

201123043A

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

国際的なバイオリスク管理の基準に基づく
病原体取扱いと管理のモデル総合システムの
構築と検証に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

平成24(2012)年3月

研究代表者 杉山 和良
(国立感染症研究所)

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

国際的なバイオリスク管理の基準に基づく
病原体取扱いと管理のモデル総合システムの
構築と検証に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

平成 24 (2012) 年 3 月

研究代表者 杉山 和良

(国立感染症研究所)

平成 23 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

国際的なバイオリスク管理の基準に基づく
病原体取扱いと管理のモデル総合システムの
構築と検証に関する研究

班員名簿

氏 名	所 属	職 名
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
佐多徹太郎	富山県衛生研究所	所 長
御手洗 聡	公益財団法人結核予防会結核研究所 抗酸菌レファレンス部	部 長
藤本 秀士	九州大学大学院医学研究院 保健学部門	教 授
有川 二郎	北海道大学大学院医学研究科 微生物学講座	教 授
奈良 武司	順天堂大学医学部熱帯医学・寄生虫病学講座	准教授
清水 博之	国立感染症研究所 ウイルス第二部	室 長
安藤 秀二	国立感染症研究所 ウイルス第一部	室 長
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

目 次

I. 平成 23 年度 総括研究報告

国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと管理モデル総合システムの構築と検証に関する研究

研究代表者：杉山和良（国立感染症研究所 バイオセーフティ管理室）…………… 1

II. 平成 23 年度 分担研究報告

病原体取扱いとバイオリスク管理のモデルについての研究

1. 国際的なバイオリスク管理基準による病原体取扱い基本実験室モデルプランの試作（藤本 秀士）…………… 11
2. 高圧蒸気滅菌処理の条件と温度に関する検討（杉山 和良）…………… 17
3. 国際的なバイオリスク管理基準に基づくポリオウイルス実験室封じ込めの研究（清水 博之）…………… 23
4. 特定病原体 3 種・4 種およびその他の取り扱いに関する国際管理基準の実効性の検討—実効的な株単位での病原体管理（御手洗 聡）…………… 29
5. CWA16335 バイオリスク管理専門家に求められるコンピテンシー：国際的資格認証に向けた動き（重松 美加）…………… 35

バイオリスク管理の教育 —講演、ワークショップ、研修等—

6. 大学院におけるバイオリスク管理教育コースの学習効果（藤本 秀士）…………… 47
7. 「Principles & Practices of Biosafety」研修の内容調査（杉山 和良）…………… 53
8. Effective Biosafety Training：成人教育設計に関する研究（重松 美加）…………… 57

III. 病原体等の運搬方法に関する研究

9. 病原体等の運搬に関する新たな方法の研究（杉山 和良）…………… 63
10. 特定病原体 3 種・4 種およびその他の取り扱いに関する国際管理基準の実効性の検討—チェックリストに基づく病原体等安全輸送の実施（御手洗 聡）…………… 73
11. 病原体輸送容器の再利用に関する検討（杉山 和良）…………… 79
12. 地方衛生研究所等診断施設の病原体取扱いに関する教育プログラムの研究と評価—地方衛生研究所における病原体等輸送に関するバイオリスクの低減—（佐多 徹太郎）…………… 83

I . 平成 23 年度 総括研究報告

国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと 管理モデル総合システムの構築と検証に関する研究

研究代表者 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 バイオリスク管理にはバイオセーフティとテロ対策上問題となるバイオセキュリティが含まれる。バイオリスク管理の標準化が欧州委員会(European Committee for Standardization (CEN))の主導で行われた。さらに、バイオリスク管理を実践するうえで重要なキーパーソンとなるバイオセーフティ専門家の能力(適性)についてもCENで検討され、国際組織・機関でも認定を検討している。本研究班ではバイオリスク管理について国際的基準に基づいて我が国へ導入することを目指すものである。バイオリスク管理システムの構築とその中で重要な教育訓練に関し海外での研修に参加し研修実施に関する技術を習得した。実験室内のバイオセーフティの基本となることについて実証データを収集し、教育教材作成を行った。病原体輸送容器のドライアイスによる破裂事故につき、再発防止のためのハード対策、ソフト対策の両面につき検討し改善を行った。

研究分担者

杉山 和良 国立感染症研究所 室長
佐多 徹太郎 富山県衛生研究所 所長
御手洗 聡 財団法人結核予防会結核研究所
部長
藤本 秀士 九州大学大学院医学研究院
教授
清水博之 国立感染症研究所 室長
奈良 武司 順天堂大学医学部 准教授
安藤 秀二 国立感染症研究所 室長
重松 美加 国立感染症研究所 主任研究官

