

写真 1. 簡易グローブバッグ



写真 2. 芽胞含有粉末検体



図 1. グローブバッグ内 TSA plate 配置

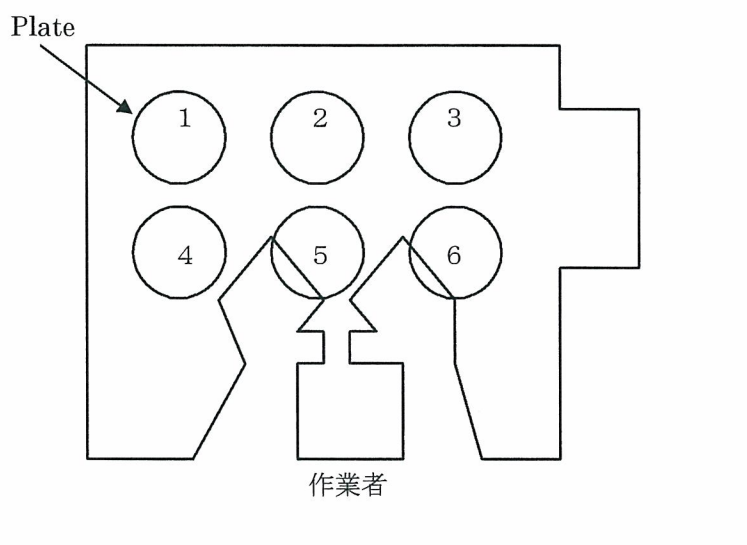


写真 3-2 グローブバッグ作業面 飛沫芽胞 グループ A

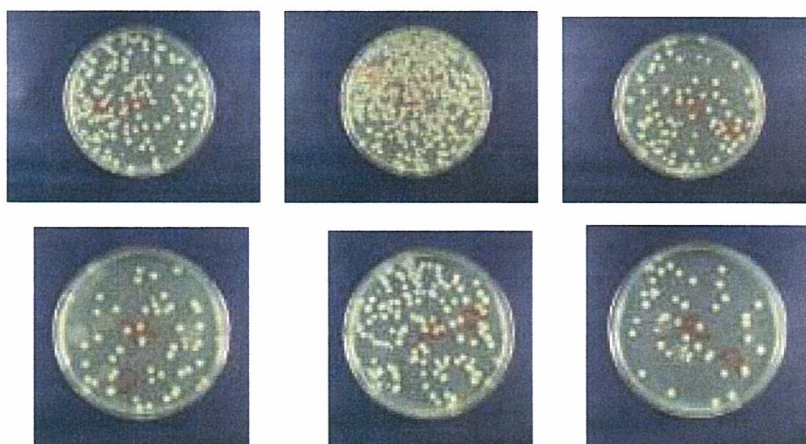


写真 3-1 グローブバッグ作業面 飛沫芽胞 グループ B

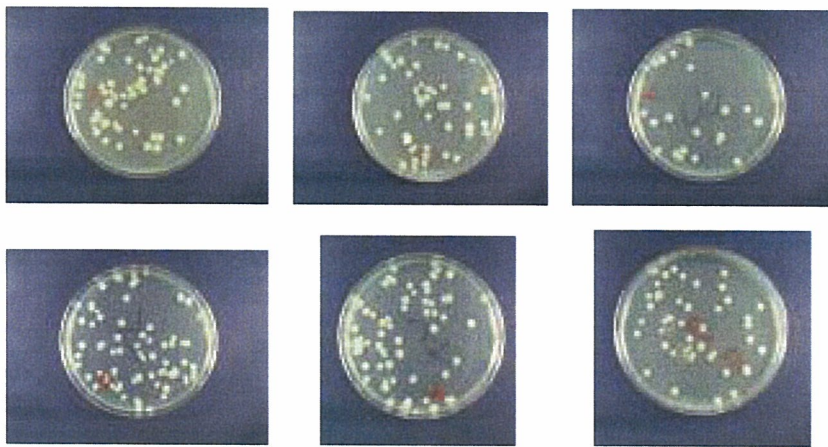
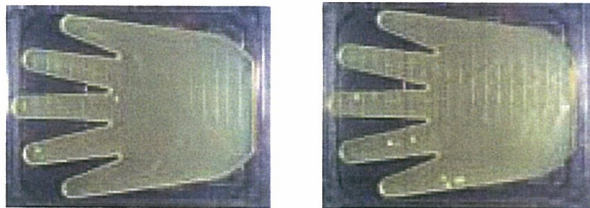


