

水蒸気によりオートクレーブバッグが膨張し、温度や時間を緩く設定しても破裂した。したがって、高圧蒸気滅菌の際は密閉しないことが必須であると考えられた。

オートクレーブバッグを開放した場合には密閉時に比べ効率よく水蒸気がオートクレーブバッグ内に取り込まれたが、内部に水を加えなかった場合は開口部に近い上部に比べ下部における温度や滅菌効率が低くなる傾向が見られた。これは開口部より取り込まれた水蒸気が内部全体に十分に行き渡っていないことを示唆している。オートクレーブバッグ内に水を添加した場合は、上部と下部の温度差や滅菌効率の差が緩和された。これは、内部で発生した水蒸気により上下間の水蒸気量の差が縮まったためと思われる。ただし、水の添加量や設定温度、設定時間により内部の温度差や滅菌効果の違いが生じた。

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、高圧蒸気滅菌時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とともに、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。

高圧蒸気滅菌は水蒸気を持つ凝縮熱により、有害物質を発生させることもなく安全に感染性物質を不活化できる優れた滅菌法であるが、凝縮熱を被滅菌物に対し効率よく作用させるには、オートクレーブバッグ内部をできる限り斑のない水蒸気量で満たすことが要求される。処理される条件は状況により様々であるが、それぞれの状況に応じた効率のよい滅菌方法と適切な検証方法を検討すべきである。今回得られた結果は、国際的な高圧蒸気滅菌

の基準をさらに詳細に検討したものであり、病原体等の無害化のモデルとして活用できるものであると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 伊木繁雄, 杉山和良; 高圧蒸気滅菌処理の条件設定に関する検討, 第11回日本バイオセーフティ学会学術集会, 平成23年12月1日~2日, つくば

H. 特許出願状況

なし

表 1 オートクレーブバッグ内残存水蒸気量 (g)

水の添加	温度 (°C)	min		20	30	40	60	90	120	180
		開放	密閉							
なし	121	開放		30.7			30.5	31.2	37.8	35.8
		密閉		8.5			13.3			
	124	開放					42.3	33.9	35.7	
		密閉					14.4			
	128	開放		33.0		38.1	36.2	38.1		
		密閉		10.7						
	132	開放		34.6	37.2	39.4	37.4			
		密閉		10.3		14.8				
50ml	121	開放	29.5		33.9	33.0	36.7	36.3	36.0	
	124	開放		35.8	34.5	39.1				
	128	開放	33.2	33.5						
	132	開放	34.2	34.7						
100ml	121	開放	32.5		31.2	40.4	38.9			
	124	開放	36.3	33.0	36.0	34.7				
	128	開放	38.7	37.5						
	132	開放	36.4							
200ml	121	開放	33.6		38.1	38.7	39.5			
	124	開放		35.8	33.7	37.7				
	128	開放		37.3						
	132	開放	39.4							

表 2-1 121°C, 15分以上を記録した処理条件

121°C, 15min以上

水の添加	時間(min)	10	15	20	30	40	50	60	70	80	90	100	120	180
なし	121°C													x
	124°C										x	o		
	128°C							x	o					
	132°C				x	o								
50ml	121°C					x	o						x	o
	124°C					x	o							
	128°C			xx	ox									
	132°C		x	xo	o									
100ml	121°C					x	oo			x	x	oxo		
	124°C					x	oo							
	128°C		xxx	x	o									
	132°C		x	ox										
200ml	121°C					x	o				x	o		
	124°C					x	o							
	128°C		xx	x	o									
	132°C		x	ox										
400ml	121°C													
	124°C													
	128°C													
	132°C													

