

刘梅轩,林凯丽,张丽芳,等. 国家级病原微生物菌(毒)种保藏中心的建设初探[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(9): 80-84.

Liu MX, Lin KL, Zhang LF, et al. A preliminary study on the construction of a national pathogenic microorganism preservation center [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(9): 80-84.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.09.015

国家级病原微生物菌(毒)种保藏中心的建设初探

刘梅轩,林凯丽,张丽芳,佟巍,高虹*

(中国医学科学院医学实验动物研究所,北京协和医学院比较医学中心,北京 100021)

【摘要】 病原微生物菌(毒)种作为国家重要的战略资源,已成为国际生物安全秩序调整期世界发达经济体大国博弈与共存的重要筹码,而我国早期建设的保藏机构已无法满足当前形势需求。中国医学科学院医学实验动物研究所在国家卫生健康委员会的统一规划下建立了一家国家级菌(毒)种保藏中心,为我国微生物资源的管理及开发利用提供了有力保障。本文将从硬件设施、管理制度、人员队伍等方面阐述国家级菌(毒)种保藏中心的建设规划及建设实施过程,为我国规范化、信息化的菌(毒)种保藏机构的建设提供参考。

【关键词】 病原微生物菌(毒)种;保藏中心

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 09-0080-05

A preliminary study on the construction of a national pathogenic microorganism preservation center

LIU Meixuan, LIN Kaili, ZHANG Lifang, TONG Wei, GAO Hong*

(Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences(CAMS);
Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College(PUMC), Beijing 100021, China)

【Abstract】 Pathogenic microorganisms have become a crucial chip in the world's developed economies game of coexistence in international biosafety. Due to the present pandemic, an important strategic resource for this country needs to be developed during this adjustment period. However, the preservation institutions previously built in China's early stages are now unable to meet the needs of the current situation. Under a new integrated plan from the National Health Commission, the Institute of Laboratory Animal Sciences of the Chinese Academy of Medical Sciences has established a National Pathogenic Microorganism Preservation Center, which provides a strong guarantee for the management, development, and utilization of microbial resources in China. In this paper, the construction plan and implementation process of the National Pathogenic Microorganism Preservation Center is expounded upon from the aspects of hardware facilities, management systems, and personnel teams, so as to provide reference for the construction of a standardized and informationized pathogenic microorganism preservation institution.

【Keywords】 pathogenic microorganism; preservation center

随着 21 世纪生物技术的迅猛发展,在市场需求和国际竞争的拉动下,一场以发展生物产业、抢占

生物资源制高点,确保国家安全为内容的生物技术和产业革命正在世界范围内形成,以现代生物技术

【基金项目】 中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(2019PT310008)。

【作者简介】 刘梅轩(1990—),女,管理人员。E-mail:liu_meixuan@hotmail.com

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

为基础的病原微生物资源保护及利用必将成为未来全球生物资源竞争的战略重点^[1]。发达国家的菌(毒)种保藏工作起步较早,如美国、英国、澳大利亚、日本等国家在 20 世纪初期相继成立了一批专业的微生物保藏机构^[2],并逐步形成了标准化的保藏体系,凭借悠久的历史地位、优越的资源以及信息化的管理,时至今日在国际上仍占据着微生物资源收藏和研究的核心理地位。国内现存的保藏机构建设可追溯至上世纪 80 年代,但多数基础条件较差,缺乏统一的规划和稳定的经费保障^[3],导致各机构组织松散,标准化程度低,硬件条件和管理水平参差不齐,存在一定的实验室生物安全隐患^[4],无法满足当前形势需求。因此,加强我国规范化、信息化的病原微生物菌(毒)种保藏体系建设迫在眉睫。

2013 年,国家卫生计生委发布《国家卫生和计划生育委员会关于印发人间传染的病原微生物菌种保藏机构规划(2013-2018 年)的通知》,根据疾病控制、科研、教学和生产的需要,规划了 6 家国家级病原微生物菌(毒)种保藏中心。中国医学科学院病原微生物菌(毒)种保藏中心是其中之一,该中心依托中国医学科学院,下设四家分中心,包括药用微生物相关菌(毒)种保藏分中心,医学真菌保藏分中心,实验动物及人兽共患病相关菌(毒)种保藏分中心及医学病原微生物菌(毒)种保藏分中心。中国医学院科学院医学实验动物研究所(以下称动研所)作为实验动物及人兽共患病相关菌(毒)种保藏分中心(以下称分中心)的保藏单位,结合自身特点,发挥专业能力,迅速启动保藏机构建设项目,并于 2018 年 7 月通过国家卫健委的现场评估认证,获得了《人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构证书》。

