

弓形虫实验室生物安全风险评估

熊彦红 郑彬*

【摘要】 该文从弓形虫生物学背景资料、实验活动可能产生的危害、实验人员的相关风险分析以及其他相关因素分析等方面对弓形虫实验室生物安全进行初步的风险评估, 为从事弓形虫相关操作的实验室人员做好风险评估及生物安全防护工作提供依据。

【关键词】 弓形虫; 实验室生物安全; 风险评估

Risk assessment on laboratory biosafety of *Toxoplasma* Xiong Yanhong, Zheng Bin*. National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, WHO Collaborating Centre for Tropical Diseases, Shanghai 200025, China
Supported by Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning (20134430)

*Corresponding author: Zheng Bin, Email: cdcipdzhengbin@126.com

【Abstract】 This study conducts a preliminary risk assessment of *Toxoplasma* based on the biological background information, potential hazards in experimental activities, the risk analyses on laboratory personnel and other relevant factors, in order to provide the evidence of related risk assessment report and the appropriate personal protective equipment and techniques for the laboratory staff.

【Key words】 *Toxoplasma*; Laboratory biosafety; Risk assessment

弓形虫是一种寄生于人和动物体内的原虫, 可寄生于几乎所有有核细胞内, 因滋养体似弓形或半月形而得名。该虫呈世界性分布, 人和许多动物都能感染, 引起人畜共患弓形虫病。在对该原虫开展实验室研究的过程中, 实验人员进行采样、粪检、动物接种等实验操作时都会暴露于物理、化学和生物性等危险因素中, 存在实验室感染的风险性。本文从生物学背景资料、实验活动可能产生的危害、实验人员的相关风险分析以及其他相关因素分析等四个方面对弓形虫实验室生物安全进行了初步的风险评估, 以期从从事弓形虫相关操作的实验室人员做好生物安全防护工作提供依据。

1 生物学背景资料

弓形虫最早发现于刚地梳趾鼠 (*Ctenodactylus gondii*) 体内单核细胞中, 其虫体呈弓形, 是一种能寄生于人体几乎所有有核细胞内的原虫, 猫科

动物为其唯一终末宿主, 其他哺乳动物、鸟类和人类都可成为其中间宿主。其发育全过程有滋养体(包括速殖子和缓殖子)、包囊、裂殖体、配子体和卵囊等5种生活史阶段, 临床上有诊断价值的为速殖子(假包囊)和包囊^[1-2]。

1.1 传染源

随粪便排出弓形虫卵囊的猫科动物是最重要传染源, 其次为感染弓形虫的哺乳动物、鸟类等温血动物。弓形虫可通过胎盘感染胎儿, 故受感染的母亲也是传染源。

1.2 环境中的稳定性

具有感染性的卵囊具双层囊壁, 对外界抵抗力较大, 对酸、碱、消毒剂均有相当强的抵抗力, 在室温可生存3~18个月, 猫粪内可存活1年, 对干燥和热的抗力较差, 80℃ 1 min即可杀死, 因此加热是防止卵囊传播最有效的方法。

1.3 传播途径

先天性弓形虫感染是指经母体胎盘感染胎儿, 获得性弓形虫感染是指经人体消化道黏膜、损伤皮肤、输血、器官移植等途径传播。人类对弓形虫普

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2015.05.013

基金项目: 上海市卫计委委级课题 (20134430)

作者单位: 200025 上海, 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 世界卫生组织热带病合作中心

*通信作者: 郑彬, Email: cdcipdzhengbin@126.com

遍易感,尤其是胎儿、婴幼儿、饲养或接触猫犬等宠物者、动物饲养员、屠宰工以及各种免疫功能低下或缺陷者。

1.4 潜伏期及致病性

卵囊破出上皮细胞进入肠腔,随粪便排出体外,在适宜温、湿度环境中经2~4 d即发育为具感染性的成熟卵囊,猫吞食不同发育期虫体后排入卵囊的时间不同,通常吞食包囊后约3~10 d就能排出卵囊,而吞食假包囊或卵囊后约需20 d以上。感染的猫一般每天可排出10 00万卵囊,排囊可持续约10~20 d,其间排出卵囊数量的高峰时间为5~8 d,是传播的重要阶段。