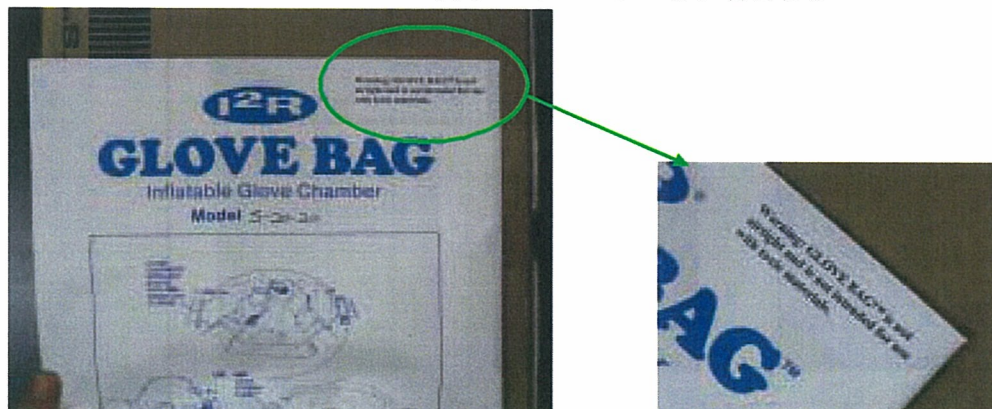
写真 4. 右手指 パームチェック
グループ A



グループ B



写真 5. グローブバッグ警告書き



平成 18 年度

炭疽菌芽胞混入が疑われる粉体サンプルの取扱い
及び検査に関する実習

Ver.1.3

平成 18 年度 特定研修 新興・再興感染症技術研修

国立感染症研究所
バイオセーフティ管理室 高木 弘隆
感染症情報センター 伊藤 健一郎

(1) 疑いサンプルの取扱い – 「粉末」として目視できるのか? –

B.thuringiensis 3951 芽胞懸濁液 5.2x10⁷ CFU/20 μl をピニールパックに分注し、室温乾燥させたもの参照。わずかに褐色を帯びた「痕跡」として確認できる程度である。

- すなわち「粉末サンプル」として取扱時の飛散の有無は確認不可
- 密閉系での取扱いが必要 → グローブバック+BSCの組み合わせ
- 他の粉体と混合、有機物もしくは中性無機物である可能性大
(小麦粉、タルク、でんぷんなど)
あるいは紙などに含浸させて、振動などの物理的衝撃により飛散させるなど。
※ 可能性として低いもの アルカリ性粉末 (石灰など) : 芽胞への影響大

- 取扱い時の重要な注意(1) 静電気(あるいは帯電)の防止
粉末サンプルの帯電状態を計測するのは困難、何かしら帯電しているものとして扱う
その際取扱者およびその環境において荷電状態があった場合
→ 反発による飛散 あるいは 電氣的吸着 → 取扱者及び環境の除電が重要!

除電方法: 静電気防止スプレー、アースプレート、除電シートなど

※今回使用するグローブバックは帯電がほとんどない

○実際に取り扱ってみよう!

- 作業前にグローブバック内で手指消毒(breach)
- *B.thuringiensis* (NBRC3951)芽胞含有タルクを取り出してチューブに移す。
- 操作中作業スペースに寒天培地配置、落下あるいは飛沫芽胞捕捉(オプション)
- 取扱い後、グローブごとパームスタンプ 芽胞付着の有無(オプション)
- 作業終了後 手指消毒(breach またはピューラックス)

(メモ)

【作業手順】

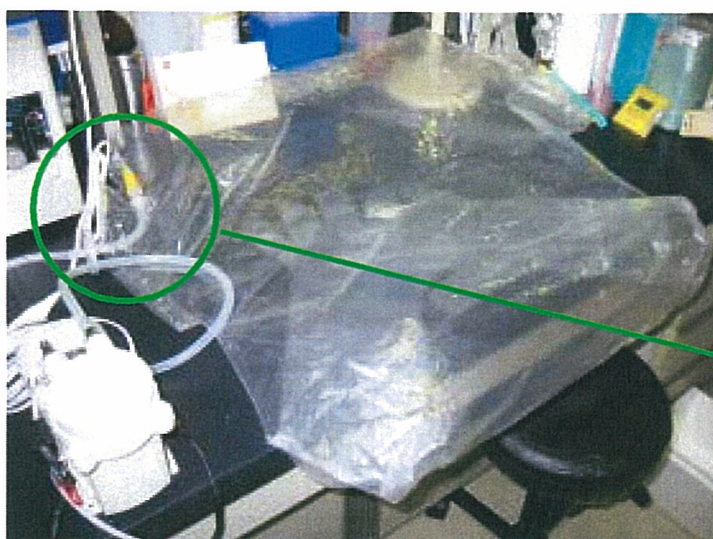
(1) 用意するもの



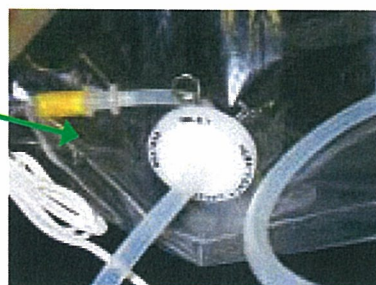
HEPA ベントフィルター



チューブアダプタおよびピンチコック



グローブバック(S-20) および 給排気用ポンプ



その他： 遊離有効塩素 0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム(BREACH、ピューラックス)

(2) 作業手順

別途 手順書参照のこと

(2) サンプル回収後の注意

サンプルは極力滅菌水に懸濁

→ 塩類があると芽胞が発芽する可能性あり。

また混合粉体からの影響(有機物の場合、やはり発芽する可能性あり)も考慮。

サンプルを分割

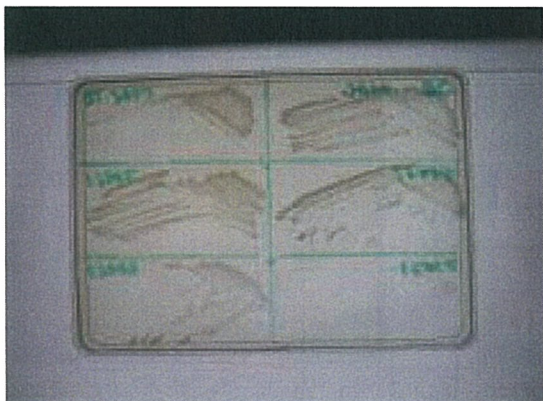
(未処理と加熱処理：60°C、30～60分)

