

# DRAFT

と。

## 糞便の標本

- ◆ 清潔で乾いた漏れないねじ蓋式容器とテープ
- ◆ 幼児から採取した直腸綿棒の輸送には適切な細菌用輸送培地
- ◆ 寄生虫輸送パック：10%ホルマリン水溶液、ポリビニル・イソプロピルアルコール（PVA）。

## 呼吸管の標本

- ◆ 細菌用及びウイルス用輸送用媒質
- ◆ ダクロン及び綿棒
- ◆ 舌圧子
- ◆ たわみ線アルギン酸カルシウムを付けた綿棒（百日咳が疑われる場合）
- ◆ 鼻鏡（百日咳が疑われる場合－必須ではない）
- ◆ 吸引器又は 20－50ml の注射器
- ◆ 滅菌済みねじ蓋式チューブ、滅菌済み広口瓶（最低 25ml の容量があること）。

## 皮膚病変の標本

- ◆ 滅菌済み生理食塩水
- ◆ 滅菌済み綿棒と適切な輸送媒質
- ◆ 滅菌済みねじ蓋式バイアル
- ◆ 滅菌済みランセット又は針（小胞に穴を開けるために）
- ◆ 口径の大きい針を付けた注射器（膿瘍／横痃の吸引用）
- ◆ 広口ねじ蓋式容器（生検標本用）
- ◆ スライドガラスとスライドボックス

## 尿標本

- ◆ 蓋付きの滅菌したプラスチック・カップ（内容量 50ml 以上）
- ◆ 清潔なねじ蓋式標本輸送用容器（「ユニバーサル」・コンテナーがよく使われる）

# DRAFT

- ◆ ガーゼのパッド
- ◆ あれば石鹼と清潔な水（又は一般的な生理食塩水）

## 死体解剖標本

- ◆ バリア・プリコーション：二重手袋、滅菌ガウン、ゴーグル、マスク
- ◆ 血液その他の液体採取用具はそれぞれの項目を参照して下さい。
- ◆ 組織採取時には無菌の外科用及び生体検査用道具類。
- ◆ 固定剤：組織学用の塩水で希釈したホルマリン
- ◆ 滅菌済み生理食塩水、適当なウイルス及び細菌輸送用媒質
- ◆ 滅菌済み容器、滅菌済みねじ蓋式チューブ又はバイアル、スライドガラスとスライドボックス
- ◆ 10倍に希釈した家庭用漂白剤のような消毒剤

## 死体皮膚生体検査

- ◆ パンチ生検査器具、又は鋏と鉗子
- ◆ 滅菌済み生理食塩水を入れたねじ蓋式バイアル

## 高い感染リスクを伴う病原体の診断のための死体皮膚生体検査（例えばエボラ出血熱）

- ◆ 以下の器具はひとつのキットに入っている。バイオセーフティーの観点から防護服と手袋は一度使用したものは使ってはならず、使用したものは焼却処分せねばならない。
  - 消毒液、バケツ、石鹼、水
  - ガウン、ラテックス・グローブ、頑丈な手袋、プラスチック・エプロン
  - マスク、入手可能であればエアロゾル防御呼吸マスク

## 2.6. 安全手技

（出典 森田公一：「標準微生物学、第二章環境と微生物、IV バイオセーフティー」2005年、監修者山西弘一、発行者株式会社医学書院、61ページ、「Laboratory biosafety manual, 3<sup>rd</sup> edition」2004年、WHO、69～77ページ）

# DRAFT

実験室でのバイオセーフティーは施設や機材によってのみ保証されるものではない。実験者1人ひとりが安全手技に精通し適切に機器を使用することも極めて重要な要素であり、望ましい安全な実験手技を世界保健機関（WHO）では GMT（Good microbiological technique）と称している。GMT にはピペットの使用方法の注意点、注射針をつけた注射器をピペット代わりに使うことの禁止、実験後の実験台の消毒方法、安全キャビネットの利用手順、ラテックス・グローブ、マスク、キャップ、ゴーグルの着用、プラスチック器具（ピペットなど）使用促進、採血処理や遠心機およびミキサー利用上の注意点、廃棄物の処理、病原体の輸送方法など115項目に及ぶ。

微生物実験に携わる場合には実験を開始する前にこのような GMT をよく習熟し、使用する病原体に対応した封じ込めレベルの実験室において研究を実施しなければならない。

