料 | 73-84 页 |

1、防止动物实验中出现的感染事故

山之内孝尚 *

原大阪大学微生物病研究所附属感染动物实验设施，动物实验学部门①

堂前嘉代子 *

大阪大学微生物病研究所附属感染动物实验设施，动物实验学部门

前 言

- (1)动物实验中引起感染事故的原因
- (2)防止在动物实验中发生感染事故的基本措施
- (3)关于动物感染实验的安全管理标准
- (4)动物实验中出现的其他危害的防止
- (5)防止动物实验时由化学物质引起的危害

结束语

注：参改下列原著重新编写：

- (1)、生物化学实验の手引き 全5卷，5. バイオハザード 防止法 P75-94 出版：化学同人 1986 年.
- (2)、新生化学实验讲座19卷，动物实验法出版：东京化学同人社刊行1991年，3章.微生物品质と管理
2节 ヒトへの感染

* : Takahisa YAMANOUCHI and kayoko DOHMAE 565, 吹田市山田丘 3-1

1. 防止动物实验中出现的感染事故

前 言

动物实验作为生命科学的重要研究手段而广泛使用，除了感染动物之外，不容否认的是，研究人员对实验的安全性有缺乏深入考虑的倾向。

动物实验必须使用严格管理下维持生产的质量良好的实验动物，由于这些实验动物的微生物受到控制，所以从这些实验动物传染给人或者动物相互之间的感染事故应该得以防止。然而，实际上有时候也不得不从自然界捕获动物进行实验。还有，即使所谓实验动物，由于生产或饲养实验场所并未完全隔离而致使野鼠窜入，以及实验人员在动物处理方面对微生物学考虑不周，以致使实验动物被病原体所污染的实验也不在少数。这样的动物实验不仅不可能获得具有再现性的正确结果，而且会向其他实验动物群体扩大污染。如果病原体对人有致病性，则实验人员，饲养等技术人员并进而使周围的人们感染发病以及外环境的污染，就是说，会引起伴随动物实验的“Biohazard”生物灾害

利用有毒微生物进行动物感染实验，是微生物学、感染症学中不可缺少的一种研究手段，实验者必须具有丰富的微生物学知识和熟练的实验技能，而且还必须对实验设备和实验室的功能有充分的了解。

用于实验的动物，根据对微生物的控制情况分为常规动物、SPF 动物和无菌动物（包括悉生动物）等三类。对这些动物的实验饲养环境也分别采取开放的、封闭的以及隔离的三种。SPF 动物和无菌动物都要求同外界、动物以及与实验有关人员实行微生物学的隔离以防止感染。但是它们的要求有所不同，后者要求的是绝对清洁的环境，而前者要求的是相对清洁的环境。在进行动物感染实验时，为防止感染，实验者、实验室以及周围和外界都应根据其所使用的微生物的病原性（危险度）的不同，与实验感染动物实行不同程度的隔离。

一般在进行试管内实验时，病原微生物对人的感染以及向周围扩散的机会，通常只限于操作时，而动物感染实验则从接种病原体到实验结束，中间要经过以日、周、月计的过程，在此期间还要继续给动物喂食、给水、更换笼具等，遇有病原体随尿、粪、唾液排出，就会有感染性气溶胶不断向环境扩散的危险。另外，剖检动物时，实验者还会有接触在血液、体液、脏器中繁殖了的病原体的危险。根据动物种类的不同，还可能被它们咬伤，甚至由于注射器、手术刀的创伤而被感染等，这些都是动物实验时所特有的。应该看到，它引起感染事故的危险性远远大于一般试管内的实验。还有，一般试管内实验，只能重点处理好病原体对人的危险性就可以了，而动物实验，除此之外还要考虑防止对其它实验动物的感染问题。

除了过去随着微生物学的发展而发生的实验室感染之外，从 1960 年后期，又新出现了致死率很高的马尔堡病、拉萨热等所谓的国际传染病。同时预计到会有重大发展的重组 DNA 实验所带来的潜在危险，以及由肿瘤病毒引起的潜在致癌性等，各国官方研究机关都对控制生物学危害问题采取了积极的态度。在日本，国立预防卫生研究所于 1980 年 4 月制订并执行了“预研病原体安全管理规程”。另外，对于重组 DNA 的实验，由文部省和科学技术厅发表了重组 DNA 实验指南的布告。列入前者的病原体的危险度分类标准和接触病原体的实验室安全设备及运营标准。这些准则主要是以试管内实验为对象，只有极

少一部分涉及到动物实验。外国也同样，在日本，现在，国立大学动物实验设施协会动物实验设施安全对策委员会（委员长，山内一也教授，东大医科研）对动物实验的安全对策正在加紧探讨研究。因此，本章拟就在动物实验中如何防止感染事故的问题，以一个实验者的立场，就动物实验者或设施管理者应注意事项谈谈个人的看法。