培養：TSA もしくは NA (普通寒天) 使用

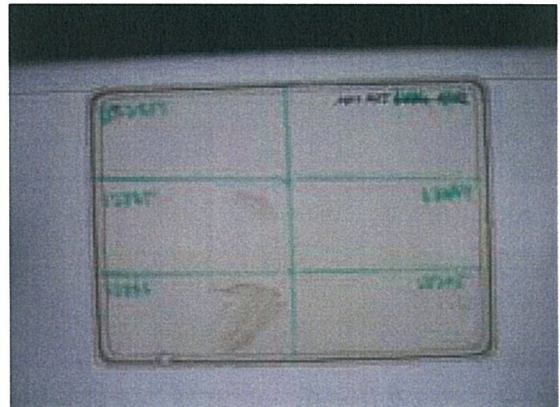
選択培地としては *B.cereus* 選択培地 (NGKG 又は PBCW) を推奨

注意!! Lysozyme 添加 (WHO マニュアル及び病原体検出マニュアル掲載) では増殖阻害を受ける可能性あり。

EDTA-polymyxin B-TSA



EDTA-polymyxin B-lysozyme-TSA



※lysozym 300u/ml で添加

上記角型シャーレ塗抹菌株の配置

<i>B.thuringiensis</i> NO.3951	<i>B.cereus</i> NO.3466
<i>B.thuringiensis</i> NO.13865	<i>B.cereus</i> NO.13484
<i>B.thuringiensis</i> NO.13866	<i>B.cereus</i> NO.15305

【参考】BT 芽胞混入タルクの EDTA-polymyxin B-TSA への塗抹 (35℃、20h)

※通常の TSA に比べ、コロニーの大きさは小さめ

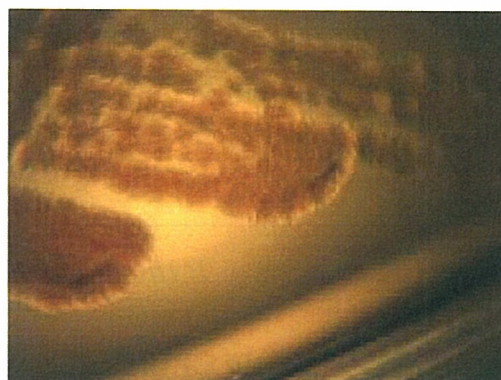
右：タルクのみ

左：芽胞+タルク



タルクのみ

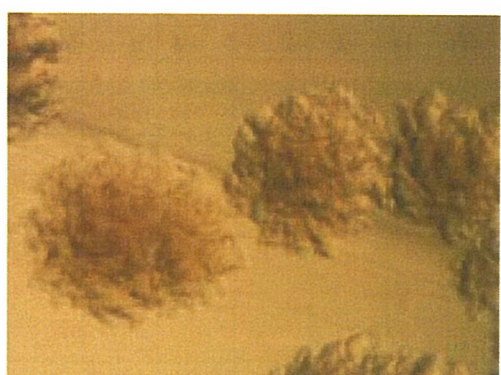
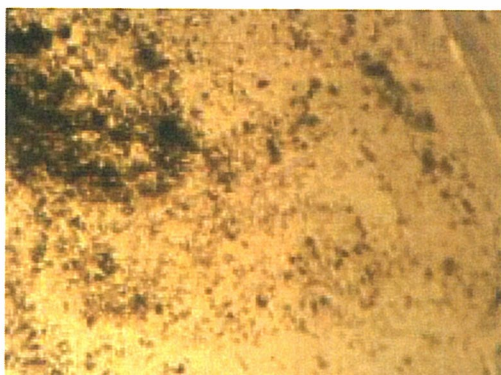
芽胞+タルク



倍率 UP



倍率 UP



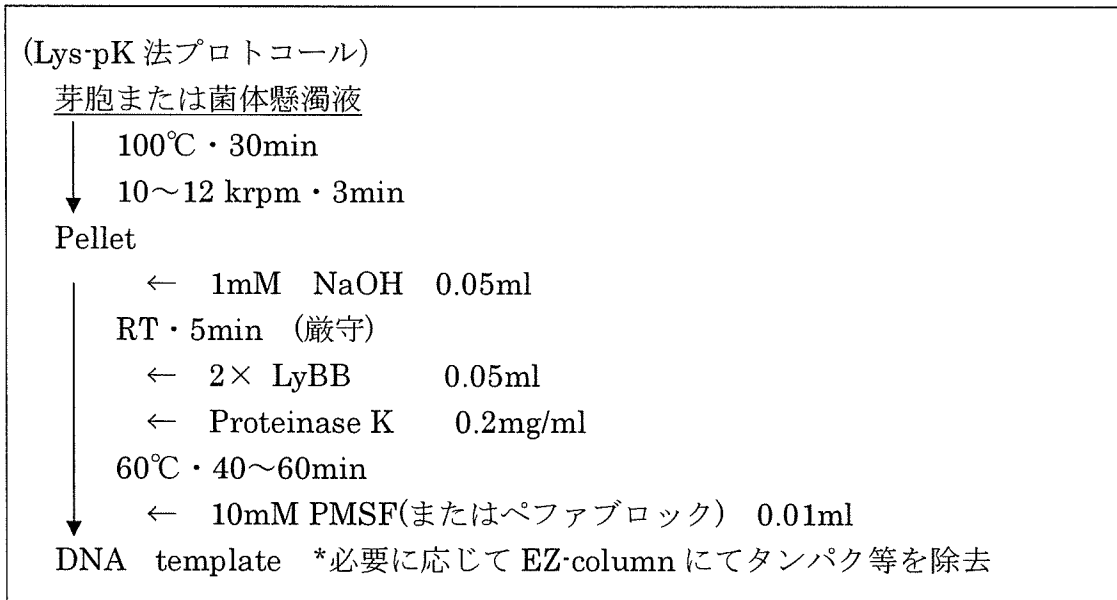
(3) 核酸抽出及び PCR による特異遺伝子検出

(a) 核酸抽出

ターゲットとなる遺伝子及び染色体は非常に大きい！

- ① 煮沸法・アルカリ-SDS 法 (~50±kbp)、spin-column 法(~70kbp)では回収率悪い
- ② Et-OH, 2-propanol による沈殿法では pellet が不溶化してしまう
- ③ *B.cereus* group は lysozyme 耐性なので、増菌後でも従来法による細胞壁壊裂は不可