めて示された。しかしながらバイオリスク管理状況は機関でかなり差が出てきている。バイオリスク管理の標準化が急務である。

ベルギーにある標準化に関する欧州委員会(European Committee for Standardization (CEN))はCENワークショップ31-実験施設バイオセーフティ・バイオセキュリティ(Laboratory biosafety and biosecurity)にてバイオリスク管理の標準化についての作業を行った。CENワークショップは関係者が標準化と明確化のために必要な項目を明らかにできるような仕組みを提供している。CENワークショップ合意(CWA)は国際基準(ISO)や欧州基準(EN)への採択の最初のステップともなるが、CWAの段階で

A. 研究目的

我が国では2008年に感染症法が改正され、2009年から特定病原体の所持規制が始まった。申請・届出、感染症発生予防規程の作成等の運用面及び取扱施設の基準が初

は国際的に適用できる自発的標準で規制力はない。

我が国ではバイオセーフティとバイオセキュリティリスクに対して総合的に緩和を図り、バイオリスク管理の強化のための取り組みは始まったばかりで基準、ロールモデル、評価対照、方法論が確立していない。特に、バイオリスク管理手法の実効性検証データが不足し、科学的根拠に基づく系統的リスク評価が実施されていない。バイオリスク管理を確実に実施していくためには各機関にバイオセーフティ専門家が必要となる。また、人材、施設・設備、労働環境、教育・訓練、必要経費のいずれかが欠損しても事故・事件が発生する可能性があるが、法規制依存から脱却した、人材育成、バイオリスク緩和志向の文化の確立に向けた積極的かつ総合的アプローチの提案がこれまでないので実施する必要がある。

本研究では既存のバイオリスク管理基準と、欧米各国の指針、WHO の参考意見を分析検討し、バイオリスク委員会の役割設定、試料管理を含むバイオリスクの管理運用の仕組みの構築バイオリスク評価の導入、教育プログラム導入の総合モデルを実験室、実験棟、施設、機関の単位で提案していく。バイオセーフティ専門家の認定の国際的な仕組みと国内への導入についての検討を行う。教育訓練に必要な実証データの収集を行う。

B. 研究方法

国立感染症研究所の研究官 4 名、結核研究所 1 名、地衛研所長 1 名、大学教官 2 名からなる研究班組織で研究を実施する。研究班テーマは、国際的なバイオリスク管理

基準でのポリオウイルス実験室の封じ込め、地衛研等診断施設の病原体取扱いに関する教育プログラム、実験室での基本的なバイオセーフティに必要な知見の実証と教育教材の検討、病原体輸送容器のドライアイスに対する強度の実証、海外バイオセーフティ研修情報収集 バイオリスク管理教育の教育プログラム等の改良、実践、評価及びバイオリスク評価教本の政策、バイオリスク管理およびその教育手法に関する基礎理論研究に大別し、それぞれの専門領域に応じて内容ごとに有機的グループを作成して活動することとした。研究協力者には海外からの参加、協力も適宜受け、国際基準であることを重視した。

本研究の実施に際しては、研修プログラムや教材の有効性、検証実験など、研修や実験の試行や開催が不可欠であり、これらへの開催協力者や参加者ら、被験者となった方々から多くの支援と協力を頂いた。

(倫理面への配慮)

本研究において倫理面の問題は無いが、アンケート調査は無記名で実施し、匿名化して取扱い、バイオリスクに関わる経験等の最小限の情報以外の個人情報には求めない。また、教育訓練の効果の評価のための小テスト等を実施するが、ID の利用など匿名化するなど倫理面への配慮を行う。その他、研究施設に対する調査や実態調査なども含め、すべて事前の説明を文書での依頼を含め関係個人や施設情報の機密保持について同意を得た上で実施し、個人や研究機関の不利益とならないようにセキュリティに配慮し、厳密な情報管理を行うため倫理面の問題は生じない。

C. 研究結果

1) 国際的なバイオリスク管理基準での封じ込め

WHO 本部ポリオ実験室ネットワーク事務局から提供されたポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用 DVD は実験室バイオセーフティ、機器の維持管理等多様な事例が具体的に取り上げられており、病原体を取り扱う実験室の安全管理の全体像を理解する上で有用な教材である。実際それを用いた教育研修に参加し、我が国への病原体取扱い実験室・検査室における教育研修に有用であり普及させる必要がある。(清水)

特定3種、4種の病原体と、臨床検体はその他に分類される結核菌に対して、既存の二次元バーコードを活用し、日常業務や実験室内活動の中で、国際基準を満たす形で継続運用が可能な電子インベントリーシステムの検証を行うため、初年度はそのプログラムと業務環境へ適用する形での改良を行った。(御手洗)