弓形虫病分为先天性和获得性二类。先天性弓形虫病只发生于初孕妇女,经胎盘血传播。感染胎儿或婴儿多数表现为隐性感染,有的出生后数月甚至数年才出现症状;也可造成孕妇流产、早产、畸胎或死产,尤以早孕期感染、畸胎发生率高。研究表明,婴儿出生时出现症状或发生畸形者病死率为12%,而存活中80%有精神发育障碍,50%有视力障碍。脑积水、大脑钙化灶、视网膜脉络膜炎和精神运动障碍为先天性弓形虫病典型症候。此外,可伴有全身性表现,如在新生儿期即出现发热、皮疹、呕吐、腹泻、黄疸、肝脾肿大、贫血、心肌炎、癫痫等。融合性肺炎是常见的死亡原因之一。获得性弓形虫病可因虫体侵袭部位和机体反应性不同而呈现不同的临床表现。无特异症状,须与有关疾病鉴别诊断。其发生多数与职业、生活方式、饮食习惯有一定关系。淋巴结肿大是获得性弓形虫病最常见的临床类型,多见于颌下和颈后淋巴结。其次弓形虫病常累及脑、眼部,引起中枢神经系统异常表现,多见于免疫功能低下者,常表现为脑炎、脑膜脑炎、癫痫和精神异常。弓形虫眼病以视网膜脉络膜炎多见,成人表现为视力突然下降,婴幼儿可见手抓眼症,对外界事物反应迟钝,也有出现斜视、虹膜睫状体炎、色素膜炎等,多见双侧性病变,视力障碍且常伴全身反应或多器官病损。

多数隐性感染者,当患有恶性肿瘤,施行器官移植,长期接受免疫抑制剂、放射治疗、细胞毒剂等医源性免疫受损情况下或先天性、后天性免疫缺陷者,如艾滋病患者、孕期妇女等都可使隐性感染状态转为急性重症,使原有病症恶化。据美国疾病预防控制中心报告,在14 510例艾滋病患者中并发弓形虫脑炎者有508例,大多在2~8个月内死亡。

另有资料表明在81例弓形虫患者中伴有何杰金氏病者32例,淋巴瘤9例,白血病15例。

1.5 治疗

对急性期患者应及时进行药物治疗。乙胺嘧啶、磺胺类对增殖期弓形虫有抑制生长的作用,但目前尚无理想的特效药物。常用制剂为复方新诺明(co-trimoxazole),亦可与乙胺嘧啶联合应用提高疗效。而孕妇忌用,可替以螺旋霉素(spiramycin),其毒性小,在器官分布浓度高,目前为孕妇首选药。疗程中适当配伍免疫增强剂,可提高宿主的抗虫功能,发挥辅佐作用。

2 实验活动可能产生的危害

在实验室从事弓形虫实验室相关活动,包括检验、诊断、研究等的实验室工作者可能接触的危险样本包括污染粪便、动物组织、污染材料、培养物、实验室废物等。如果实验人员吞食了粪便样本中的成熟卵囊,或者经皮肤黏膜接触了人或动物组织中的缓殖子和速殖子,就有可能发病。此外还有许多不明原因的实验室相关感染,实验室的许多操作如离心、匀浆、超声、移液操作、搅拌后立即打开搅拌器盖及摔碎带有培养物的平皿等,均会产生不同程度的气溶胶,对实验人员造成不同程度的危害^[3]。

已报道实验室感染弓形虫病的病例有10例^[4-7],这些只是实验室获得性感染的一部分。此外,还有一些疑似实验室获得性刚地弓形虫感染以及文献中提及但未详述的感染。在20世纪40年代至90年代间,共发生48例实验室获得性感染,其间,40、50、60、70、80、90年代及21世纪初实验室意外感染病例数分别为4、18、9、7、6、3和1例,报告病例最多的是50年代。有可靠资料来源的46例中,有23例患者(占总数一半)来自美国,澳大利亚1例、欧洲20例、亚洲2例(包括中国1例)。以上案例中,33例(包括我国南方某大学1名研究生)的感染途径分别为:黏膜暴露8例、注射器针刺14例、破损皮肤1例、实验动物咬伤1例、误食9例,另13例感染途径不明。20例患者的平均潜伏期为8.5 d(3 d至2个月)。除了2例潜伏期为2个月,其余的潜伏期都不超过13 d。有9名患者无临床症状,仅有血清学检测依据。有临床症状的39例中有4例并发脑炎,其中2名伴心肌炎的患者死亡。

一些学者对实验室事故感染的危险因素进行了研究。在英国,有学者以病例对照研究评价实验室

工作与感染刚地弓形虫的风险相关性。在3组16个病例中,都检测到了抗弓形虫抗体。在年龄或性别配对的常规微生物实验室和普通人群中抽取样本的对照研究中,前者没有血清抗弓形虫抗体阳性者,后者有3例。在实验室A从事弓形虫研究的人员中,有3例弓形虫实验接触史(例如针刺伤、皮肤眼睛泼溅),在每27 750人小时中有3例发生感染事故或每9 300人小时有1次意外感染。其中两名患者采用了假定性抗虫治疗,然而治疗后血清检测均未转阴。美国的实验室B,在1980年至1999年之间,有30~40名从事弓形虫研究的工作人员进行了血清监测,在从事该研究开始工作前只有1人血清抗弓形虫抗体阳性。从事该工作后有4人意识到发生了实验室事故,其中3人被针头刺伤,1人不慎把含有刚地弓形虫的液体溅入了眼睛。其中2人血清学检测转阳。该4例均发生于进入实验室工作的数月之内^[3-9]。

