

## 7. バイオセーフティ上の問題に関する研究： ワクチニアウイルス等の安全な取り扱い

研究協力者 杉山和良（国立感染症研究所バイオセーフティ管理室長）

**研究要旨** ワクチニアウイルス等のバイオハザードの発生例および米国における病原体取り扱いについて調べ、そのバイオセーフティレベル（BSL）は2であることを確認した。米国のBSL 2についての基準微生物学的実験操作法、固有の運営操作法、安全防具（第一次バリアー）および施設（第二次バリアー）について調査し、ワクチニアウイルス等の安全な取り扱いにあたっての基準を明らかとした。

A. 研究目的  
ワクチニアウイルス等を安全に取り扱うための方策の基準を作成する。

B. 研究方法  
文献による情報収集。実験室の運営法についての実地調査。

C. 研究結果  
1) 実験室バイオハザードと病原体危険度分類

1976年のPikeによる実験室バイオハザードの発生調査報告によれば1930年から1974年間に3,921例の発生があり、細菌、ウイルスおよびリケッチアがそれぞれ43、27および15%となっている。ワクチニアと天然痘ウイルスによる発生件数は18例で死亡者はない。発生率はウイルスのなかの1.7%である。また、アレナウイルスによるものは19例であった。ウイルスで最も多いのが肝炎ウイルスで234例(22.3%)で、うち1名が死亡している。従って、ワクチニアと天然痘ウイルスによるものは発生件数としては少なく、ハザードとしての問題も比較的低いものと思われた。一方、1973年の下條らによる、1963年から1972年における国内のバ

イオハザード発生調査報告によると、61名の発生があり、最も頻度の高いものがインフルエンザウイルスで、次がHBウイルス、リケッチア、ワクチニアの順であった。この中には、指の傷からワクチニアウイルスが入り、ポック形成があった例がある。

1973年にロンドン大学衛生熱帯医学部の研究技術者等に痘瘡が発生し4名中2名が死亡した。この事件の原因解明調査の結果、多くの問題点が明らかとされ、その後、実験室立ち入りの制限、防御衣等の消毒、病原体保管、安全キャビネット（BSC）の必要性、ワクチン接種記録の管理等のバイオハザード対策を講ずるうえで極めて有益であった。また、接触者の追及とその対応が容易ではないという教訓も残した。

米国における初期の病原体分類ではワクチニアはレベル2（一般的に通常の実験室内予防措置で予防し得るもの）、痘瘡はレベル3（予防にあつて特殊な条件を必要とする）とされた。天然痘根絶後は痘瘡はレベル4（予防にあつて最高級の嚴重な条件を必要とする）になった。我が国においては感染研で1981年に病原体等安全管理規程でそれぞれレベル2とレベル4と規定され、今日に至って

いる。

## 2) バイオセーフティレベル (BSL) 2

米国の病原体取り扱いマニュアルにおける BSL 2 は、実験者個人やその周辺への中等度のハザードが想定される病原体を扱う作業に適用される。以下の基準を満たすことが要求されている。

実験者は病原体の扱いに習熟しており、監督者として適格な科学者が指導する。

### a) 基準微生物学的実験操作法

実験者は、生物材料や動物を扱った後、手袋をはずし、実験室を出る前に手を洗う。

飲食、喫煙、コンタクトレンズの使用、化粧等は、作業区域ではしてはならない。

口でピペット操作をしてはならない。

すべての操作は、はねやエアロゾルの発生を最小限にするよう注意して行う。作業面は少なくとも 1 日 1 回、およびいかなる生物の入った液体をこぼした際にも、滅菌消毒を行う。

すべての培養、材料、その他の規制されている廃棄物は捨てる前に、オートクレーブのような認められている方法で滅菌処理されねばならない。

### b) 固有の運営操作法

感染性病原体を用いた作業中には、実験室への入室は監督者の判断で規制、あるいは制限する。一般に、感染のリスクが高い人や感染にとくにかけやすい人は、実験室への入室を許してはならない。例えば、免疫不全や免疫抑制状態の人は、感染を受けるリスク状態にある。実験室の監督者には、各々の事情を評価し、実験室への入室、実験室での作業をするのを誰にするか決める最終責任がある。