表 2-2 115°C, 30分以上を記録した処理条件

115°C, 30min以上

水の添加	時間(min)	10	15	20	30	40	50	60	70	80	90	100	120
なし	121°C										x	oo	o
	124°C						x	o					
	128°C						x	o					
	132°C				x	o							
50ml	121°C					xx	o						
	124°C				xx	o							
	128°C			xx	ox								
	132°C		x	xo									
100ml	121°C					x	o						
	124°C				x	o							
	128°C		xxx	x	o								
	132°C		x	ox									
200ml	121°C					xx	o						
	124°C				x	o							
	128°C		xx	x	o								
	132°C		x	ox									
400ml	121°C												
	124°C												
	128°C												
	132°C												

表3 バイオロジカルインジケータ（BI）による滅菌判定結果

BI		10	15	20	30	40	50	60	70	80
なし	121℃								× ×	○
	124℃						×	○		
	128℃				×	○				
	132℃									
50ml	121℃				×○	×○	○			
	124℃				○	○				
	128℃	×		×○	○					
	132℃	○	○	○						
100ml	121℃				×	○				
	124℃			× ×	○					
	128℃	×	○○○	○						
	132℃	○	○	○						
200ml	121℃				○ ×	○				
	124℃			×	○					
	128℃	×	○ × ○	○						
	132℃	○	○	○						
400ml	121℃									
	124℃									
	128℃									
	132℃									

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究推進事業）
分担研究報告書

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

研究分担者 清水 博之 国立感染症研究所 ウイルス第二部
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

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の内容を確認し、本教育訓練資料を用いたWHOバイオセーフティワークショップに参加した。WHOポリオ実験室教育訓練DVDは、実験室のバイオセーフティ、機器の維持管理、バイオセーフティ以外の実験室安全管理、実験室のアレンジメント等、多様な事例が具体的に取り上げられており、病原体を取扱う実験室の安全管理の全体像を理解するうえで有用な教育訓練資料である。国際的に標準化されたバイオセーフティ教育プログラムのひとつとして、ポリオ実験室のみならず、臨床検体や病原体を取扱う国内外の実験室・検査室における教育研修への活用が期待できる。

WHO 野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階評価報告書作成以降、ポリオウイルスを新たに保有した可能性を有する研究施設を複数の調査により抽出した。予備調査の結果により特定された施設に対しポリオウイルス保有実態調査を実施することにより、国内野生株ポリオウイルス保有施設リストを更新する。

A. 研究目的

ポリオウイルス感染は不顕性感染の割合が高いため、実験室検査による確定診断は、世界ポリオ根絶計画にとって不可欠な機能として位置づけられている。世界中すべての国・地域をカバーしうるポリオウイルス病原体サーベイランス体制を確立するため、WHOは、世界ポリオ実験室ネットワークを整備し、高度に標準化された実験室診断によるポリオ確定診断を実施している。WHOポリオ実験室では、臨床検体から、野生株を含むポリオウイルスの分離同定検査を日常的に行うため、全国各地域の研究所・実験室・検査室の実態に即した、バイオセーフティの知識および技術習得のための教育訓練システムの確立が求められている。

WHO本部ポリオ実験室ネットワーク事務局では、最近、ポリオ実験室ネットワークで用いるバイオ

セーフティ教育訓練用の実用的な研修教材として、6巻からなるバイオセーフティ教育訓練用DVDを作成し、一部施設および担当者に配布した。2010年より、各地域で、教育訓練用DVDを用いたバイオセーフティワークショップを実施し、実験室・検査室のバイオセーフティや運用に関わる基本的かつ標準的な知識・技術の普及に務めている。ポリオ実験室ネットワーク用教育訓練用DVDは、国際的に標準化されたバイオセーフティ教育プログラムのひとつとして、ポリオ実験室のみならず、臨床検体や病原体を取扱う実験室における教育訓練資料として、きわめて有用であると考えられる。

本年度の研究報告では、WHOから提供されたポリオ実験室ネットワーク用バイオセーフティ教育訓練用DVDの内容について紹介するとともに、WHO西太平洋地域ワクチン予防可能疾患実験室ネットワーク会議で実施された、本研修資料を用いたバイ