2) 地衛研等診断施設の病原体取扱いに関する教育プログラム

地衛研の現状を把握し、病原体等の運搬に関するルールを再整理し、教育研修用の効果的資料の作成に必要な事項の再検討を行った。ウイルス関係の検体は臨床検体、細菌関係は分離細菌検体がほとんどで、ほぼ職員による直接搬入であった。ドライアイスを用いた検体の輸送については輸送ガイドラインに沿った送付手続きが必要であり、ヒューマンエラーを防止する観点から、定期的で具体的な教育訓練による伝達だけでなく、簡単なマニュアル等を整備する必要がある。(佐多)

3) 実験室での基本的なバイオセーフティに必要な知見の実証と教育教材の検討

高圧蒸気滅菌器は病原体の不活性化に汎用されているが、正しく使用されないと滅菌が不十分となる可能性がある。被滅菌物として実験衣を、オートクレーブバッグに入れ、様々な条件下での滅菌の程度を検討した。高圧蒸気滅菌器による滅菌は温度と時間のみではなく、オートクレーブバッグ内に発生または取り込まれる水蒸気量の影響を受けるが、条件によっては水蒸気や温度の分布に斑ができ、滅菌されない箇所が生じる可能性が実証された。これらの成績は、教育訓練に活用できるものである。

病原体輸送容器の再利用には、内装容器の消毒や滅菌等の処理が必要である。高圧蒸気滅菌処理を行った後、国連規格試験のうち破裂試験及び内圧試験を行った。その結果、容器Aでは5回の高圧蒸気滅菌処理を行った後、容器Bでは20回行った後でも2試験とも合格であった。自社検査で使用できる対象範囲での再利用の目安を立てることができた。(杉山)

4) ドライアイスを使用した病原体輸送における安全な梱包と使用容器

病原体輸送容器の二次容器は一次容器中の病原体を二次容器外へ漏出させないため密閉性が極めて高くなっている。今回、6種類の病原体輸送容器の二次容器内にドライアイスを用いた検体の輸送については輸送ガイドラインに沿った送付手続きが必要であり、ヒューマンエラーを防止する観点から、定期的で具体的な教育訓練による伝達だけでなく、簡単なマニュアル等を整備する必要がある。(佐多)

生研究所に対する研修等で資料として使用する様提供した。成果物は、輸送時の事故防止に対して、ソフト面及びハード面の両面からの対策を促す際に最適の教材といえる。(重松、杉山)

国連規格容器の要件や、梱包手順、ゆうパックでの輸送要件の変更により、国内で必要とされる様になった金属製のオーバーパックの設計を行った。これを利用した研修の内容等の検討については次年度の活動となる。(重松、安藤、奈良、御手洗)

5) バイオリスク管理研修

米国バイオセーフティ学会主催のバイオリスク管理の基礎というトレーニングコースを受講し、コースの項目と内容及び時間、トレーニングの手法、受講者への対応方法など、教育訓練技術全般及び運営に関する調査と情報収集を受講者の立場で行い、国内での研修との違い、活用できる運用方法、講師が配慮をするべき点について検討した。(杉山)

WHO 及び米国でも導入を検討している interactive web-based training について質問の挿入や形式、各回の時間配分などの検討を行った。その一例に着目し、Effective Biosafety Training (EBT) として成人教育の在り方について報告した。この教育技術は、後述の大学院教育において一部導入し、講座で記憶に残ることの対象と言う、好意的な主観的評価を受けた。(藤本、重松)

バイオリスク管理は日常の中で実施できることが重要で、画一的な記憶が中心となる一方向性の講義形式ではなく、学習に意欲的に取り組み、知識が短期的のみならず長期的にも身につく教育が望まれる。バイ

オリスク管理教育プログラムの短期的・長期的な教育効果を判定する目的で、大学院学生対象のバイオリスク管理教育コースにおいてコース受講前後にアセスメントを行い、その結果から本コースの学習効果について検討するとともに、コース受講後1年経過した受講生にもアセスメントを行い教育効果の持続を検討した。知識の持続率は70%であり、演習を加えた教育に一定の効果が見られた。(藤本、重松、安藤)

バイオリスクの事故対応の研修に活用予定の、演習用3Dプラットフォームの改良に必要な分析は終了し、改良を行い、バーチャル空間の設計に着手した。(重松、藤本)

6) モデル実験室の検討

CWA 国際基準、WHO チェックリスト、ISO9001 検査項目などを参考に検討し、国際基準の運用を導入する実験室として大学研究実験室を候補とした。既存施設内の実験室であることから、空間の制限があることが、今後の応用に利点があると判断した。バイオセキュリティ、デザインなどの検討に入っており、次年度には実際の改良と運用指針を設定し、実際に使用して国際基準がどのように機能するかを検討する予定である。(藤本、重松、安藤、有川)