(1). 动物实验中引起感染事故的原因

1.1 感染实验

感染实验的病原体对人体的危险度即使是病原体相同，如果所用的动物种类和接种的途径不同，其病原体的繁殖程度和排出方式也会有所不同；另外，病原体在动物体内经过繁殖后，其对人体的致病性有时会得到增强，因此，有时还不能认为它与试管内的危险性完全相同。

1.2 表 1-1、1-2 列举了从实验中使用的动物感染发病的感染症，并举下列实验例加以说明。

1967 年西德、捷克发生的不明热疾病 31 名患者，属原发性感染者与从乌干达输入的绿猴的肾细胞培养有关，从患者液分离的病原病毒被命名为马堡病毒。因绿猴捕获地并没有本病毒的存在，所以曾推测为运送途中感染，但也未能证明自然宿主动物。B 病毒本来在猕猴属“Macaca”猴类神经细胞中潜在感染，在附加寒冷等刺激条件时口腔粘膜出现病变，病毒混进唾液里，当人受到咬伤时就遭受感而产生脊髓膜炎、脑炎以至死亡。此乃高度危险的微生物 1976-1977 年苏丹、扎伊尔居民和医务人员中曾发生过致死率很高的出血性发热的疾病，其病原就是埃博拉病毒。1989 年从菲律宾移进美国的食蟹猴就被类似于上述病毒所感染，引起这种猴的大量死亡。很明显，人也曾被感染但幸而没有发病者。

二次大战后，日本学者开始接近野生日本猴群的生息区域，给饵并对其生态进行了观察。因数量太多，推测在猴群与人之间相互感染的危险性在增大。所以从对人畜有害猴群中捕获一部分，送进动物实验设施，开始观察其行为心理，并进行分析研究。见有很多猴出现腹泻、淋巴肿大、脓肿、消瘦症状而死去。经显微镜检查和培养，证明病灶里有结核菌，又对实验人员等做结核检查，在推测为接触感染者中确认了结核菌素反应强阳性者。在其他药物效果试验场所，结核在猴群中蔓延，从死亡的猴肺空洞内容培养出大量人型结核菌并做出了细菌学判定。这些者是本文作者的亲身经历（未曾发表）。据说在实验设施饲养输入猴的技术员中，有痢疾菌感染的发病例。

近几年前为止的一个时期中，在日本，为了进行医学研究而捕获犬的时候，有一部分动物设施的职员为排除布氏菌感染个体，竟采取了匆忙处死的做法。

在这样情况下，当捕获野生动物尤其猴类的时候，应当在实验前隔离观察一定时间，并进行必要的检查也就是说实验者们及设施管理者必须认识到检疫的重要性并能实际施行。

淋巴细胞性脉络丛脑膜炎(Lymphocytic Choriomeningitis, LCM)是由野鼠传给小鼠、田鼠使之产生隐性感染的病毒感染症，在日本尚无发病的报导。近年来，有一部分小鼠群体被污染的报告。在出生之后就受到感染的小鼠，产生免疫耐受而不发病，并终生排

出病毒而成为传染源，对此必须引起注意。

在欧亚大陆北部广泛的部分地区发生着肾综合征出血热(Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome ,HFRS)，主要症状是发烧、肾功能障碍、出血倾向。它是由野生啮齿类为媒介，属于本雅病毒科(Bunyavirus)的 Hantaan 病毒感染症。被其中一种称作 Seoul 病毒污染的实验用大鼠，于 1970—1984 年间，使日本国的 22 所医学教育单位的动物实验人员 126 名（死亡 1 名）感染发病成为 HFRS 患者。而自然感染及实验感的成熟大鼠，除呈现抗体升高之外并无任何症状。感染途径主要是粪尿及液中排泄出来的含有病毒的感染性气溶胶，经过呼吸和经口造成感染。另外还有从买入几日的大鼠采取作为生化研究材料的脏器和血液时，被注射针刺破手指后 1 个月发病；还有由于给新生仔鼠做实验感染，因在 3 周后受到咬伤，经过 3 周后发病了两例，属于创伤感染。1985 年之后虽然没有发病，但后来在日本国不止一处的港湾地区曾确认有高分率的高度污染野鼠群的存在，故而希望继续维持实验用大鼠的检查体制。



大阪大学微生物病研究所
1967年迁移新建

(微生物病研究所配置图)