回収率および核酸の可溶化状態を改善 → 可溶化-proteinase 法 (Lys-pK 法)



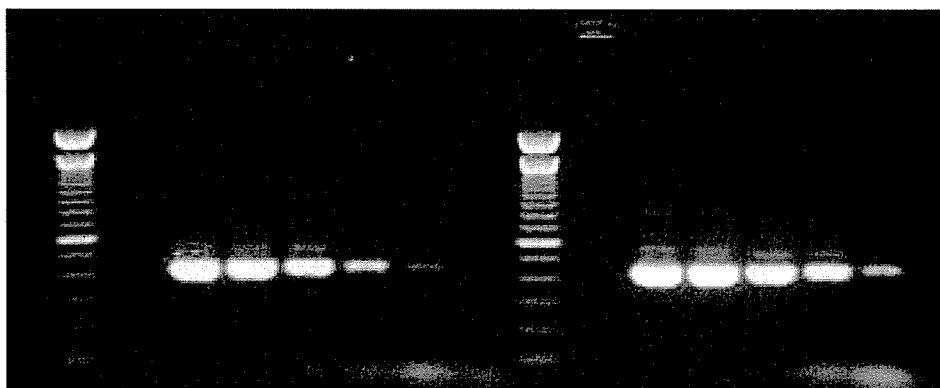
○実際にやってみよう！ *B.thuringiensis* (NBRC3951)芽胞含有タルク及び芽胞懸濁液からの直接核酸抽出

- ・ 芽胞懸濁液 約 2×10^6 CFU/10 μ l → 希釈系列作成 (10 倍段階希釈)
- ・ 従来の方法との比較 → 抽出核酸の電気泳動および 16S-DNA target PCR

(例)濃厚 BT ゲノムを 10 倍段階希釈したものを template として 16S-DNA-PCR を実施

_____ Boiled-sup _____ Lys-pK susp _____

Mk Tp 1x -1 -2 -3 -4 n Mk Tp 1x -1 -2 -3 -4



1.5%gel inj 5 μ l+dye

50V/80min

(b)PCR による特異遺伝子検出

ターゲット： プラスミド遺伝子； pX01, pX02

染色体ゲノム遺伝子； 16S-DNA, s-layer protein など

pX01 (毒素遺伝子)		
PA5 (forward)	5'-tcctaactaactgaagtcg	Product 596bp
PA8 (reverse)	5'-gaggtagaaggatatacgg	
PA6 (forward)	5'-atcaccagaggcaagacacc	Product 211bp
PA7 (reverse)	5'-accaatatcaagaacgacgc	
pX02 (きょう膜遺伝子)		
CAP1234 (forward)	5'-ctgagccattaatcgatatg	Product 846bp
CAP1301 (reverse)	5'-tcccacttacgtaactctgag	
MO11 (forward)	5'-gacggattatgggtgctaag	Product 591bp
MO12 (reverse)	5'-gcactggcaactggttttg	
AcpA-F1 (forward) <i>new</i>	5'-attggtgtaatcgcgttctg	Product 382bp
AcpA-R (reverse) <i>new</i>	5'-gcaactgaacattcgaaacc	

※Bac16S-F (forward) *new* + Bac16S-R (reverse) *new*

→ product 456bp (*B.cereus* group 16S-DNA specific primers)

• PCR 反応溶液(TaKaRa Ex-Taq)	
template DNA	1-5 (μ l)
10x PCR buffer	5
2.5mM dNTPs	4
10 μ M primers	1 (0.5 + 0.5)
Taq polymerase (5U/ μ l)	0.4 : 2units/test
H2O	up to 50 μ l

• PCR program

1st step : 95°C/5min → (95°C/1min→50°C/1min→72°C/2min) x5

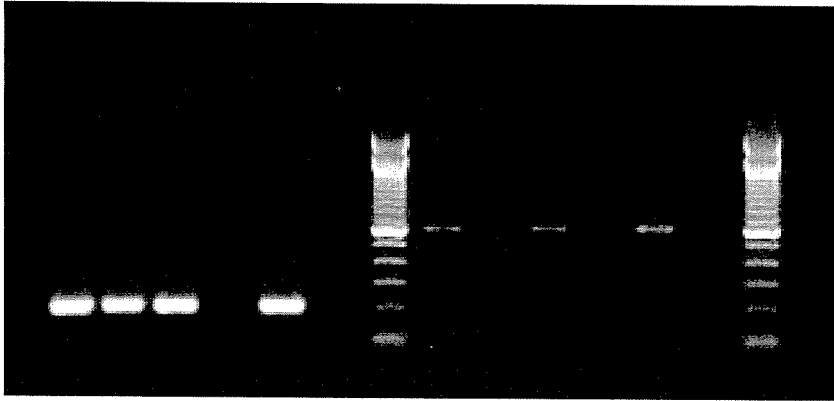
↓

2nd step : (95°C/30sec→55°C/30sec→72°C/45sec) x 30 → 72°C/3min →4°C

(5)参考資料 agarose 電気泳動写真

PCR products of *B.anthraxis* pX01 & pX02

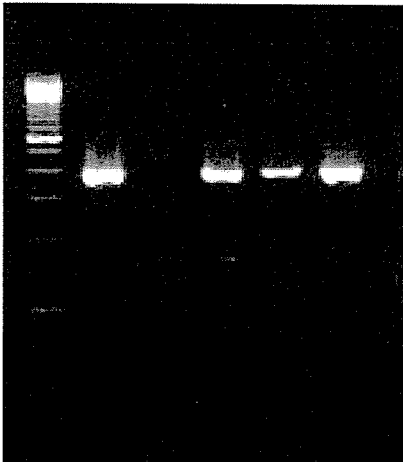
pX01: PA6/7 pX02: MO11/12
1 2 3 4 5 n Mk 1 2 3 4 5 n Mk