7) バイオリスク管理担当者の認証

バイオリスクの適正管理に不可欠なバイオセーフティの専門家には、世界的に統一の基準で資格があることが理想である。平成23年度に完成した欧州標準化委員会のワークショップ合意文書 CWA16335 はその専門家に求められる能力、技能、使命などを対象とした。合意に至る議論を行い、先行の CWA15793 「Laboratory biorisk

management standard」に基づき合意内容をまとめた。多くの部署を巻き込み、日常的に継続して実行することが求められるリスク管理の実施には、広い基礎知識と実践的コミュニケーション能力が重要となり、人材育成に置いても成人教育と実際に行動として具体化できるか否かを評価して行く必要があり、本合意文書が各国でどのように導入されるかの情報収集と、本邦での導入の検討が今後必要である。(重松、杉山)

D. 考察

CWA 15793:2008 には以下のことが示されている。

実験施設バイオリスク管理標準は管理システムアプローチを基礎としている。与えられた目的のために相互に関係するプロセスについてのシステムを確認し、理解し、管理することで機関の有効性と能力を改善することを意味している。

管理システムアプローチは機関が、その活力での実験施設バイオセーフティ・バイオセキュリティの観点の効果的に同定しモニターし管理することができるようにすることができる。

効果的な管理システムアプローチは機関が目標に合うようにおこなう、計画、実行、再調査及びプロセスの改善と行動のサイクルを通じての持続的改善のコンセプトにより構築されるべきである。これは PDCA(計画 Plan、実行 Do、再評価 Check、行動 Act)原理として知られている。

バイオリスク管理向上のため機関は、一致しない、望ましくない出来事の原因にフォーカスを充てる必要がある。シス

テム欠陥への体系的確認と修正によりバイオリスクのパフォーマンスと管理の向上が図れる。

以上のように、機関におけるバイオリスク管理の標準化にあたっての国際的基準が示されている。本研究ではバイオリスク強化のためのシステムの提言及び教育訓練における有益な資料が得られてきている。さらに発展させていく。

平成 23 年 10 月に臨床検体をゆうパックで郵送中に容器が破裂するという事故がおこった。各機関では、各種マニュアルの作成、チェック機能の保持、教育訓練等を通じこの種の事故を起こさないように努めているはずであるが、各種機関の現場ではまだまだ不十分なところがあることが示されたケースであると思われる。各機関で至急再発防止策を立て実行しなければならない。このためにはバイオセーフティ専門家を各機関にしっかりと置くことが重要である。本研究では防止対策について検討を行った。今後の人為的ミス防止の一端を担えるものと思われる。

E. 結論

教育訓練のための情報収集と、利用できる教材を用いての教育訓練の実施を行った。実証データをもとに教育訓練の教材を作成した。ドライアイス破裂事故対策を中心にミス防止のための方策を検討した。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 杉山和良：実験室におけるバイオハザード、リスク評価、病原微生物のリスク分類、組織管理と健康管理
バイオセーフティの原理と実践
39-45,50-54,54-58,73-85, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含み)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

Ⅱ. 平成 23 年度 分担研究報告

病原体取扱いとバイオリスク管理の
モデルについての研究

国際的なバイオリスク管理基準による病原体取扱い基本実験室モデルプランの試作

研究分担者 藤本 秀士 （九州大学大学院医学研究院保健学部門）
研究分担者 重松 美加 （国立感染症研究所感染症情報センター）
研究協力者 小島 夫美子 （九州大学大学院医学研究院保健学部門）

研究要旨

バイオリスク管理はソフト面（病原体を安全に取扱うための知識と作業技術）とハード面（安全に配慮して設計された実験室・設備・機器）の要素で構成され、両者は互いに密接に関連し合っており、施設・設備が安全かつ実際の作業に適したものでなければ個人の技量は十分に発揮できない。バイオリスク管理のレベル向上には、国際的な基準を踏まえた実験室において実際に病原体を取扱い、わが国で起こりうる様々な事態を想定したシミュレーション等を行うことが効果的である。本研究では、バイオセーフティレベル（BSL）1～4のうち、基本実験室となる BSL2 を対象にモデル実験室プランを試作した。病原体取扱い施設・実験室では、国際的な基準および国内法を踏まえたうえで、バイオリスク管理を考慮した設計、設備と配置が求められ、設計知識のみならず、中での作業を熟知した上での検討が必要不可欠である。そして、ソフト面の要素である病原体を安全に取扱うための知識および作業技術との相互作用によってバイオリスク管理が可能となる。実際の実験室と構造・設備が同じであるモデル実験室で作業トレーニング、実験室内での緊急事態を想定した対応演習を行うことはバイオリスク管理

A. 研究目的

バイオリスク管理（バイオセーフティおよびバイオセキュリティ）は、病原体を取り扱う施設やその関連部署にいる者には不可欠の事項である。

バイオリスク管理はソフト面とハード面の要素で構成され、ソフト面の要素は病原体を安全に取扱うための知識と作業技術であり、ハード面の要素は安全に配慮して設計された実験室・設備と生物学的安全キャビネット（BSC）を含めた機器が中心となる。両者は個々独立の事項ではなく、互いに密接に関連し合っており、施設・設備が安全かつ実際の作業に適したものでなければ個人の技量は十分に発揮できない。