参考として、WHO のバイオセーフティー・マニュアルに述べられている「実験室手技（Laboratory Techniques）の項目を挙げておく。

## 1. 実験室での検体の安全な取り扱い方 Safe handling of specimens in the laboratory

- 検体容器 specimen containers
- 施設内での検体の運搬 transport of specimens within the facility
- 検体の受領 receipt of specimens
- 容器の開封 opening packages

## 2. ピペット使用及びピペットエイドの使用 Use of pipettes and pipetting aids

- (a) 常にピペット補助を使用すること。口を使ったピペット操作は禁止しなければならない。
- (b) ピペットはすべてピペット装置の汚染を軽減するための棉の栓を付けなければならない。
- (c) 感染症媒介物質を含む液体を通して空気が吹き出されてはならない。

# DRAFT

- (d) 感染性材用はひとつのピペットを通して交互に吸引と排出をされることにより混合されてはならない。
- (e) 液体はピペットから強制的に排出されてはならない。
- (f) mark-to-mark pipettes は最後の一滴の排出をしなくて良いので他のピペットより望ましい。
- (g) 汚染されたピペットの廃棄にあたって、廃棄の前にピペットを適当な壊れない容器に入った殺菌剤に完全に浸し、適切な期間そのまま置いてから廃棄すること。
- (h) ピペットの廃棄用容器は生物学的安全キャビネットの内部に設置し、外部には設置しない。
- (i) 皮下注射針を装着した注射器は決してピペットとして使用してはならない。
- (j) ピペットの使用を可能にし皮下注射針と注射器の使用を回避できる septum-capped bottles 開栓装置を使うこと。
- (k) ピペットから滴り落ちた感染性材用の分散を防止するため、作業スペース表面には吸湿剤を置くこと。これは使用後感染性廃棄物として廃棄すること。

### 3. 感染性材用の飛散回避 Avoiding the dispersal of infectious materials

- (a) 時期尚早な in order to avoid the premature shedding of their loads, microbiological transfer loops should have a diameter of 2-3mm and be completely closed. The shanks should be not more than 6 cm in length to minimize vibration.
- (b) むき出しのブンゼンバーナーの炎の中で感染性材用の飛散するリスクは、transfer loops の消毒に閉鎖された電子超小型焼却炉 microincinerator を使用することで回避しなければならない。
- (c) 唾液や痰の標本を乾燥させる際にエアロゾル化を避けるよう注意しなければならない。Care should be taken when drying sputum samples, to avoid creating aerosols.
- (d) 標本や培養物の廃棄物でオートクレーブ処理をされるものや廃棄されるものは、実験室用の廃棄袋のような漏出防止容器に入れなければならない。廃棄物容器に捨てる前に

# DRAFT

そういった漏出防止容器の天辺が（例えばオートクレーブ・テープで）しっかり封されていることを確認しなければならない。

- (e) 作業エリアは作業期間が終わるたびに適切な殺菌剤で汚染除去されなければならない。

## 4. 生物学的安全キャビネットの使用 Use of biological safety cabinets

- (a) 生物学的安全キャピネットを使用する可能性のある者全員に使用方法と限界を国家規格や関連文書に準拠して周知しなければならない。書面にした手順や安全マニュアルもしくは操作マニュアルを職員に与えなければならない。特に、キャビネットを使用しても漏出、破損あるいは技術不足による事故から使用者を保護するものではないことを明示しなければならない。
- (b) キャビネットは正常に機能していなければ使用してはならない。
- (c) キャビネットの使用中にガラスののぞきパネルを開けてはならない。
- (d) キャビネットには最低限の装置と材料しか入れてはならない。後部プレナムの空気循環は阻害されてはならない。
- (e) ブンゼン・バーナーをキャビネット内で使用してはいけない。熱が空気の流れを歪め、フィルターを損傷するかも知れないからである。Electric Microincinerator は許容範囲だが、sterile disposable transfer loopの方が好ましい。
- (f) 全ての作業が作業面の中央から後ろよりの部分で行われ、覗きパネルを通して見えなければならない。
- (g) 作業者の背面の人や物の行き来は最小限に抑えられなければならない。
- (h) 作業者は腕を繰り返し出し入れすることにより空気の流れを妨げることを慎むべきである。
- (i) Air Grill をメモ、ピペットやその他の道具で塞いではいけない。塞ぐと空気の流れが阻害され道具の汚染、ひいては作業者の暴露につながりかねないからである。
- (j) 作業終了後と一日の終わりに生物学的安全キャビネットの表面を適切な消毒剤を使って拭かねばならない。

# DRAFT

- (k) キャビネットでの作業開始前と作業終了後に少なくとも5分間はキャビネットの換気扇をオンにしていなければならない。
- (l) 事務書類は生物学的安全キャビネットの中に入れてはならない。