1 建设规划

在建设之初,保藏机构为保证建设实施工作有条不紊不紊进行,对保藏样本、硬件设施、人员队伍、管理制度等关键要素进行了统筹规划和严密部署。依据《病原微生物实验室生物安全管理条例》(国务院令 424 号)^[5]、《卫生部关于印发《人间传染的病原微生物名录》的通知》(卫科教发[2006]15 号)^[6]以及《动物病原微生物分类名录》(农业部令 53 号)^[7],结合动研所的业务特点以及现有的实验室生物安全体系,分中心将保藏范围划定为人兽

共患病相关菌(毒)种和实验动物相关菌(毒)种,其中人兽共患病相关菌(毒)种主要以二类病原微生物为主、实验动物相关菌(毒)种主要以三类、四类病原微生物为主。根据工作需要确定样本库容量,依据《人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构设置技术规范》(WS 315-2010)^[8](以下简称《技术规范》)建立原始库、主种子库、工作库,其中原始库和主种子库采用液氮罐储存并设置备份,工作库采用超低温冰箱储存。

合理的功能分区规划及完善的设施设备是实现菌(毒)种妥善保藏的先决条件。保藏机构应依照《技术规范》要求,根据所保藏病原种类以及现有的设施基础,加大基础设施建设的经费投入,整合资源、挖掘潜质,完成功能区布局。分中心将现有动物生物安全三级实验室(ABSL-3)和 2 个动物生物安全二级实验室(ABSL-2)划为分中心实验工作区,可进行病毒、细菌及真菌操作,设施优良、设备齐全,满足保藏工作需要并符合国家有关质量认证要求。该 ABSL-3 实验室于 2007 年获得“高致病性病原微生物实验室资格证书”且通过中国合格评定国家认可委员会(CNAS)的认可。此外,动研所对原有冷库进行升级改造并将其划为分中心保藏区,配备相应低温保藏设备及安保设施,在保证样本安全储存的基础上为工作人员提供有效防护。

菌(毒)种保藏是一项长期的、不可间断的任务,从事微生物资源收集、保藏、鉴定、整理等工作需要科技人员的持续投入与参与,科技人员的变动、流失对微生物资源保藏工作影响极大^[9]。因此,建立一支符合要求、数量充足、结构合理、素质过硬的人员队伍是保障保藏机构可持续发展的必要条件。分中心在建设初期梳理了人员架构和职能分配,对关键岗位人员进行了任命及授权,明确人员上岗及培训要求。另外,为保证保藏工作凡事有人负责、凡事有章可循、凡事有据可查、凡事有人监督,保藏机构必须依照《人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构管理办法》(卫生部令 68 号)^[10]中对保藏机构职责和活动的规定,以及《技术规范》中对管理制度的要求,建立完善的体系文件,对保藏机构进行科学管理。体系文件中主要包括管理通用性文件和风险评估及标准操作程序文件,分别由分中心管理人员与技术人员进行编写。

2 建设实施

2.1 硬件设施建设

分中心硬件设施建设的重点在于保藏区的升级改造,通过对动研所内低温储存设备的统一调配,现将一台 3 m³ 液氮储罐、6 台中型液氮罐、3 台超低温冰箱及 1 台医用冷藏箱设置于保藏区内,供菌(毒)种样本保藏使用。以上储存设备采用以保藏分中心局域网为基础的智能化冷链管理。液氮系统通过液氮罐内液位传感器与电磁阀联动实现自动灌注,保证液氮不间断供应,确保样本安全。部分液相液氮罐被改造为气相液氮罐,既能保障了样本储存的低温环境,又可避免冻存管出罐爆裂、罐内交叉污染等风险的发生。所有低温储存设备的运行状态,包括温度、液位以及设备异常报警信息实时记录在 Cryomemo 远程监控系统中,并集中显示于保藏辅助工作区、办公区及监控室的终端显示屏上,实现全时、多屏的状态监测。