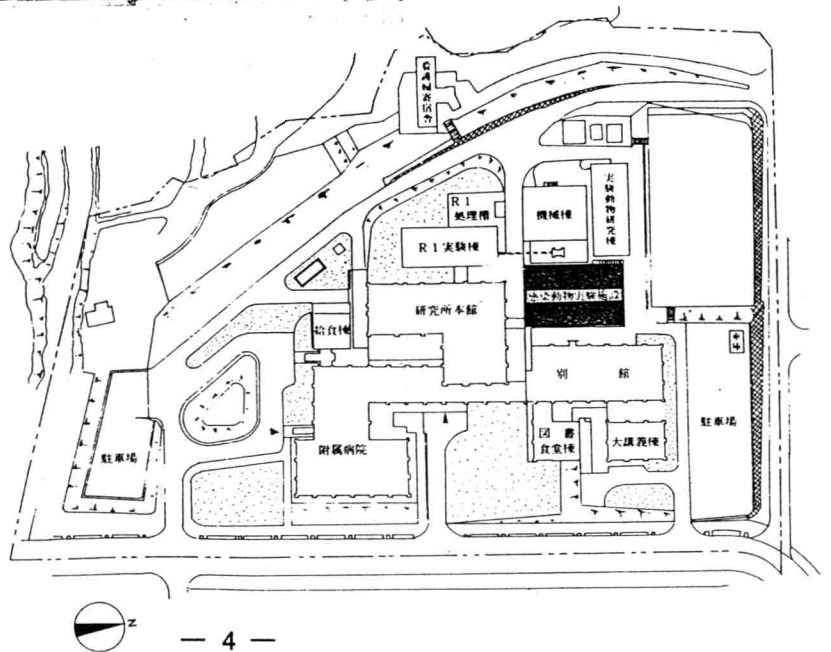


表 1-1 主要的人畜共患传染病

动物种类	疾 病	在美国动物群体	人的严
		中的发生频度	重程度
鸡	鹦鹉病	++	+
火鸡	鸡瘟	++	+
日本鹌鹑	马脑炎	+	+
	沙门氏菌病	+	+
小鼠、大鼠、田鼠	淋巴球性脉络髓膜炎 (LCM)	+	+++
	脑心肌炎	+	++
豚鼠	钩端螺旋体病	+	++
兔	野兔病	+	++
负鼠、臭鼬鼠、狐狸	狂犬病	++	+++
	钩端螺旋体病	+	++
猫	弓形体病	++	++
	猫抓病	+	+
	白癣	++	+
狗	狂犬病	+	+++
	钩端螺旋体病	+	++
	狗蛔虫病	+++	+
牛、羊、山羊、猪	旋转病	+	++
	Q 热	+	+
	炭疽	+	+
	结核	+	++
	布氏杆菌病	+	++
	李斯特氏杆菌病	+	+
	传染性脓包性皮炎 (Orf)	+	+
	白癣	++	+
	水泡性口腔炎	+	+
	牛痘	+	+
	猪丹毒	++	++
	钩端螺旋体病	+	+
	猴类	结核	++
病毒性肝炎		+	++
马尔堡病		±	+++
沙门氏菌病		++	+
细菌性痢疾		+++	++
B 病毒感染症		++	+++
疟疾		+	++
雅巴病及塔纳痘		+	+
麻疹		++	+
阿米巴痢疾		+	++
SV40		++	±
狂犬病		±	+++

引自 R.A.Griesemer 等的文献 (参照正文)

表 1-2 与实验用动物有关的主要人畜共患感染症^{a)}

	病名	病原微生物	主要宿主	感染给人的途径	人体表现的症状
细菌病	沙门氏菌病	<i>Salmonella</i> (沙门氏菌)	小鼠、大鼠、豚鼠、狗猫、猴类	经口	食物中毒
	鼠咬热	<i>Streptobacillus moniformis</i> 或 <i>Spirillum minus</i> (链杆菌属链球菌或小螺菌)	小鼠、大鼠	咬伤、经口	高烧、恶寒、皮疹、关节炎
	假结核	<i>Yersenia Pseudo tuberculosis</i> 假结核耶森氏菌	豚鼠、兔、猴类	经口	肠间膜淋巴腺炎、阑尾炎、败血症等
	土拉伦菌	<i>Erancislla tularensis</i> (土拉伦菌)	兔	接触、经口	淋巴腺肿大、肺炎胃肠症状
	螺旋体病	<i>Leptospira</i> (螺旋体)	大鼠、狗	创伤	发烧、黄疸、出血、肌肉痛 胃肠障碍、脑膜炎症状
	布氏菌病	<i>Brucella canis</i> (狗布氏菌)	狗	经口、经皮 经呼吸道、 眼结膜	发烧
	结核	<i>Mycobacterium utbeculosis</i> (结核菌)	狗、猫、猴类	气溶胶、经口	衰弱、肺、肠皮肤干酪化、钙化结节
	细菌性痢疾	<i>Shigella</i> (志贺氏痢疾杆菌)	猴类	经口	腹泻(水样性、脓粘液性)
	类鼻疽	<i>Pseudomonas psedomallei</i>	猴类、野生啮齿类	经口、经皮	伤寒、结核样症状败血症、多发性慢性脓疡、未经治疗者死亡率很高。
真菌病	黄白癣 (ringworm)	<i>Trchophyton menlagrophytes</i> (须发癣菌)	小鼠、大鼠、豚鼠、象、狗猫、猴类	接触	皮肤小水泡、红斑、鳞屑、圆形斑、脱毛