わが国のバイオリスク管理のレベルをより

向上させるには、国際的なバイオリスク管理基準を踏まえた病原体取扱実験室において実際に病原体を取扱い、わが国で起こりうる様々な事態を想定したシミュレーション等を行うことが効果的であり、そのためのモデル実験室の構築が望まれる。

モデル実験室は、諸外国では、すでに教育プログラムにおいても、実験室内での手洗いや個人防衛具（PPE）の着脱、病原体取扱いトレーニング、実験室内での緊急事態を想定した対応演習等に使用され、実践的な技術修得にも利用されている。

そこで、本研究では、国際的なバイオリスク管理基準を踏まえた病原体取扱実験室の構築を見据えたモデルプランを試作した。

B. 研究方法

実験施設は、バイオセーフティレベル (BSL) 1 および BSL 2 (基本実験室), BSL 3 (封じ込め実験室), BSL 4 (高度封じ込め実験室) に分類され, 各 BSL に適合する実験室の国際基準は WHO から指針・勧告が示されている (Laboratory biosafety manual 実験室バイオセーフティ指針, WHO 第 3 版)。

このうち, BSL 2 の実験室は基本実験室としてそれ以上のレベルの BSL 実験室の基本になる。病原体を取扱う実験室は全て、BSL 2 またはそれ以上に設計されていなければならない。そこで, 今回は WHO 指針を参照に BSL 2 実験室プランを試作した。

C. 研究結果

C.1. モデル実験室の概要

WHO 指針は, BSL1~4 に適合する実験室について, その設計上の特徴、建設方式、封じ込め設備、機器などに関して基準を示している (別添 1 BSL 別施設基準要約を参照)。

同指針は, BSL 2 実験室の設計にあたって, 安全対策上の問題点として次のような点に特別な注意を払うべきとしている。

1. エアロゾルの発生
2. 大量かつ (または) 高濃度の微生物の取扱い
3. 室内の人員および機器の過多
4. 齧歯類・節足動物の蔓延
5. 無許可の立ち入り
6. 作業の流れ: 特定のサンプル・試薬の使用

本研究では, これらの点を考慮した上で, 基本実験室 (BSL 2) のモデルプランを作成した。

C.2. 建築仕様

別添 2 にモデル実験室とする部屋の下図を示す。この部屋は架空の研究施設内にあり, 柱間 (スパン) が縦 5400 mm・横 3600 mm の仕様である。建物の柱間 (スパン) を単位とし

てとらえ, 本研究では, 廊下に面した 2 スパン分を実験室として使用する想定にした。室内の建築仕様は, スピル等による病原体汚染の際に除染が可能となるように床・壁・天井は防水性・耐薬品性機能を備えた汚れにくい材質である。床面は滑り止め仕様である。また, 部屋の廊下側には窓は設けず, 壁側には採光用に窓を設けて通常は開閉できないように施錠している設定である。図には示していないが, 廊下には緊急シャワー, 洗眼設備, 消化設備等が設置してあり, 廊下側の入口付近および室内にはテレビカメラが設置してある。

C.3. 室内設備およびその配置

別添 3 にモデル実験室の室内設備およびその配置を示す。

実験室には二カ所に扉がある。このうち, 扉 A (図左) は通常の鍵による施錠システムであり, 通常は閉めて施錠した状態とし, 機材の搬入・搬出時にのみ使用する。内側からはキー無しで開錠可能であり, 緊急時には避難口としても使用する。扉 B (図右) は電気錠 (カード認証) であり, 普段の出入口として使用する。扉 B 付近には白衣を着替える場所と自動水洗の手洗いを設置した。また, 機械的換気システムによって空気が室内に向けて流れさせて室内が陰圧となる設計である。排気口が扉 A のスパンの窓側に設置され, 通常出入口である扉 B 側からの気流が出来る。

室内中央に実験台を設置し, 周囲に機器を配置する設計にした。電源 (コンセント) は, 床の除染を想定して床面には設けず, 壁の高い位置および中央実験台部分に設置してある。機材の搬入・搬出用扉 (扉 A) 室内は通常出入口 (扉 B) 側の奥に BSC Class II A2, 同じスパンの壁際に培養機器を配置した。オートクレーブは廃棄物処理が主な目的のため, 同じスパン内に設置した。通常出入口側のスパンには, 奥に物品・薬品棚, フリーザーを配置し, 試薬調整時のケミカルハザード対策のためにドラフトチャンバーを置いた。機器設備の配置にあたり, 通路幅として 1500 mm 以