## 5. 感染性材用の摂取及びそれらと皮膚や目との接触回避 Avoiding ingestion of infectious materials and contact with skin and eyes

- (a) 微生物の取り扱い時に飛散した大きな粒子や小滴（直径5  $\mu\text{m}$  以上）は作業台表面や取扱者の手に素早く付着する。使い捨て手袋を装着し、実験室で作業する者は口、目、顔を触らないようにしなければならない。
- (b) 食べ物や飲み物は実験室内で保存したり、飲食してはいけない。
- (c) 実験室内ではペン、鉛筆、チューインガム等いかなるものも口の中に入れてはいけない。
- (d) 実験室内で化粧をしてはいけない。
- (e) 感染性材用であるかもしれない物質が飛び散りかねない操作を行う際はいつでも顔、目、口を覆うか何かで保護しなくてはならない。

## 6. 感染性材用の注入回避 Avoiding injection of infectious materials

- (a) 破損したガラス製品やそのかけらで感染性材用を植えてしまう事故は、習慣や手順に注意を払うことで防止できる。ガラス製品は可能な限りプラスチック製品に置き換えるべきである。
- (b) 皮下注射器（注射針）、ガラスのパスツールピペットや壊れたガラス等の尖ったものによる怪我から感染する事故が起こることもある。
- (c) 注射針による怪我は、(a) 注射器や針の使用を最小限にすること（隔壁様のものので栓をした瓶 septum-stoppered bottle を開ける簡単な装置があり、それを使うとピペットを注射器や針の代わりに使うことができる）、また (b) 注射器や針を使わねばならない場合にそういった鋭利なものを安全に使う装置を用いることにより減らすことができる。

# DRAFT

- (d) 注射針はけっして再度装着してはならない。使い捨てのものを蓋付きの対穿刺性容器に捨てねばならない。
- (e) ガラス製の Pasteur pipettes はプラスチック製のものに置き換えねばならない。

## 7. 血清の分離 Separation of serum

- (a) 適切な訓練を受けたスタッフしかこの作業に従事してはならない。
- (b) 手袋と目及び粘膜メンブレン保護用品を付けて作業しなければならない。
- (c) しぶきやエアロゾルは適切な実験室手技によってのみ防止あるいは最低限に抑えることができる。血液や血清は丁寧にピペットで取り扱い、激しくそそいではいけない。口を使ったピペット操作は禁止しなければならない。
- (d) 使用済みピペットは適切な消毒液に完全に浸さねばならない。そして廃棄あるいは再使用の為の洗浄と消毒の前に十分な時間浸したままにしなければならない。
- (e) 血の塊等を入れている廃棄標本試験管をオートクレーブと焼却処理する時は適切な漏出防止容器に入れなければならない。
- (f) しぶきや漏出を汚染除去するために適切な消毒剤が用意されていないなければならない。

## 8. 遠心分離機の使用 Use of centrifuges

- (a) 実験で遠心分離機を使用する際、パフォーマンスに問題のない機械を用いることは微生物検査の安全を保つ為の必須条件である。
- (b) 遠心分離機は製造メーカーの指示に従って操作されなければならない。
- (c) 遠心分離機は作業者が trunnions やバケットを正しく取り付けるためにボールの中を覗き込める高さに設置すべきである。
- (d) 遠心分離機のチューブと遠心分離機内で使う検体容器は厚いガラスかできればプラスチックのを使い、使用前に不具合がないか点検されなければならない。
- (e) 遠心分離機にかける時は、チューブと検体容器は常に確實