オセーフティワークショップの内容について報告する。また、本教材を用いた教育研修の一環として、2011年度JICA集団研修「ポリオ及び麻疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」への海外からの参加者を対象として、バイオセーフティ教育訓練を実施した。

WHOは「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画」を策定し、全世界で統一された基準の下、ポリオウイルス野生株の実験室封じ込めを進めることを、すべての加盟国に求めている。我が国も、2008年、野生株ポリオウイルス保有施設リストを含む野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階評価報告書をWHO西太平洋地域ポリオ根絶認定委員会に提出したが、その後も野生株ポリオウイルス保有実態のフォローアップが必要となる。今年度は、ポリオウイルス保有施設リストのアップデートのため、2008年以降、新たにポリオウイルスを保有した可能性のある施設・実験室を特定するための予備的調査を実施した。

B. 研究方法

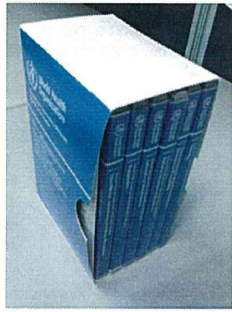
- 1) WHO 本部ポリオ実験室ネットワーク事務局から提供された、ポリオ実験室ネットワーク用バイオセーフティ教育訓練用DVD (WHO Global Polio Laboratory Network Biosafety Campaign)および添付資料の内容を確認し、研修内容を検討した。
- 2) 2011年WHO西太平洋地域ワクチン予防可能疾患実験室ネットワーク会議で実施されたバイオセーフティワークショップに参加した。バイオセーフティ教育訓練用DVDを用いた教育訓練の流れについて理解するとともに、各国からの参加者とバイオセーフティに関わる問題点に関する討議を行った。
- 3) JICA 集団研修「ポリオ及び麻疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」(Laboratory Diagnosis Techniques for the Control of Vaccine Preventable Diseases, including

Poliomyelitis and Measles、2012年1月16日～2月10日)への参加者を対象としたバイオセーフティ教育訓練のため、ポリオ実験室ネットワーク用バイオセーフティ教育訓練用DVDを用いた教育研修を実施した。

- 4) 2008年、WHOに提出した野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階最終評価報告書作成以降、ポリオウイルスを、新たに保有した可能性を有する研究施設を、ポリオウイルス関連論文調査(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業エンテロウイルス感染症制御のための診断・予防治療に関する国際連携研究、平成22年度報告書)、ポリオウイルス関連学会発表、国立感染症研究所等へのウイルス分与依頼、等、複数の情報により抽出した。ポリオウイルス保有の可能性を有する研究施設担当者に対して、メール等による予備的調査を実施した。

C. 研究結果

- 1) ポリオ実験室ネットワークバイオセーフティ教育訓練用DVD (WHO Global Polio Laboratory Network Biosafety Campaign)は、WHO本部により2009年に作成され、アフリカ・アジア等、ポリオ流行地を含む地域の実験室担当者およびWHO専門家等による評価を経て、現在、世界ポリオ実験室ネットワークへの導入が進められている。本教育訓練用DVDは、以下の6つのモジュールから構成されている。
 - 1) Autoclave, disinfection and waste management
 - 2) Equipment
 - 3) Laboratory Infrastructure
 - 4) PPE (personal protective equipment)
 - 5) Emergency procedures
 - 6) Training



各モジュールには、印刷物として指導者用資料(presenter's note)および教育訓練ガイドラインが添付されており、各モジュールの概要、目的および標準的な教育訓練スケジュールが把握できるようになっている。

ビデオは、3つのセグメントに分かれており、おおむね、1)各モジュールの全体像、2)実験・検査の流れに即したビデオ映像によるバイオセーフティに関する留意事項の確認(教育訓練参加者による“間違い探し”）、3)モジュール全体のまとめと改善点に関する論点提供、により構成されている。ビデオ全体をそのまま流すと、15分程度の時間を要するが、教育訓練指導者による概要説明やビデオ映像をもとにした討議や質疑応答の時間を含め、各モジュール約2時間程度の教育訓練が想定