実験室の責任者は、ハザードの可能性について注意を受け、特別の入室の要求を満たしている者（例えば、ワクチン免疫）のみが実験室や動物室へ入室

できる方策と方法を確立する。

感染性病原体が実験室内で用いられている時は、入室のための特別の条件（例えば、ワクチン免疫）と、一般的なバイオハザードマークを、実験作業区の入室ドアに貼りつけておく。ハザードマークには、扱われている感染性病原体、実験室の監督者や他の責任者の名前と電話番号を記し、入室のための特別必要事項も指示しておく。

実験者は、適切なワクチン接種や実験室内で扱ったり感染する可能性のある病原体のテストを受ける。（例えば、B 型肝炎ワクチン、結核の皮膚テスト等）

適切な折りに、扱う病原体を考慮し、実験室や他のリスクのある人々の事前血清サンプルを採取し、保存する。以後の血清は、扱う病原体や施設の機能により一定期間毎に採取する。

バイオセーフティマニュアルを作成するか、採用する。実験者は、別のハザードの注意を受け、実験操作や技術に関する説明書を読み、それに従うことが要求される。

実験室で作業するひとは、作業に伴うハザードの可能性と、暴露を防ぐために必要な予防手段、暴露の評価法に関する適切な研修を受ける。実験者は毎年新しいことを学び、操作方法や施設が変わったときには必要に応じ研修を受ける。

汚染した鋭利なもの、針つき注射器、ガラス、ピペット、毛細管、外科用ナイフ等すべてに対して、細心の注意を常に払わねばならない。針つき注射器や他の鋭利な器具の使用は、非経口的注射、放血、実験動物や陰圧びんからの液の採取といった、代替法がない場合のみに限るべきである。

針を注射器に固定した、あるいは針つき注射器（針が注射筒に固定されてい

る)は感染材料の注射や採取のみに用いる。使用済みの使い捨て針は曲げたり、切断したり、こわしたり、キャップをしたり、使った注射筒からはずしてはならない。また捨てる前に手で取り扱うべきではない。むしろ、それらは近くにある鋭利なものを捨てる、穴のあかない耐久性の容器に注意して入れる。使い捨てにできない鋭利なものは、消毒滅菌(オートクレーブが望ましい)の区域に運べるように壁の厚い運搬容器に入れる。針をつけかえる注射筒、針のないシステムや他の安全な器具は、目的に沿って使わねばならない。こわれたガラス製品は手で直接取り扱ってはならず、ブラシとちりとり等の器具を用いて取り除かねばならない。汚染針、鋭利な器具、こわれたガラス等の容器は、都・県・市等の規制法に従って捨てる前に滅菌消毒する。培養、組織、体液材料は、それらを収集し、取り扱い、保存し、運搬し、他へ送る等の間に、漏れ出ぬよう防護した容器に入れる。

実験室の器具、作業域表面は、感染性材料により汚染を受けた時には、常に適当な消毒剤で消毒されねばならない。汚染器具はその地方の規制のどれかに従って、修理、維持管理に出したり、その地方の規制に適合して輸送のために包装して、施設から出してしまいう前に汚染除去をせねばならない。感染性材料に暴露されるような液をこぼしたり、事故が生じたときは、直ちに実験室の責任者に報告する。診察、サーベイランス、治療を適切に行い記録にのこすべきである。

そこで行われる作業に無関係の動物は、実験室に入れるべきではない。

c) 安全防具(第一次バリアー)