1.5%gel, 5 μ l+dye

50V/10min \rightarrow 100V/30min

pX02: AcpA-F1/R
Mk 1 2 3 4 5



2.0%gel, 5 μ l+dye

50V/60min

高度安全施設における安全対策・バイオセキュリティに関する研究

分担研究者 森川茂（国立感染症研究所ウイルス第1部第1室室長）

協力研究者 福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎（同、ウイルス第1部）

要旨：先進国ではラッサ熱などの輸入症例の発生等を踏まえ、レベル4病原体を扱うことができるBSL4施設の建設が進んでいる。G7国として唯一BSL4施設を保有していなかったイタリアでもBSL4病原体による出血熱等の患者収容病棟と同一フロアにBSL4実験室3室を有する病院施設が建設中である。また、世界的な病原体管理規制の強化が進む中、今後、ウイルス性出血熱等の患者検体の国際間輸送に関しては、より困難になってくることが予想される。このような現状を踏まえ、我が国においても、ウイルス性出血熱等の患者診断のための高度安全施設の緊急時使用を想定した対応が必要となっている。そこで本研究では国外BSL4施設の対応も参考に、今後の感染研村山高度安全施設のグレードアップの方向性について検討した。さらに、緊急時の対応に備えるため可動式グローブボックス(GBL)を導入設置した。本年度は、国立感染症研究所の高度安全施設のグレードアップに関して考察し、可動式GBLの導入により明らかになった点から高度安全施設における安全対策に関して考察した。また、GHSAGLNのワークショップの重要性と成果に関しても考察した。

はじめに

近年、1960年代に確認されたマールブルグ病や1970年代に確認されたエボラ出血熱の発生頻度が高まっているだけでなく、その発生地域が拡大しつつある。特に2004年にアンゴラで発生したマールブルグ病の流行では、約400名にのぼる患者が発生し、その多くが死亡した（致死率ほぼ90%）。また、1970年代後半に地球上から根絶された天然痘が、バイオテロリズムにより再びその流行が発生する危険性が指摘され、わが国を含むいくつかの国では痘そうワクチンの製造と備蓄がなされている。このような状況で、世界各国で既存の高度安全研究施設(BSL4研究施設)の機能拡大に加えて、新規のBSL4研究施設の建設が進んでいる。例えば、イタリアでは、BSL4病原体による出血熱等の患者収容病棟と同一フロアに

BSL4実験室3室を有する病院施設が建設中で数ヶ月以内に稼働が予定されている。

このような背景から、G7にメキシコを加えた8カ国の研究所からなる世界健康安全保障グループラボラトリーネットワーク（Global Health Security Action Group Laboratory Network、GHSAGLN）が平成14年に設立された。GHSAGLNの答申を受けて、世界のBSL4実験施設保有研究所のネットワークであるInternational High Security Laboratory Network Meeting (IHSLNM、国際高度安全実験室ネットワーク会議)が平成14年に設立され、米国、英国、カナダ、フランス、ドイツ、オーストラリア、日本、南アフリカ、ロシア、スウェーデンが参加し、各国の高度安全施設担当者が出席している。国立感染症研究所からは、分担研究者の森川が参加した。IHSLNMは、これま

で平成 14 年、16 年の 2 回開催され、特に BSL4 病原体の診断法の標準化作業に関して、標準標本を用いて RT-PCR、PCR、抗原検出法の各国の試験法の感度、精度の比較検討が行われつつある。また、GHSAGLN 内でも合意に基づいてワークショップを開催しており、本年度は天然痘ウイルスの検出に関するワークショップが CDC（アトランタ）で開催された。

一方、ウイルス性出血熱等の患者検体の国際間輸送に関しては、今後、より困難になってくることが予想される。このような現状をふまえ、ウイルス性出血熱等の診断における高度安全施設の緊急時使用を想定した対応が必要である。そこで、また一層実際の使用に優れた高度安全施設にするための改修プランを検討した。さらに、可動式グローブボックス(GBL)を導入設置して緊急時の対応に備えた。

A. 研究目的：

わが国においては国立感染症研究所（村山庁舎）にグローブボックスタイプ(GBL)の高度安全施設が 25 年程前に建設されたが、未だに BSL4 研究施設としては稼働されていない。現状では、動物用 GBL を BSL3 研究施設として使用している。

国立感染症研究所ウイルス第 1 部では、エボラ出血熱、マールブルグ病、クリミア・コンゴ出血熱、ラッサ熱、天然痘の診断法の開発を業務の一つとしているが、上記の理由から感染性のあるエボラウイルス、マールブルグウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、ラッサウイルスを扱うことができないため、ウイルス性出血熱の迅速かつ確実な診断法確立に関する業務を行うのが困難な状況にある。また、天然痘ウイルスは、天然痘根絶後は WHO 監視下でロシアと米国のみが保有していて、その遺伝子の管理も厳重に行われている。本年度は、

GHSAGLN のワークショップの重要性、国立感染症研究所の高度安全施設のグレードアップの方向性、可動式 GBL の導入に関して考察する。

B. 研究方法：

1. 国立感染症研究所における高度安全施設のグレードアップの方向性について考察する。
2. 緊急時の使用を想定した可動式 GBL の導入に関して考察する。
3. GHSAGLN の会議での合意に基づくワークショップの意義と成果に関して考察する。また、IHSLNM の現状と問題点に関して考察する。