上を確保した。

D. 考察

病原体を取り扱う実験施設の構造および設備を含めた内部環境は、バイオリスク管理でのハード面の要素として極めて重要であり、国際基準を満たすのみならず、日本国内の関連法規基準をも遵守し、かつ、安全で実際の作業に適したものでなければならない。

実験室作業の安全には、室内の人員過密・機器の過多を無くし、作業の流れを考慮して、実験室内の作業動線の乱れを最小限にとどめる必要がある。清掃や保守のためにも十分なスペース確保が肝要である。本プランでは、中央実験台周囲に通路幅を十分にとり、機器も BSC や高速遠心器、培養機器、オートクレーブなど目的作業に不可欠な基本的なものにとどめた。

病原体の取扱では、特に、大量かつ（または）高濃度の微生物を取扱い、発生するエアロゾルに対しては、BSC を含めた安全機器の配置および室内気流に十分な注意が必要である。出入口（扉 B）付近に前室的スペースを設け、機械的換気システムによって空気が扉 B 側から BSC 側へ流れるようにしている。十分な通路幅は、人の動きによる BSC の内部気流への影響を防ぐ。

バイオセキュリティ面では、防犯対策は不可欠であり、特に入退室管理は重要である。本モデル実験室では、無許可の立ち入りを防止するために2つの扉のうちの通常出入口として使用する方には電子錠を導入し、入退室管理をすることにした。テレビカメラはBSL2施設では必須ではないが、設置すれば入退室を監視するとともに、実験室内で行われている作業を見ることで、防犯のみならず緊急事態にも対処できる。

E. 結論

病原体取扱い施設・実験室では、バイオリスク管理を考慮した設計、設備と配置が求められ、設計知識のみならず、中での作業を熟

知した上での検討が必要不可欠である。そして、ソフト面の要素である病原体を安全に取扱うための知識および作業技術との相互作用によってバイオリスク管理が可能となる。実際の実験室と構造・設備が同じであるモデル実験室で作業トレーニング、実験室内での緊急事態を想定した対応演習を行うことはバイオリスク管理の実践面からも推奨できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

別添 1. 各バイオセーフティレベルに必要な施設・設備のまとめ

	バイオセーフティレベル			
	1	2	3	4
実験室の隔離 ^a	不要	不要	要	要
部屋の気密封鎖性（汚染除去のため）	不要	不要	要	要
換気：				
室内方向への気流	不要	望ましい	要	要
換気システムの制御	不要	望ましい	要	要
排気のHEPA 濾過	不要	不要	要 / 不要 ^b	要
入口部に二重のドア	不要	不要	要	要
エアロック	不要	不要	不要	要
エアロックにシャワー	不要	不要	不要	要
前室	不要	不要	要	—
前室にシャワー	不要	不要	要 / 不要 ^c	不要
排水処理	不要	不要	要 / 不要 ^c	要
オートクレーブ：現場設置	不要	望ましい	不要	要
室内設置	不要	不要	望ましい	要
両面オートクレーブ	不要	不要	望ましい	要
生物学的安全キャビネット	不要	望ましい	要	要
作業員の安全モニタリング設備 ^d	不要	不要	望ましい	要