# DRAFT

に蓋をしなければならない。その場合、ネジ式の蓋であることが望ましい。

- (f) バケツは装着し、均衡させ、しっかり閉じ、安全キャビネット内で開けなければならない。The buckets must be loaded, equilibrated, sealed and opened in a biological safety cabinet.
- (g) バケツと trunnions は重さが釣り合うようにし、チューブを適切な位置に置き、正しくバランスするようにしなければならない。
- (h) 遠心分離機内のチューブに最大どれだけの液体を入れることができるかは、メーカーの指示に従うこと。
- (i) 空のバケツをバランスさせるためには蒸留水かアルコール（70%のプロパノール）を使うべきである。生理食塩水や次亜塩素酸溶液は金属を腐食させるので使うべきでない。
- (j) リスク3と4の微生物を扱う場合は、密封式遠心分離機バケツ（安全カップ）を用いねばならない。
- (k) アンクルヘッド遠心分離機ローターを使う時には、漏れの恐れがあるのでチューブを積みすぎないように注意しなければならない。
- (l) 遠心分離機ポウルの中はローターのレベルで染みや汚れがないか毎日点検しなければならない。そして染みや汚れが顕著である場合、遠心分離のプロトコルを再評価しなければならない。
- (m) 遠心分離機のローターとバケツは腐食の兆しや細かいひび割れがないか毎日点検しなければならない。
- (n) バケツ、ローター及び遠心分離機ポウルは毎回使用後消毒しなければならない。
- (o) バケツは使用後、バランスさせるために使った液体がきれいよう上下逆さまに置いて置かねばならない。
- (p) 遠心分離機使用中に空気中で浮遊する感染性材用の粒子が排出されるかも知れない。遠心分離機が伝統的な前面の開いたタイプのクラス1やクラス2の生物学的安全キャビネットに設置されている場合、これらの粒子は浮遊スピードが速すぎてキャビネットの気流で捕捉できない。クラス3の安全キャビネットに、囲みのある遠心分離機であれ

# DRAFT

ば、放出されたエアロゾルが広い範囲に撒き散らされることは防止できる。とはいえ、正しい遠心分離機の手技と確実に蓋の閉まるチューブがあれば、感染性エアロゾルと粒子の拡散から十分な保護が得られる。

## 9. ホモジナイザー、シェーカー、ミキサー、音波粉碎機の使用 Use of homogenizers, shakers, blenders and sonicators

- (a) 家庭用（台所用）ホモジナイザーは漏れやエアロゾルの放出が起こりかねないので、実験室では使用してはならない。
- (b) キャップやカップ、ボトルは良好な状態であるべきであり、傷や変形があってはならない。キャップはしっかり閉まり、ガスケットも良好な状態でなければならない。
- (c) ホモジナイザーやシェーカー、音波粉碎機が稼動している間に容器内に圧力が高まる。その影響で感染性材用を含むエアロゾルがキャップと容器の間から漏れ出す可能性がある。そうしたことを考えると、容器がガラス製であった場合、ガラスが割れることにより感染性材用が放出されたり作業者が怪我をしたりする可能性があるため、容器の材質はプラスチック、特にポリ四フッ化エチレン（PTFE）が推奨される。
- (d) ホモジナイザーやシェーカー、音波粉碎機を使用する時は、透明な強化プラスチックケーシングで覆われなければならない。
- (e) コンテナは操作の最後に生物学的安全キャビネット内で開けなければならない。
- (f) 音波粉碎機を使用する人には聴覚保護具を支給しなければならない。

## 10. 細胞組織粉碎機 Use of tissue grinders

- (a) ガラス製の粉碎機は手袋をはめた手で吸収剤材料に包んで手に取られなければならない。プラスチック（PTFE）製の粉碎機はより安全である。
- (b) 組織粉碎機は生物学的安全キャビネット内で操作、開閉しなければならない。

## 11. 冷蔵庫及び冷凍庫の管理と使用 Care and use of refrigerators

# DRAFT

and freezers

- (a) 冷蔵庫や深い冷凍庫 deep-freezer、ドライアイスの貯蔵棚は定期的に霜取りや掃除をし、貯蔵中に破損したアンプル、チューブ等は取り除かねばならない。掃除の際には顔面保護材と頑丈なゴム手袋を身に付けなければならない。掃除後はキャビネットの内側の表面を消毒しなければならない。
- (b) 冷蔵庫等に貯蔵されている全ての容器には内容物を表す科学名、貯蔵した日及び貯蔵した人の名前を書いたラベルを貼らねばならない。ラベルの無い、あるいは古い日付のものはオートクレーブ後廃棄されなければならない。
- (c) 冷凍庫内の貯蔵物は常にリストにしておかなければならない。
- (d) 引火性の溶剤は防爆機能のある場合以外は冷蔵庫に入れてはならない。また、防爆機能付きの冷蔵庫である場合はその旨をドアに張らねばならない。

## 12. 感染性材用のアンプルの開封 Opening of ampoules containing infectious materials

フリーズドライされた材用のアンプルは、アンプル内の気圧が減圧されている可能性があり、その場合開封することで空気が急激にアンプル内に流入し、中身を大気中に撒き散らすことがあり得る。従って開封には注意が必要である。アンプルは常に生物学的安全キャビネット内で開封しなければならない。その場合、以下の手順が推奨される。