实验室感染发生的主要原因是皮肤或眼睛接触感染性样本,有的是因为污染的针头刺伤、划伤,有的是因为被带虫的动物咬伤而感染,更有不明原因感染。

3 实验人员相关的风险分析

开展实验室人员的通用知识技能培训,主要包括实验室工作的基本知识和基本技能,以保证实验室人员树立安全意识,遵守规范、标准的操作规程。每一个实验室人员必须进行下列培训:国家有关传染病防治、生物安全的法律、法规、条例;卫生部实验室工作规章制度;实验室基本操作标准、规范;实验室设备的使用和维护;实验室生物安全和个人防护;实验室清洁及消毒方法。

开展实验室人员的专项知识技能培训,主要是针对弓形虫知识背景的培训。包括:生物安全实验室工作的特殊要求;弓形虫虫种收集、保藏、运输、使用和销毁的要求;生物安全知识和事故应急处理技能培训。实验室严格执行准入制度,实验室所有人员上岗前需进行生物安全相关知识和技能培训并考核合格;对实验室管理者还应进行管理能力和处理紧急事故能力的测评。

建立实验室人员健康档案。新工作人员进实验室前必须进行本实验室规定项目的体检,如血清学抗体检测、病原分离等;每年最少一次为本实验室职工提供相关项目体检,项目包括内科常规检查,血常规、尿常规检查,肝功能、肝、脾B超,心电图,抗体检测,血凝抑制试验。

实行健康监测报告。建立监测网,有关人员必

须每天监察实验人员健康状况。实验室人员必须在身体健康状况良好的情况下,才能进入实验室工作。

4 建议

虽然弓形虫尚未列入《人间传染的病原微生物名录》,但仍应该确立其生物安全防护级别,以保护实验室人员,建议采取BSL-2级水平的操作技术和设施。

实验过程中应重视危险的存在,实验中必须做好个人防护,如戴手套和口罩、护目镜等。防止针头误刺是预防实验室感染的重要措施,进行活卵囊的分离纯化或培养操作应在二级生物安全柜中进行。

为了预防弓形虫感染,对被卵囊污染的器具和防护镜应进行消毒处理,普通的化学试剂不能起到杀灭作用。免疫功能低下的人群,如孕妇和育龄期妇女应避免从事弓形虫的相关工作。

如果存在感染可能,采取假定性治疗可以避免出现临床症状,在一定程度上可阻止疾病的进展或降低致残的概率。

参 考 文 献

- [1] 吴观陵. 人体寄生虫学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社, 2013: 161-177.
- [2] 李雍龙. 人体寄生虫学[M]. 8版. 北京:人民卫生出版社, 2013: 67-71.
- [3] 王宇. 实验室感染事件案例集[M]. 北京:北京大学医学出版社, 2007: 202-206.
- [4] Rawal BD. Laboratory infection with *Toxoplasma*[J]. J Clin Pathol, 1959, 12(1): 59-61.
- [5] Remington JS, Gentry LO. Acquired toxoplasmosis: infection versus disease[J]. Ann NY Acad Sci, 1970, 174(2): 1006-1017.
- [6] Field PR, Moyle GG, Parnell PM. The accidental infection of a laboratory worker with *Toxoplasma gondii*[J]. Med J Aust, 1972, 2(4): 196-198.
- [7] Partanen P, Turunen HJ, Paasivuo RT, et al. Immunoblot analysis of *Toxoplasma gondii* antigens by human immunoglobulins G, M, and A antibodies at different stages of infection[J]. J Clin Microbiol, 1984, 20(1): 133-135.
- [8] Herwaldt BL, Juranek DD. Laboratory acquired malaria, leishmaniasis, trypanosomiasis, and toxoplasmosis[J]. Am J Trop Med Hyg, 1993, 48(3): 313-323.
- [9] Herwaldt BL. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures[J]. Clin Microbiol Rev, 2001, 14(4): 659-688.
- [10] 祁国明. 病原微生物实验室生物安全[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社, 2006: 5-48.
- [11] 魏强, 武桂珍, 侯培森. 实验室生物安全风险现状与发展[J]. 中华预防医学杂志, 2007, 41(6): 447-450.

(收稿日期: 2015-06-05)

(本文编辑: 孙雅雯, 陈勤)