a 一般の交通とは環境および機能を分離する。

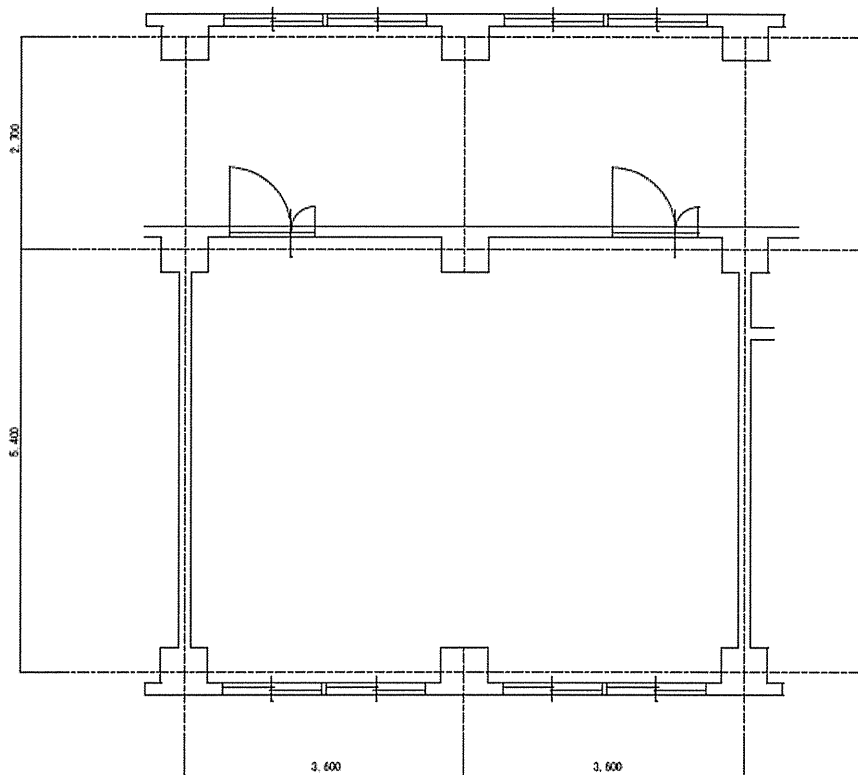
b 排気系の位置によって異なる。

c 実験室内で取り扱われる病原体によって異なる。

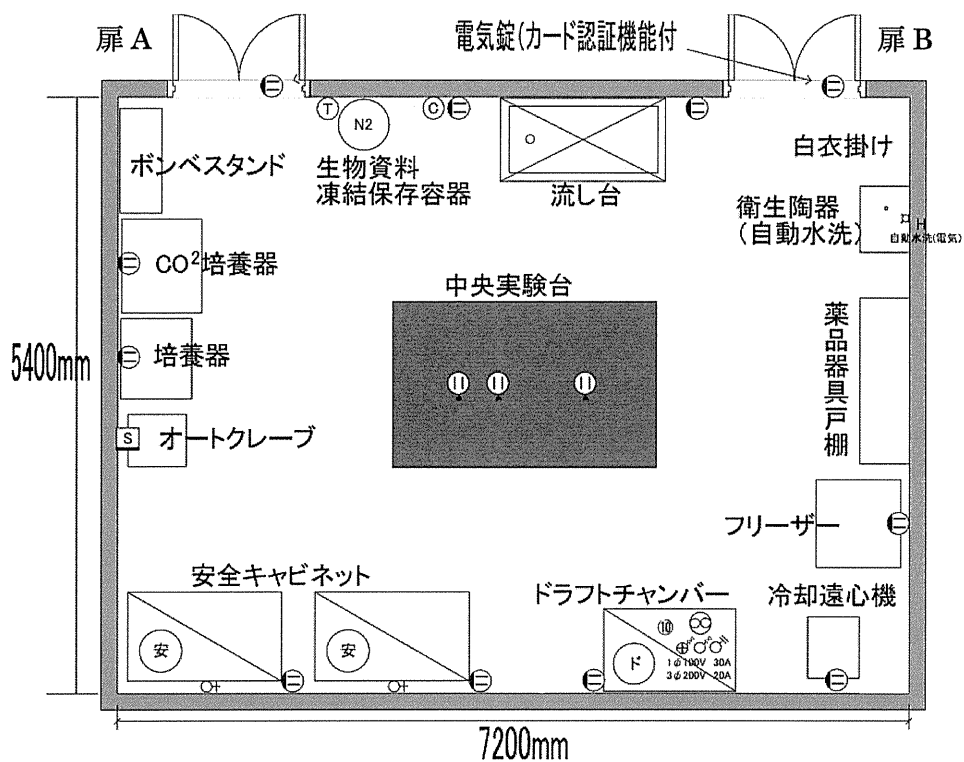
d 例えば、覗き窓、有線テレビシステム、双方向性通信システムなど。

WHO Laboratory biosafety manual 第3版より

別添2. モデル実験室にする部屋の建築概要（図面）



別添3. モデル実験室（BSL2）の設備・機器とレイアウト



高圧蒸気滅菌処理の条件と温度に関する検討

研究分担者 杉山和良（国立感染症研究所バイオセーフティ管理室）
研究協力者 伊木繁雄（国立感染症研究所バイオセーフティ管理室）

研究要旨

病原体の不活化の際汎用されるのが高圧蒸気滅菌器であるが、被滅菌物の状態によっては滅菌が不十分となる可能性が懸念される。本研究では、被滅菌物として実験衣を、また被滅菌物を収容する容器としてオートクレーブバッグを用い、様々な条件の下で高圧蒸気滅菌処理を施し、温度記録計及びバイオロジカルインジケータにより処理状況を確認した。また処理後オートクレーブバッグ内に残存する水蒸気量を重量により測定した。

その結果、処理後内部に残存した水蒸気量は条件により異なったが、一定量を超えることはなかった。水の添加がないまたは添加量が少ない場合、残存水蒸気量や温度が低くなる傾向がみられた。オートクレーブバッグを密閉した場合の残存水蒸気量は開放時に比べ極端に少なく、また実施したいずれの条件の組み合わせでも密閉状態を維持したまま滅菌されることはなかった。