適切に維持されているBSC[特にクラスIIの]、あるいは他の適切な実験

者個人を守る防具、または物理的封じ込め設備は常に用いられる。感染性エアロゾルやはねを生じさせる可能性のある操作としては次のものがあげられる。遠心、すりつぶし、攪拌、強い振とうや混合、超音波破碎、感染性材料が入っている缶内圧が外の圧と異なっているときの開缶作業、動物の鼻腔内接種、動物卵から感染組織を採り出す等である。感染病原体を高濃度であるいは大量に用いる場合、そのような材料はローターの蓋を閉めたり、遠心等の安全キャップがつけられている時は、一般実験室で遠心できるが、これらのローターや安全キャップは、BSCの中以外で開けてはならない。病原体をBSCの外で扱わねばならない場合には、感染性あるいは他のハザード材料の予想されるはねやしぶきが顔面にとぶのを防ぐため、顔面防具(ゴーグル、マスク、顔面おおいあるいは他のはね防御具)を用いる。

実験室内では、防護のため実験着、ガウン、上っ張り、あるいは実験室用に作られたユニフォームを着用する。実験室区域外(カフェテリア、図書館、事務室等)へ出る前には、これらの防衣は実験室内で脱いで、室内に置いておく。すべての防衣は実験室内で処理するか、研究所内で洗濯されるべきで、個人の家に持ち帰ってはならない。

感染動物を取り扱う場合、手が感染材料、汚染表面や機器に触れそのような時には手袋をつける。二重に着用するのがよい。そうすると液がこぼれたり、はねが生じてても、汚染手袋をはずすことで手は防御される。手袋は感染性材料操作が終わったとき、汚染したときははずして処理し、実験室外でつけてはならない。使い捨て手袋は洗ったり、再使用してはならない。

d) 実験施設(第二次バリアー)

各実験室毎に手洗い用流しを設ける。  
実験室は清掃が容易なように設計する。  
室内の敷物はよくない。液体をこぼした場合、汚染除去するのは極めて難しいので用いてはならない。  
実験机表面は、水を通さず、酸、アルカリ、有機溶媒、中等度の熱に耐性とする。  
実験室の設備品は丈夫なものとし、ベンチ、キャビネット、機器の間は清掃しやすくする。実験室に開放性の窓がある場合には、防虫網をつける。感染性ないし規制実験室の廃棄物の汚染除去の方法を用いる。（例えば、オートクレーブ、化学消毒、焼却炉や他の認められた汚染除去方法）  
眼洗浄装置を備える。

#### D. 考察

実験室で発生したバイオハザードを分析することで何がハザードの要因であるかが解析され、感染性エアロゾルを含む気流管理が重要であることが判明した。病原体の捕捉を過のためにHEPAフィルターが開発された。それを組み込んだBSCが1970年代に開発されその導入後は感染性エアロゾルによるハザードは激減した。したがって、BSCは病原体等の取り扱いに必須なものとなった。病原体のBSL分類が行われそれに対応した実験室設備、BSC等の安全装置および実験室運営方法の組み合わせで安全を確保するという考えが一般化した。BSL2の運用による病原体の取り扱いでワクチニア等を安全に取り扱うことが可能である。一般的に、有効なワクチンがあれば取扱者は接種すべきである。天然痘根絶にともない種痘が行われていない現状であるが実験室で組み換え実験等でワクチニアウイルスを取り扱う者はワクチン接種をすることが望まれる。

#### E. 結論

ワクチニア等の病原体等の取扱についてワクチニア等の研究を行う機関がそれぞれ病原体安全管理規程を作成し安全管理体制を構築する必要がある。安全管理者はワクチニア等の病原体の受け入れ等の移動についてまた実験室における取り扱いについて十分把握していなければならない。実験室の責任者および研究班リーダーは、ワクチニア等を取り扱うBSL2実験室とそれに必要な十分な安全装置および機器について、日常的に管理を行うとともに、ワクチン接種を含む健康管理を実行することで、実験室バイオハザードは防げると考えられる。ハザードは人的要素によることが極めて高いことを常に認識しつつ実験を行う必要がある。したがって、取扱者の病原体取扱についての安全教育を繰り返し行う必要がある。

#### F. 研究発表

無し