されている。

ビデオの内容は、すでに一般的なバイオセーフティに関する教育訓練を終了しポリオウイルスを含む病原体や臨床検体の取扱いに従事している検査担当者あるいはバイオセーフティに関する教育訓練を担当する教育訓練指導者を対象としており、実験室・検査室で実際に発生する可能性のある多くの問題点が、過不足なく取り上げられている。取り上げられている問題点の多くは実験室のバイオセーフティに関わる事例だが、機器の維持管理、情報セキュリティ、バイオセーフティ以外の実験室安全管理、実験室のアレンジメント、等多様な事例が具体的に取り上げられており、病原体を取扱う実験室の安全管理の全体像を理解するうえで有用な教育訓練資料といえる。本バイオセーフティ教育訓練用DVDは、ポリオウイルス実験室のみならず、病原体や臨床検体を取扱う実験室および検査室における教育訓練資料として応用可能であると考えられるが、我が国の実験室で用いるためには、各研究施設の実態に即した研修内容の確認評価とDVD資料および指導者用資料の和訳が必要である。

Training materials for Modules 1-6. Each module consists of a Presenter's Notes, a Leaflet and a Prompt Card

DVD covers for Modules 1-6. The description on the back of the cover is the same as the description on the back of the DVD box set.

Training Guidelines for the Presenter (you may want to start with this document first)



* You will also receive a DVD containing all 6 videos for Modules 1-6. These videos are in .wmv format and should be able to open using Windows Media Player

Presenter's Notes Prompt Card Leaflet

Documents for one module
(inserted inside DVD case together with DVD)

2) 2011年WHO西太平洋地域ワクチン予防可能疾患実験室ネットワーク会議の際、各国実験室担当者を対象としたバイオセーフティワークショップが実施された(2011年9月6-7日、WHO/WPR、マニラ)。ワークショップは、18ヶ国からの約50名の研修参加者を3つのグループに分けて、約1日半のスケジュールで実施された。各モジュールについて、1名の進行役および書記が、それぞれ、司会進行と討議内容の取りまとめを行い、各グループの代表が研修と討議内容のサマリーについて発表を行った。日本からは、感染研のポリオ実験室および麻疹・風疹実験室診断担当者、バイオセーフティ専門家の計4名が参加した。バイオセーフティワークショップは、WHOポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用DVDを用いて

行われ、標準的な教育訓練スケジュールに基づいて進行された。WHOバイオセーフティワークショップに参加することにより、教育訓練用DVDを用いた教育訓練の実際の流れについて理解することが出来、また、バイオセーフティを含む実験室の安全管理および教育訓練に関する情報交換の場として有意義であった。

3) JICA 集団研修「ポリオ及び麻疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」(Laboratory Diagnosis Techniques for the Control of Vaccine Preventable Diseases, including Poliomyelitis and Measles, 2012年1月16日~2月10日)への参加者を対象としたバイオセーフティ教育訓練のため、ポリオ実験室ネットワーク用バイオセーフティ教育訓練用DVDを用いた教育研修を実施した

(2012年1月25日)。本研修では、例年、一般的なバイオセーフティに関する講義および安全キャビネットの使用法等に関する実習を実施しているが、本年度は通常のバイオセーフティ研修に加えて、WHO ポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用DVDを用いた教育訓練を実施した。本年度の研修生は、6カ国からの8名で、感染研ポリオ実験室診断責任者とバイオセーフティ専門家各1名が、教育訓練を担当した。本年度の研修には、野生株ポリオウイルス流行地で実際に実験室診断を担当している技術員や実験室診断には従事していない専門家等が研修員として参加したが、本教育訓練用DVD映像を基にして研修員間で討議を行うことにより、具体的な問題点の把握や改善点の抽出をスムーズに行うことが可能となった。バイオセーフティ教育訓練用DVDを用いた今回の教育訓練は、研修参加者にも好評であった(*At my lab, the basics of biosafety and their implementation is urgently needed required for the protection of safety of lab personnel ………, comment in the questionnaire by a participant from Pakistan*)。