C. 研究成果及び D. 考察

1. 国立感染症研究所における高度安全施設のグレードアップの方向性：我が国では、国立感染症研究所の村山庁舎に高度安全施設が設置されているが、現在 BSL3 病原体を対象に使用している。国立感染症研究所の高度安全施設は、動物実験用の GBL からなる C 実験室と、細胞培養レベルの実験のための GBL と病理学的実験を行なうための GBL からなる B 実験室の 2 実験室からなる。これまで、C 実験室は、SHIV, Hantavirus, Monkeypox virus, SARS coronavirus, Influenza virus 等の動物感染実験等、種々の ABSL3 レベルの動物実験に用いられており、現状でも ABSL4 実験に対応できる状況にある。また、実験従事者の経験も豊富である。一方、B 実験室は、機器類は全て特注加工をして BGL に組み込まれているため、修理や機器の更新に要する費用が高く、時間がかかることが問題であった。そこで、英国の GBL のように、機器類の大部分を GBL に接続したボックス内に市販機器を設置する

方式に変更することが、本施設を効率的に用いるための一つの方策であると考えられる。このような改修により、機器の更新等が迅速になり、また低費用となる。一方、国立感染症研究所の高度安全施設は、B実験室とC実験室がそれぞれ1実験室しかないため、年1回の定期点検期間（通常3-6週間）中は施設が使用できないこととなる。従って、定期点検期間に関しては、担当業者等と綿密に打ち合わせをして期間短縮をはかる方向で検討する必要がある。理想的には、B実験室は、2実験室に分離して使用できるよう改修することが望ましい。また、B実験室のGBLは、厚手のネオプレーンゴム製のグローブが用いられているが、細胞培養等の細かい作業には習熟が必要である。そこで、可動式GBLの設置に際して海外のBSL4施設のグローブを参考にして、グローブの先端部分にOリングを介して塩化ビニール製の手袋を接続することにより細胞培養等の作業がより容易になるか以下に検討した。

2. 可動式GBLの導入：緊急時に患者検体等を処理するため、あるいは新興・再興感染症が発生した場合に流行地での検体処理を可能にするために可動式GBLを導入した（写真1）。これは、アフリカでのマールブルグ病の大流行時にカナダが現地に持ち込んだ可動式BGLを参考に、新規に作製したものである。この可動式GBLでは、ネオプレーンゴム製のグローブの先端部分にOリングを介して塩化ビニール製の手袋を接続した（写真2）。このグローブで検体処理や細胞培養等の模擬作業を行ったところ、特に細かい作業に関してネオプレーン製グローブと比較し容易であった。しかし、塩化ビニール手袋は、薬剤耐性や強度は他の素材に比べて若干劣るため、今後はより薬剤耐久

性や強度に優れたニトリルゴムの手袋も検討する必要がある。

3. 実験従事者のトレーニング：実験従事者のGBLでの作業経験は必須であるが、C実験室での動物実験に関しては、これまでABSL3レベルでの使用経験を積んだ研究者が多数いる。しかし、新興・再興感染症発生初期に対応上重要なのは、B実験室を用いた細胞培養レベルの作業である。この点に関しては、上述のように、GBLのグローブの改良が望ましいが、可動式GBLを用いた模擬作業の経験を重ねることにより、緊急時の作業に対応できる人材を継続的にトレーニングすることが重要と思われる。
4. GHSAGLNの会議での合意に基づくワークショップの意義と成果：これまでに、GHSAGLN会議での合意に基づき種々のワークショップが開催されているが、今年度は、米国で天然痘ウイルスの検出に関するワークショップが開催された。日本からは分担研究者の森川と国立感染症研究所ウイルス第1部の福士主任研究官が参加した。このワークショップには、主催した米国以外にはGHSAGLN参加国のドイツ、フランス、イタリア、カナダ、メキシコが参加した（英国は不参加）。いずれの参加国も高感度に天然痘ウイルスを検出した。このようなワークショップは、各国のシステムのバリデーションに有用であるだけでなく、参加国のシステムが有効に機能することをお互いが認識することができる点も重要である。この成果は、米国が代表して本年2月に開催されるInternational Meeting on Emerging Diseases and Surveillanceで発表される。今年度は、電子顕微鏡による病原体の同定のワークショップ、ウイルス性出血熱診断法のワークショップが予定されている。一方、IHSLNMでは、これまでカナダと

ドイツがイニシアチブを取り、エボラウイルス不活化サンプルとポックスウイルス不活化サンプルを用いた演習を行ってきたが、主催国の費用の問題から演習ができない状況にある。

E. 結論

先進国ではエボラウイルスなどのレベル4病原体を扱うことができるBSL4施設の建設が進んでいる。G7国として唯一BSL4施設を保有していなかったイタリアでもBSL4病原体による出血熱等の患者収容病棟と同一フロアにBSL4実験室3室を有する病院施設が建設中である。このため、数ヶ月後には、BSL4施設がその目的のために稼働していないのは日本だけという状況になる。一方、ウイルス性出血熱等の患者検体の国際間輸送に関しては、今後、より困難になってくることが予想される。このような現状をふまえ、ウイルス性出血熱等の患者診断における高度安全施設の緊急時使用を想定した対応が必要である。また一層実際の使用に優れた高度安全施設への改修の方向性について考察した。さらに、緊急時の対応に備えて可動式GBLを導入設置した。可動式GBLに、ネオプレーンゴム製のグローブの先端部分にOリングを介して塩化ビニール製の手袋を接続し、検体処理や細胞培養等の模擬作業を行ったところ、細かい作業も比較的容易であった。今後、これを用いて模擬作業の経験を重ねることにより、緊急時の作業に対応できる人材のトレーニングを継続して行なうことが重要である。本年度は、GHSAGLNの天然痘ワークショップが開催され、英国以外が参加し、いずれの参加国も高感度に天然痘ウイルスを検出した。このようなワークショップは、各国のシステムのバリデーションに有用であるだけでなく、参加国のシステムが有効に機能することをお互いが認識する