病 毒 病	淋巴脉络丛 脑 膜 炎	LCL 病毒	小鼠、大鼠、 田鼠生啮齿类	经鼻、节肢动 物媒介	流感样发烧、脑膜炎症 状、死亡率大于 10%
	(LCM) 拉沙热	Lassa fever virus (拉沙热病毒)	mastomys(生存 于南美的野 鼠、作实验动 物用)	气溶胶	多发肌肉痛、腹泻肠伤 寒样症状、死亡率大于 40%
	肾综合征出 血热	Hanta virus 属 Seoul virus	大鼠	气溶胶、局部 咬伤	发烧、肾功能损伤、出 血倾向
	狂犬病	狂犬病毒	狗、猫	咬伤	中枢神经症状
	B 病毒病	Herpes virris simiae	猴类	创伤(唾液、血 液、气溶胶)	中枢神经症状、死亡率 75%
	马堡病	Marbrug virus(马堡病毒)	猴类、野生啮 齿类	不明(创伤、经 皮、气溶胶)	衰弱、呕吐、发烧肌肉 痛、结膜炎、黄疸出 血、发疹、死亡率 25%
	埃博拉出血 热	Ebola virus (埃博拉病毒)	猴类、野生啮 齿类	创伤、经皮、 气溶胶	类似于马堡病、死亡率 大于 70%
	猴痘	Drthropox virus(正痘病毒)	猴类	接触、气溶胶	发疹、脓疱、结痂
	肝炎	Hepatitis virus (肝炎病毒)	猴类	经口	呕吐、发烧、腹泻、黄 疸
原 虫 病	弓形体病	Toxoplasma (弓形虫)	小鼠、狗、猫	经口、鼻创伤	流产、脉络网膜炎、淋 巴腺炎、黄疸、盆血、 脑水肿
	阿米巴痢疾	Entamoeba histolytica (溶组织阿米巴)	猴	经口	粘血性腹泻
寄 生 虫 病	绦虫病	绦虫	小鼠、大鼠、 狗、猫	经口	肠炎、肠绒毛破坏
	旋毛虫病	Trichinella	狗、猫	经口	
	蛔虫病	狗蛔虫	狗	经口	肝、脾、中枢神经系统 和肌肉等处有仔虫迷入

a). 光冈知足:“新实验动物学”, 前岛一淑著, p151, 朝仓书店 (1986)

1.3 感染途径

① 创伤感染

由于接种时用注射器操作病原体液失手而造成的刺伤，感染动物时采血用注射器引起的刺伤，以及剖检时手术刀所引起的创伤等使实验者及其助手们受到感染、发病的事故很多见。另外，被动物咬伤也可引起。关于因采血时受到刺伤和在感染实验中因被咬伤而引起肾症候群性出血热的发病事例也确有其事。因咬伤而引起发病的恐怕主要是狂犬病病毒和 B 病毒。按规定，高危度病原体（第 4 级病原体）的实验工作都要在完全隔离型的手套操作箱（glovebox）内进行，但是在这种装置里戴着橡皮手套做动物实验，特别是接种操作及动物剖检等是非常困难的。在英国，据说在埃保拉（Ebora）病毒的豚鼠接种试验操作中，由于注射针头穿过橡皮手套刺破了自己的手指而发生感染发病的事故。此外，还要防止被猫、狗等搔破皮肤而感染。人的大部分巴斯德氏菌病都是由狗、猫等咬伤、搔破伤所引起的。此外，猫还可感染猫抓病。

② 经口感染

由于实验者对动物实验的认识不足，因而在实验室吸烟、饮食以及用污染了的手指触摸咀嚼而致感染发病的事例时有发生。如果能严格认真地遵守动物实验的基本要求，这种事故是不会发生的。

③ 气溶胶引起的经呼吸道感染

因吸入含有病原体的粪尿和唾液的气溶胶而感染的事例很多见。特别是把垫料不经灭菌即行清除操作就会使大量的感染性气溶胶飞散到环境里而增加感染发病的机会。做感染实验时，固然要进行灭菌处理，即使是一般的动物实验，对用过的垫料也要进行认真的处理。动物尸体一般都是在焚烧处理之前保存在冰箱里。不过笔者也遇到过这种事例：有 2 名进行冰箱除霜清理作业的技术人员，经过 2 周的潜伏期之后相继地出现了肾症候群性出血热。接种时用的接种液及剖检感染动物时的血液、体液的飞溅等都可能成为气溶胶感染的原因。

④ 昆虫媒介

实验动物有时带有螨类等体外寄生虫，做动物感染实验时，特别要把它们除掉。曾认为螨可能是肾症候群性出血热的传播媒介，但现在已被否定。日本脑炎病毒的传播媒介是蚊子，这是此种感染途径的代表。在动物实验室内，经常可以看到有蟑螂，它们也可传播病原体而成为经口、气溶胶感染的原因，所以这也应看作是广义的昆虫媒介。