- (a) アンプルの外側の第一の汚染除去。
- (b) チューブの表面に（もしあれば綿やセルロースの栓の真ん中近くに）ファイルマークを付ける。make a file mark on the tube
- (c) file scratch で壊す前に手を守るためにアンプルはアルコールに浸した綿に包んで持つ。
- (d) 上部を静かに取り除き、汚染材用を扱うように取り扱う。
- (e) 栓がまだアンプルの中身より上にある場合、殺菌したピンセットで取り除くこと。
- (f) 泡立ちを防ぐため再懸濁用の液体ゆっくり加える。

## 13. 感染性材用のアンプルの保管 Storage of ampoules containing

# DRAFT

## infectious materials

感染性材用の入ったアンプルは決して液体窒素に浸してはならない。なぜならばひびが入っていたり、封が不完全なアンプルが壊れ、取り出すときに破裂する可能性があるからである。非常に低い温度が必要な場合、アンプルは液体窒素の上のガスの中に貯蔵しなければならない。そうでないならば、感染性材用は機械式の deep-freeze cabinet 内かドライアイス上に置いて貯蔵されなければならない。実験室で作業する者は、アンプルを低温貯蔵から取り出す時は目と手の保護具を身に着けなければならない。

また、上記のような方法で低温貯蔵されていたアンプルを取り出す際にはアンプルの外面を消毒しなければならない。

## 14. 血液、その他の体液、細胞組織、排泄物についての標準予防策 Standard precautions with blood and other body fluids, tissues and excreta

「ユニバーサル予防策」(19)を含む標準予防策は認識の有無を問わず感染源(2)からの微生物の伝播リスクを削減する意図で考案されている。

- 検体の収集、ラベル表示、輸送 Collection, labelling and transport of specimens
  - (a) 常に標準予防策(2)が守られねばならない。全ての手順において手袋を付けなければならない。
  - (b) 血液は訓練されたスタッフにより患者や動物から採取されなければならない。
  - (c) 瀉血には従来型の針と注射器のシステムを、血液を直接ストッパー付きの輸送チューブや培養チューブに採取でき、使用後針が自動的に使えなくなる一回使いきりの安全真空装置に置き換えられなければならない。
  - (d) 研究所への輸送や研究所内の移動に際して、チューブは適切な容器に取り付けられなければならない。リクエストフォームは別の防水バッグか封筒に入れられなければならない。
  - (e) 受付のスタッフはこれらのバッグを決して開けてはならない。
  
- 検体のチューブと標本内容物の開封 Opening specimen tubes

# DRAFT

and sampling contents

- (a) 検体のチューブは生物学的安全キャビネット内で開封しなければならない。
  - (b) 手袋を身に付けなければならない。ゴーグルや顔用シールドによる目と粘膜メンブレンの保護も推奨する。
  - (c) プラスチック製のエプロンと防護服が支給されなければならない。
  - (d) 跳ね返りを防止するために紙やガーゼを通してストッパーをしっかりと掴まなければならない。
- ガラスと「先の尖ったもの」 Glass and “sharps”
- (a) 可能な限りガラス製品はプラスチック製品に置き換えなければならない。ガラスでは実験室グレード（ホウケイ酸塩）ガラスのみ使用可能であり、細断あるいは亀裂の入ったものはどんなものでも廃棄されなければならない。
  - (b) 皮下注射の針はピペットとして使用してはならない。
- 顕微鏡検査のためのフィルムと飛沫標本 Films and smears for microscopy
- 顕微鏡観察用の血液や痰、大便の検体の固定や染色は塗布標本上の生物やウイルスを必ずしも全て殺すわけではない。これらはピンセットで取り扱い、適切に貯蔵し、廃棄の前に消毒やオートクレーブしなければならない。
- 自動装置（音波粉碎機とボルテックス・ミキサー） Automated equipment (sonicators, vortex mixers)
- (a) 装置は雫やエアロゾルの拡散を防止するため、閉じられるタイプでなければならない。
  - (b) 廃液はオートクレーブや廃棄のために密閉容器に集められなければならない。
  - (c) 装置はメーカーの指示に従い、各セッションが終わるごとに消毒しなければならない。
- 細胞組織 Tissues
- (a) ホルマリン固定液を用いること。
  - (b) 凍結切片法は避けられるべきである。凍結切片法の必要が

# DRAFT

ある場合には、低温保持装置をシールドし作業者は顔面安全シールドを身に付けなければならない。汚染除去のために機器の温度は最低 20℃まで上げなければならない。

➤ 汚染除去 Decontamination

汚染除去には次亜塩素酸や高水準の消毒剤が推奨される。新しく次亜塩素酸溶液を用意する際、一般的な用途で使う場合は 1g/1% の塩素、血液のこぼれの場合 5g/1% の塩素が含まれていなければならない。表面の汚染除去にはグルタルアルデヒドが使用できる。