点で重要である。

F. 健康危機管理情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saijo M, Georges-Courbot MC, Fukushi S, Mizutani T, Philippe M, Georges AJ, Kurane I, Morikawa S. (2006) Marburgvirus nucleoprotein-capture enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies to recombinant nucleoprotein: detection of authentic Marburgvirus. *Jpn J Infect Dis.*, 59(5):323-5.
- 2) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. LC16m8, a highly attenuated vaccinia virus vaccine lacking expression of the membrane protein B5R, protects monkeys from monkeypox. *J Virol.* 2006; 80(11): 5179 - 88.
2. 知的財産権の出願・登録（予定を含む）
特許取得：該当なし

3. 学会発表

- 1) Lee SL, Di Caro A, Favier AL, Grolla AR, Lacote S, Morikawa S, Nitsche A, Olivera H, Zimmermann P, Damon IK. Smallpox Diagnostics: Global Preparedness. *International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (IMED 2007)*. 23-25 February 2007, Vienna, Austria
- 2) Morikawa S, Saijo M, Qing T, and Kurane I. Viral hemorrhagic fevers: Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *The 1st Thailand-Japan Joint Forum on Infectious Diseases*, Bangkok, Thailand, 29-30 January 2007
- 3) Saijo M, Georges-Courbot MC, Fukushi S, Mizutani T, Marianneau P, Georges AJ, Kurane I, Romanowski V, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein-base diagnosis of Lassa fever-antibody and antigen detection systems. *Filoviruses: Recent advances and future challenges*, An ICID global conference, Winnipeg, Canada, September 2006
- 4) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Highly attenuated vaccinia vaccine, LC18m8, lacking B5R membrane

protein expression protects monkeys from monkeypox. 12th International Conference of Infectious Diseases, Lisbon, Portugal, June 2006

- 5) Yokote H, Shinmura Y, Satou A, Kanehara T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, Kurata T, Hashizume S. Safety and efficacy of attenuated smallpox vaccine LC16m8 in animals. 12th International Conference of Infectious Diseases, Lisbon, Portugal, June 2006
- 6) Yokote H, Shinmura Y, Kanehara T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, Kurata T, Hashizume S. Safety and efficacy study of attenuated smallpox vaccine LC16m8 in animals. ASM Biodefence Research Meeting, Washington DC, USA, February 2006
- 7) 西條政幸、網康至、須崎百合子、永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、倉根一郎、佐多徹太郎、倉田毅、森川茂. サル痘ウイルスZr-599株（コンゴ盆地型）とLiberia株（西アフリカ型）の霊長類における病原性. 第54回日本ウイルス学会学術集会, 名古屋, 2006年11月

写真1. 可動式グローブボックス



可動式グローブボックスは分解して、運搬ボックス（白色の台部分）に収納して運搬できる。左のグローブボックス単体での使用も可能である。

写真2. 可動式グローブボックスのグローブ



可動式グローブボックスでは、ネオプレンゴム製のグローブの先端部分にOリングを介して塩化ビニール製の手袋を接続した。このため、作業性に優れる。

Ⅱ－Ⅱ．バイオセーフティとバイオセキュリティの 教育プログラムの構築

病原体を取り扱う施設におけるバイオセーフティ・バイオセキュリティの教育・研修

主任研究者	杉山 和良	国立感染症研究所バイオセーフティ管理室長	
分担研究者	安藤 秀二	国立感染症研究所ウイルス第一部	主任研究官
分担研究者	重松 美加	国立感染症研究所感染症情報センター	主任研究官
分担研究者	篠原 克明	国立感染症研究所バイオセーフティ管理室	主任研究官
分担研究者	高木 弘隆	国立感染症研究所バイオセーフティ管理室	研究官

日本国内におけるバイオセーフティの認知度は高まりつつある。しかし、近年の課題として国際的にその実効性が重要となっているバイオセキュリティに関しては、その構築のために従来のバイオセーフティの取り組みとどのように関連付けるか、また実際的なものとするためにはどのように導入すべきか、理解が進んでいるとは言い難い。体系的に実施されているバイオセーフティに関する教育プログラムは非常に限られていることから、本研究班では初年度よりバイオセーフティに関する効果的な教育システムを構築するために講義と実習を組み合わせた教育プログラムの試行を行っている。平成18年度は、バイオセキュリティの理解と導入のために、病原体を実際に取り扱う施設に対する開発を進めている教育プログラムの中にバイオセキュリティを組み入れた。また、地域における感染症対策の科学的拠点であり、感染症法の改正により地域における病原体の取り扱い管理のモデルとなることも期待されている地方衛生研究所を対象としたブロック単位の研修を前年度と同様に試行したほか、ひとつの地域における地方衛生研究所、保健所検査室、公的病院検査室をひとつの研修単位とした研修、さらにこれら公的施設に加え、臨床検査施設などの地域の病原体取り扱い施設を対象の研修単位とした教育プログラムの試行を実施し、研修対象施設の多様性に対応するための検討も行った。様々な研修形態を試行することにより、バイオセーフティとバイオセキュリティの基本的概念を背景にした汎用性の高い教育プログラムの構築が期待できる。

平成18年度に試行した各形態の教育プログラムにおける詳細と明らかになった今後検討すべき課題については以降の各報告書に記載されている。

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)
分担研究報告書
長野県の公的機関に対するバイオセーフティ研修の試行