(2) 防止在动物实验中发生感染事故的基本措施

2.1 动物感染实验中的病原体危险度分类

如同在一开始所讲述的那样，原则上可以参照以试管内实验为对象所制订的危险度分类。但是还要考虑动物实验的特殊性如实验动物的饲养期间（实验期间）长，需要更换动物笼具，要处理用过的垫料和粪尿，以及接种病原体，投与药剂，进行剖检等，而且还要考虑病原体在动物体内的繁殖以及因此而产生的病原性的增强而需要将危险度分类向上提高一级等等。另外，危险度分类是基于对人的危险性而提出的，动物实验时还要考虑动物相互间的感染发病以及根据对动物的危险性考虑的危险度分类。关于传染病，从病原体感染到发病机制及其发病后的经过，决定于宿主-寄生物间的相关关系

(host-parasite relationship), 即受病原体的量、对人体的致病性、感染途径以及人体的自然和后天获得的免疫力等 4 个因素所左右。一般说来, 病原体的危险度分类就是根据这些因素来制定的。动物实验时, 除了上述因素之外, 还要考虑 2 个因素即动物相互间的传播能力和动物排出病原体的情况。

2.2 对生物危害发生源的管理

①对实验动物的质量管理

一般来说, 从防止生物危害的角度出发, 对购进的实验动物最好是定期进行遗传学监测和微生物学监测, 并能根据实验者的要求提供监测结果优质的动物。对于野生的猴类, 需要按照 WHO 所提出的建议进行检疫, 但目前还不能说已经做得很好了, 笔者所在的大阪大学微生物病研究所动物实验设施规定, 即使是一般性实验, 猴类的实验也都要在感染动物饲养实验室里, 按照感染实验的标准进行实验。对于那些来自其他设施的在微生物学监测上有可能进行得不彻底的动物品系也同样要进行隔离。

②实验动物的 SPF 化问题

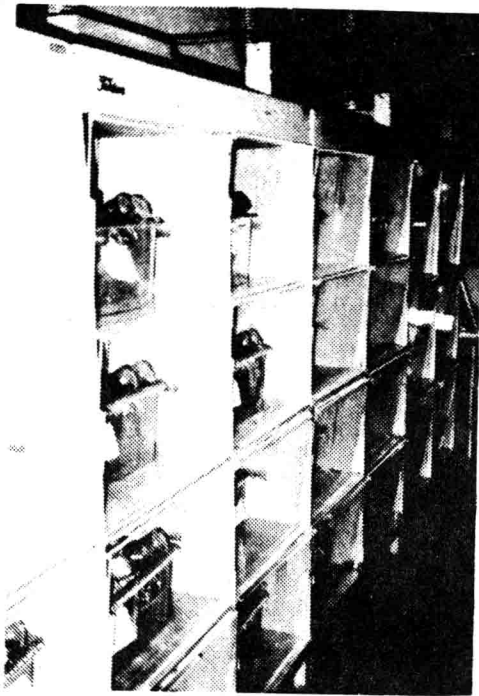
一般认为, 动物实验最好是使用在可控制微生物的环境中生产并经过监测的 SPF 动物。这主要是针对能引起动物相互间感染的病原体作为特定病原体 (specific pathogen) 而提出来的, 但是对于能引起动物的隐性感染而对人体却显示致病性的大鼠肾症候群性出血热病毒和猴类的 B 病毒也不得不加以注意。

2.3 教育

与试管内的实验相同, 即使受过有关病原微生物的教育和实习的研究者, 如果初次进行实验就自己单独做感染动物实验也是有危险的, 虽然可能因病原体的种类不同情况会有所不同。因此, 关于接种、采血、剖检以及脏器摘出等实际操作程序还是有必要在有经验者的指导下共同进行。用注射器吸入接种液时, 为达到刻度或排出气泡而将注射朝上推动针管这类动作应严格禁止。笔者有这种体会, 即初学者对于象先用棉花包上注射器针头, 然后再推出气泡这种简单的程序根本不注意。hazard 这个单词除有“危险、冒险”的意思之外, 还有“偶然情况”的含义。所以, 将实验者由于使用被肾症候群性出血热病毒污染了的大鼠而感染发病的情况称为 Biohazard 是有道理的。不过, 由于使用病原体进行实验而使实验者或其周围的人发病乃至引起外界的污染, 这不会是偶然的, 必定会有造成事故原因的操作失误, 难道这不应该和以前一样看做是实验室感染吗? 使用病原体做实验时, 实验者必须对病原体的危险度等有足够的认识并有确实可靠的实验技术, 对防止感染事故的措施要有充分的理解和判断力, 而且要明确进行实验所负责任之所在。

(3) 关于动物感染实验的安全管理标准

感染事故的防止对策根本在于将病原体封闭在一定的空间内, 防止其与实验者接触。这属于物理封闭 (Physical containment)。物理封闭包括一级隔离和二级隔离。一级隔离是将病原体和实验者隔离, 也可以看做是相当于动物实验中的感染动物和实验者之间的隔离。一级隔离的目的是为了防止实验者的感染。二级隔离的目的是为了防止周围人的感染和外界的污染。一级隔离如能做得确实可靠, 则不仅能防止实验者的感染, 而且也可减少病原体向外界漏出的机会。迄今的感染事例报告, 基本上都是实验者在实验