15. プリオンを含んでいる可能性のある物質に対する予防策  
Precautions with materials that may contain prions

プリオン（「遅発性ウイルス（slow viruses）」と呼ばれることもある）はヒトの疾患としてはクロイツフェルト・ヤコブ病（Creutzfeldt-Jakob disease, CJD、新たな異型も含む）やゲルストマン・シュトロイスラー・Scheinker 症候群（Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome）、致死性家族性不眠症、クル（Kuru）、羊やヤギの疾患としてはスクレーピー（scrapie）、牛では牛海綿状脳症（bovine spongiform encephalopathy, BSE）、さらに鹿、エルクやミンクの感染性脳症として知られる感染性海綿状脳症（transmissible spongiform encephalopathies (TSEs)）と関係がある。そのうち CJD はヒトへ感染しているが、これらの病原体のいずれも実験室が関係した感染の確認された事例はない。しかしながら、感染者や感染した動物、あるいはその疑いのあるヒトや動物から採取した検体材用を取り扱う際に予防策を遵守することは賢明なことである。

TSE 関連の材用を扱う作業に必要なバイオセーフティー・レベルの選択は、対象とする病原体と研究するサンプルの性質により変わり、国の当局と相談のうえ決めるべきである。プリオンは中枢神経系組織に最も濃縮されて存在することが発見されている。また、動物の研究からは脾臓、胸腺、リンパ節と肺にも高濃度のプリオン濃縮があり得ると示唆されている。最近の研究は、舌筋や骨格筋組織のプリオンもまた感染リスクの可能性を示し得ることが暗示している。

プリオンの完全な不活化は達成が困難であるので、可能な限り使い捨

# DRAFT

て器具を使用し、生物学的安全キャビネットの作業台表面を覆う使い捨て保護カバーを使うことが重要である。

取るべき主要な予防策は、汚染された材料の摂食を避けることや実験室作業者の皮膚を尖ったもので刺さないようにすることである。また、病原体は実験室で行われる殺菌や滅菌の通常のプロセスでは死なないため、以下の追加的予防策も取るべきである。

- (a) 専用容器の使用。すなわち他の実験室と共有しないことが強く推奨される。
- (b) 使い捨て実験室防護服（ガウンとエプロン）及び手袋（病理学者用ゴム手袋の間に鉄のメッシュの手袋）を身に付けなければならない。
- (c) 使用後に乾燥したゴミとして取り扱い及び廃棄できる、使い捨てプラスチック容器の使用が強く推奨される。
- (d) 消毒の問題があるため tissue processors は使うべきでない。プラスチック製広口瓶とビーカーを代わりに使うべきである。
- (e) 全ての操作は生物学的安全キャビネットで行わねばならない。
- (f) エアロゾル発生、摂食、切り傷、皮膚の刺し傷を避けるため、細心の注意を払わねばならない。
- (g) ホルマリンで固定された組織は期間を延長してホルマリンに浸けたとしてもまだ感染性があると考えられなければならない。
- (h) プリオンを含む組織学の標本は96%のギ酸に1時間浸すと相当不活化する。
- (i) 使い捨ての手袋、ガウン、エプロンを含む作業台で用いた物の廃棄物は多孔質装填蒸気殺菌器 porous load steam sterilizer を用い、134~137°Cで18分間1サイクル、或いは3分間を連続6サイクル、オートクレーブするべきである。
- (j) 鉄製のメッシュの手袋を含む廃棄できない器具は汚染除去のため回収しなければならない。
- (k) プリオンで汚染されている感染性液体廃棄物は塩素を 20g / 1 升(2%)(終末濃度)の割合で含む次亜塩素酸で1時間処