オートクレーブによる滅菌は温度と時間のみではなく、オートクレーブバッグ内に発生または取り込まれる水蒸気量の影響を受けるが、条件によっては水蒸気や温度の分布に斑ができ、滅菌されない箇所が生じる可能性が示唆された。したがって、効率の良い高圧蒸気滅菌を行うためにはオートクレーブバッグの容積に合わせた適量の水を加えることが望ましく、インジケータの設置位置についても水蒸気の分布を考慮した十分な検討が必要と考えられた。今回得られた結果は、教育訓練の場で大いに活用できるものであると考えられた。

A. 研究目的

病原体取扱後には、用いた材料や器具等の消毒・滅菌処理が必須であるが、この際汎用されるのが高圧蒸気滅菌器である。高圧蒸気滅菌は高温・高圧の条件下で飽和水蒸気被滅菌物に接触した際に放出される凝縮熱を利用して微生物を殺滅するが、被滅菌物の形状や配置によっては水蒸気が十分に行き渡らないことが想定され、この場合滅菌が不十分となる可能性が懸念される。したがって、想定される幾つかの条件下において高圧蒸気滅菌処理を行い、装置内の温度分布について調査

した。

オートクレーブバッグについては、発生した水蒸気が被滅菌物に到達するよう水蒸気透過性を持つ材質であることが謳われているものも存在するが、実際の内部温度については不明である。このため汎用されるオートクレーブバッグを用い、内部温度について検証した。

B. 研究方法

被滅菌物として実験室用ガウン 2 着を用い、これらをポリプロピレン製オートクレーブバッグ（容積約 35,000cm³）中に縦に重ねて入れ、(1)設定温度(121, 124, 128, 132℃)、(2)設定時間(10～180 分)、(3)オートクレーブバッグの口(開放, 密閉)、(4)オートクレーブバッグ内への水の添加量(0, 50, 100, 200ml)の各条件を組み合わせ、高圧蒸気滅菌器による処理を行った。オートクレーブバッグの口は上向きとし、開放の場合は口径を 3cm とした。

温度の検証には高温・高圧条件にて測定可能な温度記録計を使用し、1 分ごとに計測した。滅菌の指標には市販のバイオロジカルインジケータ（BI）を用いた。温度記録計と BI はオートクレーブバッグ内の 4 ヶ所（①実験衣の上、②上の実験衣内中心部、③下の実験衣内中心部、④実験衣の下）に一緒に設置し確認した。またバッグ内への水蒸気の流入量と内部での水蒸気の発生量についても重量にて計測した。

C. 研究結果

オートクレーブバッグの口を開放した場合、処理後内部に残存した水蒸気量は条件により異なったが、一定量を超えることはなく、概ね 30～40ml の範囲に収まった（表 1）。オートクレーブバッグ内への水の添加がない場合は残存水蒸気量が少なくなる傾向が見られたが、これは処理時間の延長により改善された。

オートクレーブバッグの口を密閉した場合、オートクレーブバッグ内に水を添加しなかった際の残存水蒸気量は開放時に比べ極端に少なかった。また計測した 4 ヶ所の温度も設定温度まで上がることはなかった。これは水を添加することである程度改善されたが、オートクレーブバッグが容易に破損する結果となった。

日本薬局方により定義される高圧蒸気滅菌のうち 121℃, 15 分以上及び 115℃, 30 分以上を満たす測定値が計測された処理条件を表 2 に示すが、いずれも口を開放した場合であった。BI による滅菌判定結果を表 3 に示すが、この結果は温度の計測記録に厳密ではなく、定義を満たしていない場合であっても滅菌される場合があった。

オートクレーブバッグの口を閉じた状態では、水の添加の有無にかかわらずいずれの条件の組み合わせでも密閉状態を維持したまま滅菌されることはなかった。

D/E. 考察と結論

高圧蒸気滅菌は水蒸気を持つ凝縮熱を利用した滅菌方法であるが、水蒸気が釜や被滅菌物の内部に充満し被滅菌物に直接接触することが効率的な滅菌へと繋がることから、多くの高圧蒸気滅菌器は釜の内部を水蒸気で飽和するために工程初期の段階で内部の空気が除去される仕組みとなっている。しかし、条件によっては部分的に空気が残り、その結果温度にむらが生じ十分な滅菌効果が得られない可能性がある。

今回はポリプロピレン製のオートクレーブバッグを用い、オートクレーブバッグ内部における水蒸気の取り込みや発生状態の違いによる温度と滅菌効率の比較を行った。その結果、オートクレーブバッグを密閉した場合は内部に取り込まれる水蒸気量が少なく、内部の温度は全体的に上昇しにくい傾向が見られた。滅菌効果をもたらすためには設定温度を上げ、設定時間も延ばす必要が生じたが、この設定条件ではオートクレーブバッグ内に取り込まれた水蒸気によりオートクレーブバッグが膨張して穴が開き、密閉状態を維持できなかった。また内部に水を添加することにより滅菌効率は改善されたが、内部で発生した