4) WHO に提出した野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階最終評価報告書(2008年12月提出)作成以降、ポリオウイルスを新たに保有した可能性を有する研究施設を、ポリオウイルス関連論文調査、ポリオウイルス関連学会発表、国立感染症研究所等へのウイルス分与依頼、等、複数の情報により抽出した。ポリオウイルス保有の可能性を有する8研究施設を新たに抽出し、担当者に対して、メール等による予備調査を実施した。本年度の予備調査の内容は以下の通りとした。

1) 貴施設で、ポリオウイルス(ワクチン株、野生株、ワクチン由来株、その他)を使用あるいは保管していますか?

2) 貴施設で、ポリオウイルス感染性材料を使用あるいは保管していますか?

3) 今後、貴施設におけるポリオウイルス保有実態について、より詳細な調査票を送らせていただくことは可能ですか?

D. 考察

WHO本部ポリオウイルス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の内容を確認し、本教育研修資料を用いたWHOバイオセーフティワークショップ(2011年9月、WHO/WPRO、マニラ)に参加した。JICA集団研修(2012年1月)の研修生に対し、本資料を用いた教育研修を実施した。本教育研修DVDには、実験室のバイオセーフティ、機器の維持管理、バイオセーフティ以外の実験室安全管理、実験室のアレンジメント、等多様な事例が具体的に取り上げられており、病原体を取扱う実験室の安全管理の全体像を理解するうえで有用な教育訓練資料である。ポリオ実験室教育訓練用DVDは、国際的に標準化されたバイオセーフティ教育プログラムのひとつとして、ポリオ実験室のみならず、臨床検体や病原体を取扱う実験室における教育訓練資料として、国際研修等への活用が期待できる。本資料を国内のバイオセーフティ教育研修で用いるためには、各研究施設の実態に即した研修内容の確認とDVD資料および指導者用資料の和訳等による研修内容の理解が必要である。

WHO 野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階最終評価報告書(2008年12月提出)作成以降、ポリオウイルスを新たに保有した可能性を有する8研究施設を、複数の情報により抽出した。予備調査の結果により特定された施設に対しポリオウイルス保有実態調査を実施することにより、国内野生株ポリオウイルス保有施設リストを更新する。国内ポリオ根絶会議WHO年次報告書等を介して、ポリオウイルス保有実態に関する報告を継続する。

E. 健康危機情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表（分担執筆した報告書等を含む）

- 1) Fujimoto T, Iizuka S, Enomoto M, Abe K, Yamashita K, Hanaoka N, Okabe N, Yoshida H, Yasui Y, Kobayashi M, Fujii Y, Tanaka H, Yamamoto M, Shimizu H: Hand, Foot, and Mouth Disease Caused by Coxsackievirus A6, Japan, 2011. *Emerg Infect Dis* 18: 337-339, 2012
- 2) Arita M, Iwai M, Wakita T, Shimizu H: Development of a poliovirus neutralizing test with poliovirus pseudovirus for measurement of neutralizing antibody titer in human serum. *Clin Vaccine Immunol* 18: 1889-1894, 2011
- 3) Arita M, Masujima S, Wakita T, Shimizu H: Particle agglutination method for poliovirus identification. *Journal of Visualized Experiments*. 50. <http://www.jove.com/index/Details.stp?ID=2824>, doi: 10.3791/2824, 2011
- 4) 清水博之、「急性灰白髄炎(ポリオ)」の項を担当、分子予防環境医学研究会編、分子予防環境医学、改訂版 201-209、東京、本の泉社、2010 [分担執筆]
- 5) Country Progress Report on Maintaining Polio-free Status, Japan: WHO annual report, 2011 [分担執筆]
- 6) ポリオワクチン作業チーム報告書、予防接種部会ワクチン評価に関する小委員会、2010年11月[分担執筆]