# DRAFT

理されなければならない。

- (l) パラホルムアルデヒド気化処置もプリオンカ価を減退させないし、プリオンは紫外線照射に対する耐性を持つ。しかし、存在する可能性のある他の病原体を不活化するため、安全キャビネットは引き続き通常の方法（すなわちホルムアルデヒド・ガス）で汚染除去しなければならない。
- (m) プリオンで汚染されている生物学的安全キャビネットや他の物の表面は、塩素を  $20\text{g}/1\text{ ㊦}(2\%)$  の割合で含む次亜塩素酸を1時間用いることで汚染除去できる。
- (n) 高性能フィルター（HEPA フィルター）は取り外し後最低  $1000^\circ\text{C}$  で焼却しなければならない。焼却前に以下を含む処理をすることも推奨される。
  - ✓ 取り外す前にフィルターの露出している表面にラッカーヘアスプレーを吹きつける。
  - ✓ 取り外す間、フィルターを袋に入れておく。
  - ✓ キャビネットの外部からアクセスできないプレナムが汚染されないようにHEPA フィルターを作業室から取り外しておくこと。
- (o) 道具は塩素を  $20\text{g}/1\text{ ㊦}(2\%)$  の割合で含む次亜塩素酸に1時間浸し、水でよく洗い流してからオートクレーブにかける。
- (p) オートクレーブにかけることができない道具は、塩素を  $20\text{g}/1\text{ ㊦}(2\%)$  の割合で含む次亜塩素酸で一時間以上繰り返し拭き掃除することで清掃できる。その際、残留次亜塩素酸を取り除くために適切な洗浄が必要である。

## 長崎大学における微生物のバイオセーフティーレベル

長崎大学生物災害防止安全委員会

(平成16年1月)

長崎大学生物災害防止安全委員会は、長崎大学生物災害防止安全管理規則（以下「規則」という。）第5条第1項第2号に基づき、微生物のバイオセーフティーレベル(危険度分類：Biosafety Level (BSL))を別表のとおり定める。

別表は今後、必要に応じ改訂するものとする。

## [A] BSL分類基準の概要

## (1) 対象

- (イ) 規則第2条第1号に定める「病原体等」のうち病原微生物を対象とするが、分類基準を明確にするため、非病原微生物も含めることとする。
- (ロ) 微生物とは細菌類（細菌、スピロヘータ、リケッチア、マイコプラズマ、クラミジア）、真菌、寄生虫、ウイルス、ウィロイド、およびそれに準ずるものをいう。

## (2) 適用

微生物の取扱いを行う実験室内での操作について、これを適用する。

## (3) 適用外

- (イ) 微生物を用いる動物実験については、国立大学動物実験施設協議会の安全対策に基づき行うこととする。
- (ロ) 組換えDNA実験については、文部科学省指針に基づき行うこととする。

## (4) 量

- (イ) 少量（低濃度）と大量（濃縮操作等による高濃度を含む）とに分ける。
- (ロ) 量の区分

①少量：取扱う1ロット（1単位）の培養量が20ℓ未満の量

②大量：取扱う1ロット（1単位）の培養量が20ℓ以上の量

## (5) BSLの分類基準設定について

- (イ) 実験室内での操作におけるBSLを基準とするが、微生物の一般的抵抗性、自然環境に対する影響も考慮する。
- (ロ) 病原性については、通常の生体に対する病原性を基準とする。
- (ハ) 能動免疫、受動免疫等による防禦法の有無、発症した場合の有効な治療法の有無、その他実験にかかわる人為的誤操作等は考慮しない。

[B] BSL分類基準

BSLは4段階表示とする。各段階は大学等における研究用微生物安全管理マニュアル(案)(平成10年11月学術審議会特定研究領域推進分科会バイオサイエンス部会)の別表1「微生物のレベル(ヒトへの病原性)の分類」に対応した取扱いを行うこととする。

(1) BSL1 (注①参照)

病原性がない微生物。

(2) BSL2 (注②参照)

病原性がある微生物で、感染した場合、重篤な疾病をもたらさない微生物。

(3) BSL3 (注③参照)

病原性がある微生物で、感染した場合、重篤な疾病をもたらす微生物。

(4) BSL4 (本学では取扱わない微生物)

Crimean Congo hemorrhagic fever virus

Ebola virus

Hendra virus

Junin virus

Lassa virus

Machupo virus

Marburg virus

Variola virus (major, minor)

注① 量(濃度)の差は考慮しない。

注② BSL2に分類される微生物を大量または高濃度で取扱う場合はBSL3とする。

注③ BSL3に分類される微生物で、エアロゾルによる感染がないと判断される微生物はBSL2で取扱う。ただし、この微生物でも大量または高濃度で取扱う場合はBSL3とする。

長崎大学における微生物のバイオセーフティレベル

(平成16年1月26日現在)