照片 1-1

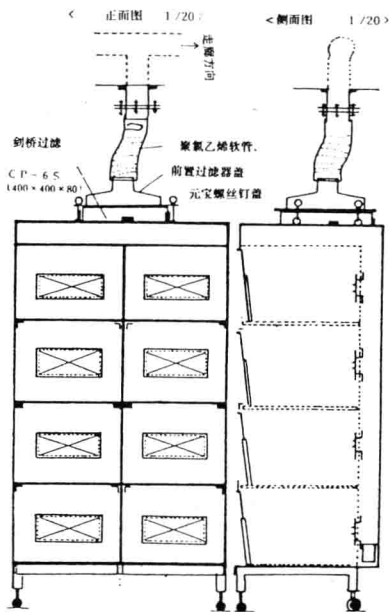


图 1-1 Lind 型负压通风罩的构造

室内的感染，不过也有因天花病毒的漏出而使其楼上的其他教研室人员发病死亡的事例。

3.1 动物实验中的一级隔离

目前，对实验动物实行集中管理的设施，都是利用空气调节来控制给各个区域、各室一定量的送气、排气、温度和湿度。所以，各室内都有一定方向的气流，根据一级隔离的要求，空气要从实验者流向感染动物笼的方向。而且还要将通过动物笼的气流引至室外而不向室内扩散，并且还要根据所用病原体的危险度大小进行灭菌或除菌，最后排至外界。因此，一级隔离时，每个感染动物笼都必须存放在负压罩的隔离格内。饲养 SPF 动物，特别是饲养裸鼠（先天性无胸腺小鼠）常用的空气过滤架一般是用一种高效过滤器将除去细菌的空气供给放有动物笼的各隔离格，以与外界隔离。此时各隔离格的外部呈正压状态，而放感染动物笼的空间则与此相反，必须呈负压状态。图 1-1 及照片 1-1 是大阪大学微生物研究所（阪大微研）感染动物实验设施存放感染动物笼所用的 Lind 型通风罩的构造。这是瑞典歌德堡大学的 Lind 教授为进行结核菌动物感染实验而设计的，于 1967 年成立本设施时又经过川俣顺一教授的改良，由钢板制成，内部结构有 2 种，一种是分隔为 4 层 8 个格，一种是 3 层 6 个格。前者用于小鼠、大鼠和仓鼠，抽出第 1 和第 3 层的铝隔板就可以放鸡和猴笼。后者放荷兰猪和兔笼。各格前面都设有透明的丙烯遮蔽板，可以沿

轨道杆放下。这种遮蔽板在操作时不致使气流产生混乱，这一点可能比旋转门效果更好。在上缘有 1cm 的间隙，白天空气可以每小时 10 次的换气次数和每秒 10cm 的流速流入室内，内部的空气流速为 1cm/秒。空气通过背面的不锈钢多孔板被吸至上方，经过预滤器被送到机械室，再经过 2 次过滤（最后是高效滤器）除菌后排放到室外。即使如此微弱的气流也能使各隔离格达到完全的隔离。尽管将麻疹抗体阳性、阴性的食蟹猴放在同一室内的负压通风罩格中，经过 1 年多的观察也未发现阴性猴的阳转。

另外，还设计了带有换气装置的动物笼台架和二级安全橱等隔离性能极好的负压通风罩而且已被实际应用，但它们的原理都基本相同。其种类很多，有的甚至具有优良的性能，不仅用 HEPA（高效）过滤器完全除去排气中的细菌，而且供给各隔离格的空气也都经过过滤处理以防止微生物侵入。

高危险度病原体即第 4 级病原体的感染实验，操作要在完全密闭的不锈钢小室内戴着橡皮手套进行。因为戴着橡皮手套进行实验操作非常困难，所以要求对注射器的操作和剖检等技术特别熟练。笔者所在单位进行 3b 级病原体的感染实验时是将笼子放在负压的聚乙烯树脂隔离罩内（送气鼓风机 1 台、装有 HEPA 过滤器，排气鼓风机 2 台，装有 HEPA 滤器，1 台经常运转，1 台与送气鼓风机一样，根据对隔离室的膨胀、收缩情况的感应进行工作，保持 2~3.5mm 水柱的负压）。给食、给水的操作都是戴着橡皮套进行的，而在隔离罩内，因为不直接接触动物，实验操作和换笼工作都可以在与隔离罩相连接的二级 B 型超净台的作业空间，把笼子移到这里赤手进行操作（图 1-2 和照片 1-2）。