保藏机构的硬件建设不仅要满足样本妥善保存的要求,还应兼顾保藏区的安保系统。鉴于病原微生物的致病性、传染性等特点,保藏区一旦发生盗窃或泄露事件会引起极大的社会恐慌,甚至可能会引发疫情,危机人民健康安全,因此必须加强菌(毒)种保藏机构的综合防护,最大限度的降低意外风险。分中心通过门锁、门禁、红外报警、全覆盖的摄像系统以及安保人员定时巡逻,结合人防、技防、物防等多重安全保障措施,实现分中心的立体全方位防控。保藏区设置有七氟丙烷气体灭火装置,七氟丙烷是一种无色、无味、无残留物、不污染被保护对象、不损坏精密设备的洁净气体灭火剂。一旦发生火灾,气体灭火装置可在人员撤离后立即释放七氟丙烷气体,瞬间切断燃烧链,扑灭火灾,保护保藏设备及样本安全。同时,为防止液氮泄露导致人员窒息,保藏区设置氧气监测仪联动机械通风设备,当室内氧气含量低于 19% 时,通风设备自动启动,同时辅助工作区准备有供氧呼吸头罩、氧气瓶等设备供应急使用。

2.2 菌(毒)种样本库及数据库建设

保藏分中心现保藏病原微生物菌(毒)种的种类涵盖病毒、细菌及支原体,样本主要来源为动研所感染性疾病平台、实验动物质量保障平台以及由

国内外引进的菌(毒)种。整理、筛选现有样本进行,按照保藏体系中质量控制要求进行鉴定。样本入库前,样本管理员对冻存管进行编码建档,条码中包含了分中心代码、病原种类、入库日期、批次、管号等信息,作为每个冻存管的唯一识别码,使其具有可溯源性。样本管理员使用低温标签打印机(BRADY BBP™ 12)打印印有样本编码及其对应二维码的耐低温标签,将其粘贴于冻存管管壁及管底后,根据工作需要建立原始库、主种子库及工作库。原始库和主种子库的菌(毒)种保存于液氮罐中,工作库的菌(毒)种保存于超低温冰箱中。保藏分中心实验人员定期复苏样本进行鉴定,通过鉴定的样本可入库继续保存,未通过鉴定的样本则需进行销毁,再从上一级库存中重新扩增建库。样本库建设流程见图 1。

菌(毒)种数据库由 Bluechiip Stream 软件进行管理,实时同步样本库保藏情况。样本实体入库前,样本管理员使用低温标签读取器(Bluechiip Matchbox 4.1)扫描冻存管管壁二维码,在管理软件中入库,录入样本名称、编码、项目组、保藏人、位置等信息,生成保藏条目。同时打印纸质版样本入库记录,由保藏人及样本管理员签字,进行备案。在 Bluechiip Stream 管理软件中,样本管理员可方便快捷的对样本进行检索、统计等操作,定期打印保藏目录进行备份。在实验技术人员与管理人员的配合下,分中心完成现有样本的入库保藏工作,并对其相关的保藏信息进行了录入与统计,完成了菌(毒)种样本库及数据库的初步建设。

2.3 管理制度建设

保藏中心参考《实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008)^[11]建立了一套适用于菌(毒)种保藏的管理体系文件,包括《管理手册》、《程序文件》、《风险评估和风险控制文件及标准操作程序手册(SOP)》以及《记录表格》四级文件。层层细化,落实责任,实现了菌(毒)保藏工作中从人员、样本、信息、到设备、耗材、废弃物的全要素覆盖,从质量控制、信息保密、人员培训,到安全保卫、后勤保障、应急处理的全方位覆盖,以及从接收、鉴定、编码、入库、保存、到复苏、发放、运输、销毁的全流程覆盖。保藏分中心在运行前对规章制度以及所有操作的标准流程进行了反复的修订,保证对保藏工作

环环相扣。在保藏分中心正式运行后,分中心根据实际工作情况以及最新的政策标准,持续更新规章制度及工作流程,以保证其可行性及时效性,进而推动保藏中心安全有序运转。

2.4 人员队伍建设

分中心主要由两个科研平台和一个行政科室支撑,分别为感染性疾病平台、实验动物质量保障平台及实验室管理处。其中感染性疾病平台负责人兽共患病相关菌(毒)种的保藏工作,实验人员的专业背景多为微生物学、免疫学、比较医学等;实验动物质量保障平台负责实验动物相关菌(毒)种的保藏工作,实验人员的专业背景多为微生物学、动物医学等。实验室管理处作为生物安全管理部门,负责分中心日常实验活动及仪器设备的管理,相关人员具备生物安全管理背景,掌握保藏工作的国家