分類	BSL	微生物名
真菌	1	Aspergillus niger(nonpathogenic strain) Phytophthora megasperma var. sojae Saccharomyces cerevisiae Scytalidium lignicolum
	2	Aspergillus fumigatus Aspergillus niger(pathogenic strain) Aspergillus spp. Candida albicans Candida tropicalis Candida spp. Cryptococcus neoformans Cryptococcus spp. Fusarium Pyricularis oryzae Trichosporon beigellii
寄生虫	1	レベル2に属さない原虫類、吸虫類、糸虫類及び線虫類
	2	人体寄生性原虫類 Acanthamoeba spp. Cryptosporidium spp.(oocyst) Entamoeba histolytica Girdia lamblia Leishmania spp. Naegleria spp. Plasmodium spp. Toxoplasma gondii Trichomonas vaginalis Trypanosoma spp. 人体寄生性吸虫類 吸虫類の被嚢幼虫 Schistosoma spp.(cercaria) 人体寄生性糸虫類 Echinococcus spp.(egg,hydatid sand,protoscolex) Hymenolepis spp.(egg,cysticercoid) Taenia solium(egg,cysticercus) 人体寄生性線虫類 鉤虫類の感染仔虫 回虫類の仔虫宝蔵卵 Angiostrongylus spp.(感染仔虫) Strongyloides spp.(感染仔虫) Trichinella spiralis(感染仔虫)
細菌	1	レベル2および3に属さない細菌
	2	Abiotrophia defectiva Acinetobacter calcoaceticus Acinetobacter haemolyticus Acinetobacter johnsonii Acinetobacter junii Acinetobacter lwoffii Actinobacillus capsulatus

Actinobacillus ureae  
Actinomadura madurae  
Actinomadura pelletieri  
Actinomyces bovis  
Actinomyces gerencseriae  
Actinomyces israelii  
Actinomyces meyeri  
Actinomyces naeslundii  
Actinomyces neuui subsp. anitratus  
Actinomyces neuui subsp. neuui  
Actinomyces odontolyticus  
Actinomyces radingae  
Actinomyces viscosus  
Aeromonas hydrophila subsp. anaerogenes  
Aeromonas hydrophila subsp. hydrophila  
Aeromonas sobria 毒素株  
Alcaligenes denitrificans  
Alcaligenes faecalis subsp. faecalis  
Alcaligenes xylosoxydans  
Arcanobacterium bernardiae  
Arcanobacterium haemolyticum  
Arcanobacterium phocae  
Arcanobacterium pyogenes  
Arcobacter butzleri  
Arthrobacter woluwensis  
Bacillus cereus 毒素株  
Bacteroides fragilis  
Bartonella bacilliformis  
Bartonella doshiae  
Bartonella elizabethae  
Bartonella grahamii  
Bartonella henselae  
Bartonella peromysci  
Bartonella quintana  
Bartonella talpae  
Bartonella taylorii  
Bartonella vinsonii subsp. vinsonii  
Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii  
Bilophila wadsworthia  
Bordetella avium  
Bordetella bronchiseptica  
Bordetella parapertussis  
Bordetella pertussis  
Borrelia afzelii  
Borrelia anserina  
Borrelia baltazardii  
Borrelia brasiliensis  
Borrelia burgdorferi  
Borrelia caucasica  
Borrelia coriaceae  
Borrelia crocidurae

Borrelia dugesii  
Borrelia duttonii  
Borrelia garinii  
Borrelia graingeri  
Borrelia hanveyi  
Borrelia hermsii  
Borrelia hispanica  
Borrelia japonica  
Borrelia latyschewii  
Borrelia lusitaniae  
Borrelia mazzottii  
Borrelia parkeri  
Borrelia persica  
Borrelia recurrentis  
Borrelia theileri  
Borrelia tillae  
Borrelia turicatae  
Borrelia valaisiana  
Borrelia venezuelensis  
Branhamella catarrhalis  
Burkholderia cepacia  
Burkholderia vietnamiensis  
Calymmatobacterium granulomatis  
Campylobacter coli  
Campylobacter concisus  
Campylobacter curvus  
Campylobacter fetus subsp. fetus  
Campylobacter gracilis  
Campylobacter jejuni subsp. doylei  
Campylobacter jejuni subsp. jejuni  
Campylobacter lari  
Cardiobacterium hominis  
Chlamydia trachomatis  
Chlamydophila pneumoniae  
Chlamydophila psittaci nonavian strain  
Chromobacterium violaceum  
Chryseobacterium meningosepticum  
Clostridium argentinense  
Clostridium bifermentans  
Clostridium botulinum  
Clostridium butyricum  
Clostridium chauvoei  
Clostridium difficile  
Clostridium haemolyticum  
Clostridium histolyticum  
Clostridium novyi  
Clostridium perfringens 毒素株  
Clostridium septicum  
Clostridium sordellii  
Clostridium sporogenes  
Clostridium tetani