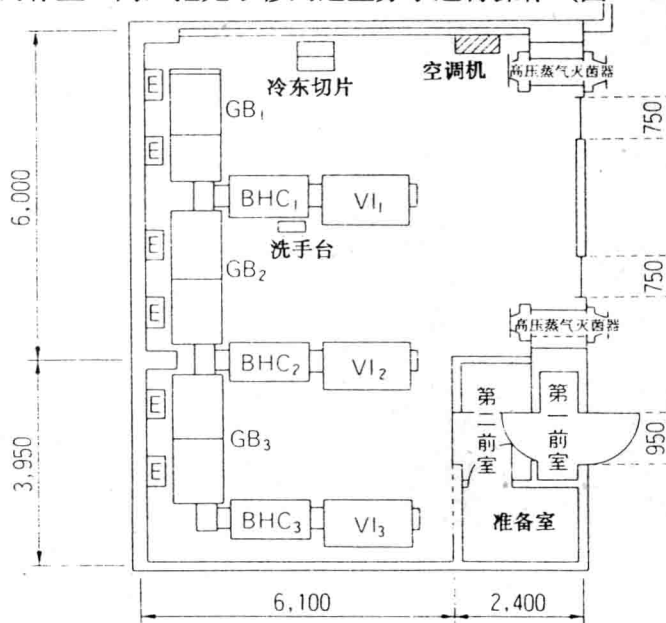


图 1-2 高度安全动物实验室及其各种器械配置图

GB1: 1号手套操作箱: 低温冰箱, 超声波装置

GB2: 2号手套操作箱: 恒温箱, CO₂ 孵箱

GB3: 3号手套操作箱: 高速冷冻离心机, 超速离心机

VI: 负压聚乙烯隔离罩

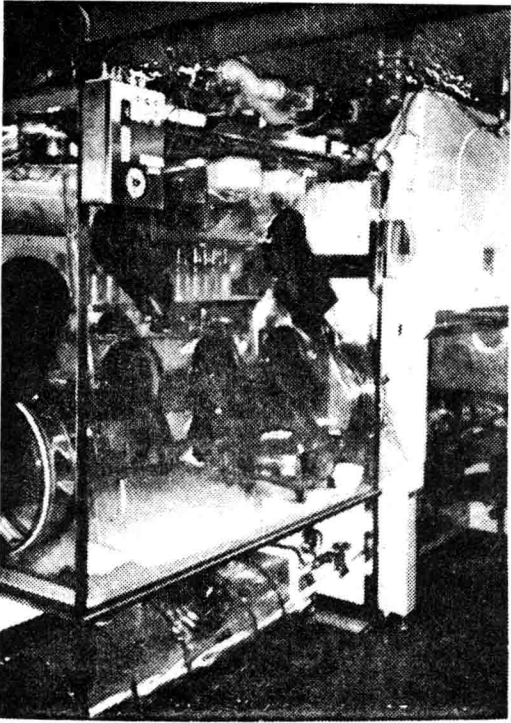
BHC: P II-B 型超净台

E: 手套箱排气过滤器, 风机组; 长度单位 mm

与此相关连，当感染动物笼放在负压通风罩或二级超净台时，为了进行实验操作，就须要将笼移至操作隔离橱内，所以这时就要给笼子罩上一个过滤罩，以防止病原体漏至室内。过滤罩不仅在一般动物实验（大鼠、小鼠等小型实验动物）时，罩在笼子上可以有效地防止微生物的侵入，就是感染动物笼放在负压通风橱隔离间内时如果也能安装这种过滤罩的话，则对防止病原体扩散也会起到一定的作用。

3.2 动物实验中的二级隔离

如果把它看做是对 SPF 动物的屏障系统的颠倒就容易理解了。在整个屏障系统中，各隔离区以及各动物室对外界都呈正压状态，所输送的空气都经过除菌以保持清洁的环境，而感染区和感染动物实验室则呈负压状态，其废气经过除菌和灭菌后被排出以防止污染外界环境。



照片 1-2 负压聚氯乙烯树脂隔离罩(左)
二级超净台(右)
废水贮存罐(下)

当然，与病原体的危险度也有一定的关系，不过，如果从存放感染动物笼的负压通风罩隔离格排出来的废气能经过 HEPA 滤器除菌，并能在机械室的排气系统最后再经 HEPA 滤器进行一次除菌的话，估计是可以达到完全的程度的。滤器需要交替地进行灭菌，各滤器和排气系统应装备双套。而且为了在发生停电事故时也能保持负压，还须有自家发电设备，使排气风机和送气风机能先后自动运转。为了完全隔离，还必须对用水进行灭菌处理。虽然也在采用药物消毒灭菌法，如果从对污水净化池的影响考虑，不管

在感染动物实验室内使用水量有多大，最好还是采用高压蒸气灭菌法。动物尸体、用过的动物笼具和污物也都应经高压蒸气灭菌后运出。关于高压灭菌罐的设置地点，最好是设在动物室与供应区、走廊之间里外两面设门的通过式结构。