标准、安全及质量方针以及管理体系的各项流程及规定。分中心组织机构见图 2。

随着建设的不断完善,截止目前分中心共有 20 名从业人员,包括管理人员 6 人,实验技术人员 11 人及设施维护及档案管理人员 3 人。其中高级职称 10 人,中级职称 5 人。通过多次有针对性的岗前培训,包括体系文件学习、保藏操作技术规范培训、菌(毒)种运输管理培训、保藏区安全使用培训等等,不断加强工作人员的业务水平,保证所有人员持证上岗。目前的人员配置可满足保藏分中心的工作需求,根据工作开展情况,动研所将持续吸纳专业技术人才。在人员进行岗前培训外,分中心将每年定期举办培训,进行继续教育,并组织管理人员积极参加外部交流及学习,使管理及技术人员的业务能力不断提高,注重人才培养及人才梯队建设。

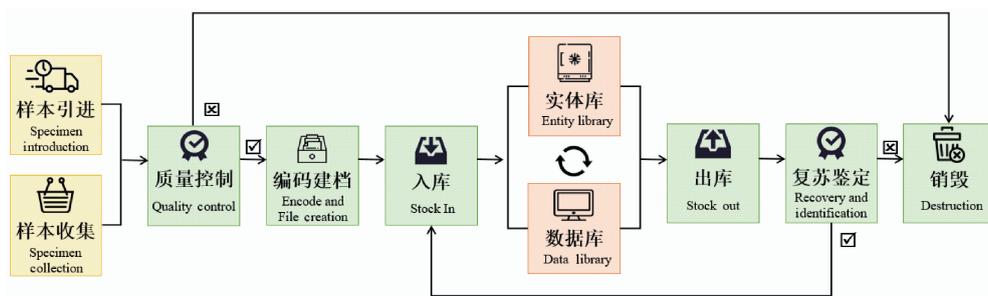


图 1 样本库建设流程

Figure 1 Sample library construction process

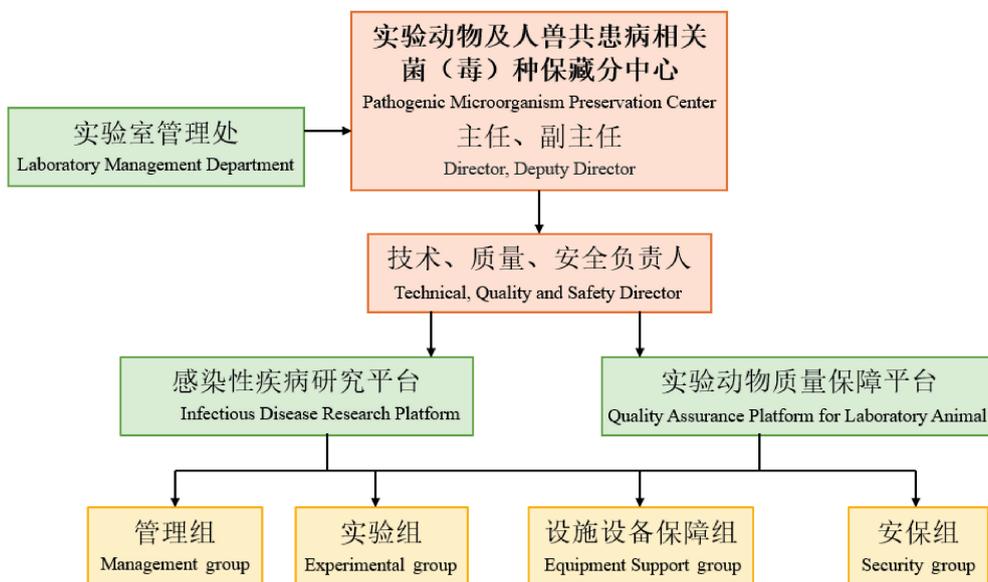


图 2 保藏分中心组织机构

Figure 2 Organization of pathogenic microorganism preservation center

3 讨论与展望

保藏分中心的建设是一项复杂且细致的系统性工程,既涉及到实验室管理部门、生物安全委员会、后勤部门、安全保卫部门对设施建设的规划及建设,又涉及到分中心不同功能分区的运行管理、设施设备维护、人员素质培训等等,必须经过科学的统筹规划、细心安排及综合管理,才能确保保藏分中心对病原微生物的保藏质量符合标准要求。