分担研究者 安藤 秀二 国立感染症研究所ウイルス第一部 主任研究官
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 室長(主任研究者)
篠原 克明 国立感染症研究所バイオセーフティ管理室 主任研究官(分担研究者)

研究要旨

病原体を取り扱う施設は多様である。全体の組織としてはひとつである地方自治体においても、地方衛生研究所、保健所、公立病院など様々な形態の病原体取り扱い施設を持っている。平成18年度は、これらの業務形態の施設すべてを対象とした検査室バイオセーフティに関する研修会を一度の研修で実施する依頼を長野県より受けたことから、講義と実習による研修を計画、実施し、多様な施設を対象とした研修スタイルの課題点を研修終了後に行った受講者による研修内容に対する評価シートとあわせて検討した。施設の多様性も反映し、受講者の希望するバイオセーフティに関する関心も多様であった。このことから、バイオセーフティにおける個々の内容に関し十分な研修ができなかったが、体系的にバイオセーフティの全体をつかむ機会はすべての施設に不足しており、バイオセーフティの全体像を把握し、各施設の状況を念頭においてバイオセーフティに関しての対策を各々が考える機会となったことが多くの参加者から感想が寄せられた。全国的にはさらに多様な病原体取り扱い施設があることから、柔軟性のある教育プログラムの構築とバイオセーフティの個々のテーマに十分対応できる研修ツールの作成が必要であることが確認された。

A. 研究目的

病原体を取り扱う施設は、施設ごとに病原体を取り扱う目的、施設・設備環境、規模が異なることにより、バイオセーフティの基本的な対策の上に、個々の施設にあわせた準備、体制作りが必要となる。全体の組織としてはひとつである地方自治体においても、地方衛生研究所、保健所検査室、公立病院検査室など目的や業務、施設環境の異なる病原体取り扱い施設を持っている。これらの施設を対象とした検査室バイオセーフティに関する研修会を長野県より依頼を受けたことにあわせ、多様な施設に対応できる研修スタイルの課題

点を明らかにすることを目的に講義と実習による研修を実施した。

B. 研究方法

平成18年7月14日、長野保健所において下記の内容の教育プログラムの実施を、保健所検査室職員11名、公立病院検査室職員4名、地方衛生研究所8名、その他行政事務担当者1名の研修受講者に対して実施した。

午前：講義（担当：杉山）

「バイオセーフティ対策について」

午後：実習（担当：安藤、篠原）

1. PPE

2. BSC の機能と使用方法、日常点検
3. 微生物の取り扱い
4. 日常作業におけるリスク評価
5. 総合討論

研修後、参加者に各項目や研修全体に関する評価、意見、感想を求めるアンケートを実施し、講師を努めた分担並びに主任研究者の実施後の検討を含めて、研修スタイルと内容の事後評価をおこなった。

C. 研究結果

講義、実習には様々な業務目的をもつ県施設から 24 名が参加し、18 名からアンケートによる研修の評価回答を得た。アンケート回収率は 75% (18/24) であった。

実習のプログラムは受講生の希望に則した内容に加え、我々が進めている作業の評価を含めたものを構成し、長野保健所の細菌検査室を利用して実施した。

PPE の実習では、各施設で用いている PPE を持参して、異なる施設の代表者に実際の作業で使用する PPE を検査現場を想定して実装してもらい、その選択理由や装着状態を個々に確認・質疑応答をした(図 1 B)。また、汚染された可能性のある PPE において清潔・不潔の理解を深め、適切な着脱方法の実施、適切な廃棄を考察させた。受講者による評価はおおむね良好であり、予防衣の選択、マスクや手袋の脱着などのポイントについて感心が高く、PPE を実際に使用する際のポイントの普及がこれまで図られていなかったことが伺えた。しかしながら、危険度が高い病原体を取り扱う際のより高度な PPE の装着を求めた者が不十分としたほか、講師によるデモンストレーションを求める声が寄せられた(図 2. B)。

安全キャビネットの実習においては、作業

開始に当たっての注意や構造機能、日常点検に関する説明に加え、気流測定デモ、ドライアイス煙を利用した気流の確認やキャビネット作業面の気流分岐点の可視化確認させ、キャビネット内でのゾーニングについて提示した。この項目においてもおおむね良好な評価を受けたが、これまで安全キャビネットの構造や原理・機能に関する説明をまったく受けたことがない者が多く、バーナーによる気流の乱れについても理解されていなかった。一方、実際にキャビネット内で気流の確認しながら手の動かし方などの具体的作業の実施を希望した者が不十分との評価をした(図 2. C)。また、日常業務の実験検査器具を用い、通常扱う細菌やウイルスを想定させて、代表者に考察を加えながら示させ、配置の適正化とエアロゾルを発生させる操作方法や器具・機器を考察、実践させた。また、蛍光物質による通常の作業による飛沫形成、器具その他の配置をデモンストレーションした(図 1. C)。受講生による評価において不十分とした者はいなかったが、コメントからそれぞれの受講者の関心は日常所属する施設の特性を反映し、多岐にわたっていた(図 2. D)。ただし、この病原体取り扱いの手技に関しては、チューブのキャッピングやバーナーの使用等による飛沫形成、遠心操作におけるエアロゾル発生、ゾーニング、アルコール噴霧と拭き取りの違いなど、多くの施設において共通する注意点についてあらためて考察する機会となったとのコメントが寄せられた。また、熟練とともに慣れとなっている作業の仕方を見直す機会となったとのコメントもあった。

さらに、通常業務における作業の流れを把握し、リスク評価、トラブルシューティングの作成を考察する時間を設けたが、短時間で