如果把废气看做是气体废弃物，那么为了防止污染外界，原则上应将感染动物实验室排出的气体、液体、固体等所有废弃物都进行灭菌处理。但是，即使是兔之类的中型实验动物，用常法在高压蒸气灭菌罐内 120℃ 灭菌 30 分钟，其直肠内温度也达不到 100℃。因此，感染动物的尸体应用高压灭菌罐进行体表灭菌，再用焚烧炉焚烧火化。用高压灭菌器灭菌时，必须用高压蒸气将罐内的空气完全置换掉。所以，在开始时，可能会有未被灭菌的空气排出，因此须使此部分空气从罐体下方通过金属滤器（不锈钢烧结滤器）进行除菌。如果排气管设在罐体的上方，则空气停留在下部，而高压灭菌罐的下部空间达不到灭菌所需的温度。

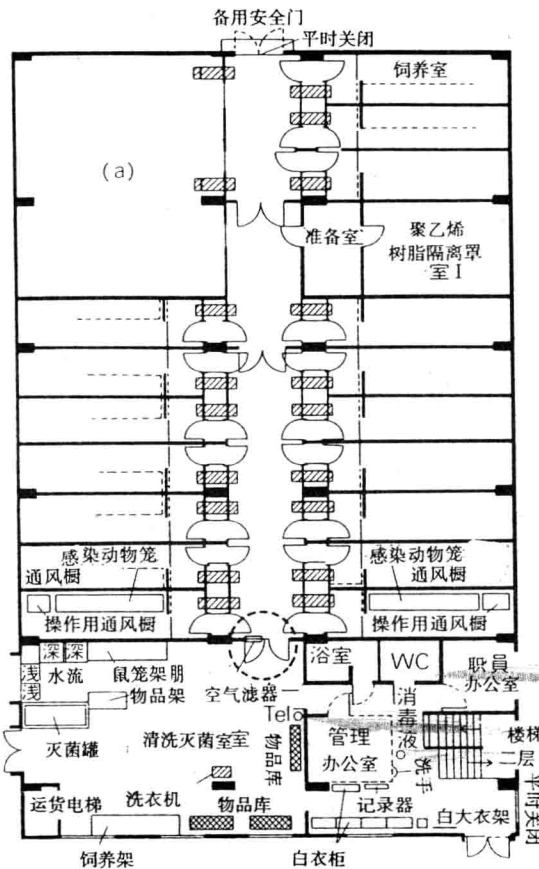


图 1-3 感染动物饲养试验区

大阪大学微生物病研究所感染动物实验设施

(a) 高度安全动物实验室(图 1-2)

注：洗涤灭菌室的还氧乙烷气高压灭菌器现已撤掉

人在感染区内的活动线路，在整个隔离系统中采取清洁走廊和污染走廊的单向通行方式。在感染实验区，原则上应把病原体封闭在隔离罩或负压通风罩内。设想存在受到病原体污染的污染走廊是不成立的。如果设置图 1-3 那种能避免清洁区和可疑污染区交叉的出入口，就可以做到各感染动物实验室相互间、走廊和室内之间的完全隔离。但是，前提是设置各室与走廊之间的通过式高压灭菌罐。

3.3 实验者在动物感染实验中必须遵守的基本事项

① 禁止带进饮食和吸烟

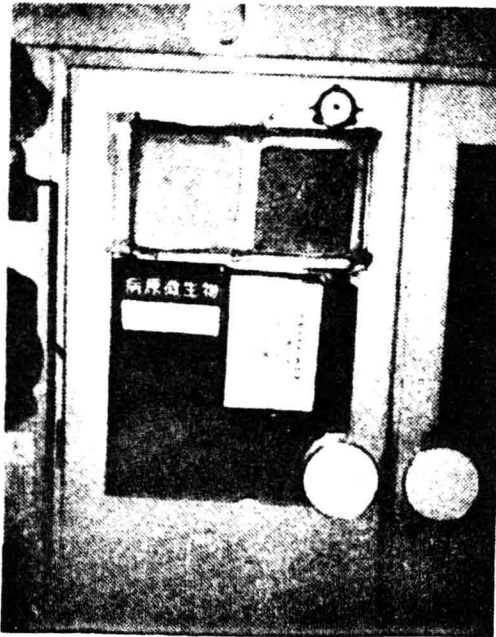
②作业前后洗手

③作业台的表面消毒

感染实验的实验操作应在一级、二级超净台内进行，除了操作时间以外，最好是经常用紫外灯照射。

④防止产生气溶胶

向注射器内吸入病原体液和作接种准备时尤其应注意防止产生气溶胶。皮下、肌肉、腹腔及静脉注射后拔出针头时，肯定会有液体漏出，因此，一定不要忘记用酒精棉擦拭。不只是接种，就是在采血后也必须给注射针头套上外套管，放入灭菌罐内，注意不要引起刺伤事故。



照片 1-3

走廊入口部分(图 1-3 之○部分)

压差计表示：内部呈 3.0mm 水柱负压

如能利用空气调节使实验区的排气量 > 送气量，
内部即可呈负压，补气量通过滤器面进入内部。