从历史背景来看,我国各保藏机构信息相对独立,难以进行保藏信息配对及交换^[4],这是限制我国保藏工作发展的重要因素之一。近年来,我国投入了大量资金打造国家科技资源共享服务平台,在完成国家卫生健康委规划的国家级保藏中心、专业实验室以及省级保藏中心指定工作的基础上,构建了由一个数据信息中心与若干实物中心组成的国家病原微生物保藏中心,形成全国统一数据标准的资源信息平台——“国家病原微生物资源库”^[12]。该平台已开展了一系列工作,包括搭建资源共享网络平台、梳理保藏目录、建立病原微生物资源数据描述规范、开展重要传染病病原微生物标准化鉴定关键技术研究等,逐步整合多个微生物资源保藏机构“联网”,旨在引领国家微生物资源规范管理、安全保藏与高效分享^[13],全面提升我国生物资源保护和可持续利用的综合能力,为我国科技发展与和谐社会创建提供根本保证^[1]。

菌(毒)种保藏管理工作是一项十分重要的专业性工作^[14],对现有微生物资源进行标准化整理、数字化表达,加大对菌(毒)种资源的收集和保护力度,增加资源的信息量,为社会提供更准确、广泛的信息,建设功能齐全的共享体系,促进微生物资源和信息的共享,保障微生物资源的安全和国家安全^[15],是菌(毒)种保藏机构建设的最终目标。

参考文献:

[1] 段子渊,黄宏文,刘杰,等.保存国家战略生物资源的科学

- 思考与举措[J].中国科学院院刊,2007,22(4):284-291.
- [2] 孙建宏,童光志,王笑梅.国内外主要微生物资源库简介[J].畜牧兽医科技信息,2005,(6):17-18.
- [3] 李梦童,王嘉琪,魏强.我国病原微生物菌(毒)种保藏工作现状与发展[J].转化医学电子杂志,2016,3(4):70-72.
- [4] 武桂珍.安全使用 保护资源——《人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构设置技术规范》解读[J].中国卫生标准管理,2010,1(3):43-44.
- [5] 中华人民共和国国务院.病原微生物实验室生物安全管理条例[EB/OL].http://www.gov.cn/gongbao/content/2019/content_5468882.htm,2018-03-19/2020-04-29.
- [6] 中华人民共和国卫生部.卫生部关于印发《人间传染的病原微生物名录》的通知[EB/OL].<http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/64601962954745c1929e814462d0746c.shtml>,2006-01-11/2020-04-29.
- [7] 中华人民共和国农业部.动物病原微生物分类名录[EB/OL].http://jiuban.moa.gov.cn/fwllm/zxbs/xzsk/spyj/201706/t20170606_5662361.htm,2005-05-24/2020-4-29.
- [8] 中华人民共和国卫生部.人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构设置技术规范:WS 315-2010[S].2010.
- [9] 顾金刚,姜瑞波.微生物资源保藏机构的职能、作用与管理举措分析[J].中国科技资源导刊,2008,40(5):53-57.
- [10] 中华人民共和国卫生部.人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构管理办法[EB/OL].<http://www.nhc.gov.cn/wjw/bmgz/200907/621f72dd1d7745aeb3caca90e37140df.shtml>,2009-07-16/2020-04-29.
- [11] 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].2008.
- [12] 姜孟楠,王嘉琪,魏强.人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构运行与管理探讨[J].病毒学报,2018,34(3):399-401.
- [13] 李一丁.全球微生物遗传资源获取规则动态、中国问题与完善建议[J].中国科技论坛,2019,(11):21-29.
- [14] 魏强,武桂珍.医学病原微生物菌(毒)种的保藏管理[J].中华预防医学杂志,2009,43(4):331-332.
- [15] 陈敏.强化兽医微生物菌种资源管理,加快兽医微生物菌种资源平台建设,实现兽医微生物菌种资源有效共享[A].中国畜牧兽医学会.中国畜牧兽医学会2004学术年会暨第五届全国畜牧兽医青年科技工作者学术研讨会论文集(下册)[C].中国畜牧兽医学会:中国畜牧兽医学会,2004.

[收稿日期]2020-05-15