- 7) ポリオワクチンに関するファクトシート、予防接種部会ワクチン評価に関する小委員会、ポリオワクチン作業チーム、2010年7月 [分担執筆]

2. 学会発表

- 1) 清水博之：ポリオ流行のリスクとポリオワクチン.第41回国立感染症研究所安全連絡協議会、東京、3月6日、2012
- 2) 清水博之：ポリオ根絶とポリオワクチン.感染研市民セミナー、東京、2月25日、2012
- 3) 清水博之：世界ポリオ根絶計画とポリオの疫学.第21回トラベラーズワクチンフォーラム研修会、東京、2月18日、2012
- 4) 清水博之：不活化ポリオワクチン導入と移行期対策.第15回日本ワクチン学会学術集会.東京、2011年12月11日、2011
- 5) 清水博之：不活化ポリオワクチン.平成23年度感染症危機管理研修会.東京、10月13日、2011
- 6) 清水博之：エンテロウイルス感染症の現状とポリオワクチンについて.愛知県小児科医会.9月25日、2011
- 7) 清水博之：アジア地域におけるエンテロウイルス71感染症の流行.第52回日本臨床ウイルス学会.津市、2011年6月
- 8) 清水博之：世界ポリオ根絶計画の現状とポリオワクチンについて.栃木県小児科医会 学術講演会、2011年5月14日

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－

研究分担者 御手洗 聡 結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部細菌検査科
研究協力者 鹿住 祐子 結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部結核菌情報科

研究要旨

バイオリスク管理を目的とした感染症法が施行されて約 5 年が経過している。同法は紛失や盗難に対するセキュリティとそれによるバイオセーフティ上の保証として病原体管理（分離株単位）を要求しているが、日常の業務や実験の中で継続的に実施していくことはマニュアルでは必ずしも容易でない。今回電子的にインベントリー管理を徹底することを目的として、二次元バーコードシステムによる株単位での病原体管理システムの構築を試行した。

特定四種あるいは三種病原体である結核菌を取り扱う実験室内のワークフローを検討し、定式化した。またプロセス上必要なアイテムをリストアップし、各運用ステップとの関連でフロー図化した。これを元にして一般的な二次元バーコードシステムを援用して管理システムをセットアップした。

今後試験的運用と修正を実施するが、二次元バーコードシステムの使用により、即時に病原体の管理状況が把握できることが期待される。

A. 研究目的

感染症法は病原体管理を要求しているが、日常の検査・実験等において株（培養）単位での完全な即時性のあるインベントリー管理は必ずしも容易ではない。特に培養・継代・保存等を繰り返す場合は現状が把握しにくい。紛失・盗難等のセキュリティと、それによる不慮の曝露などのセーフティとして、実験室への導入により作業効率対バイオリスク管理としての効果を検討するため、バーコードシステムを使用して保管及び実験・検査状態にある全ての株をチューブ単位で自動的に把握するシステムの構築を目指す。

B. 研究方法

三種及び四種病原体である結核菌（抗酸菌）を研究・実験する施設でのワークフローについて詳細を検討し、バーコードシステムの選定とシステムソフトウェアのデザイン及び具体的なプログラムの作製を行う。

作製したシステムを利用してパイロット的に 1,000 株単位の菌株管理を実施し、システムの有用性と実効性を評価し、必要な修正を加える。

C. 研究結果

【ワークフローの検討】

- 1 現行の結核研究所内の実験室内運用フロー
 - 1.1 管理範囲：検体が同定され、管理され、廃棄されるまでを対象とする。
 - 1.2 関連因子
 - 1.2.1 作業者：研究室にて病原体の管理を実施するスタッフ
 - 1.2.2 実験室：培養・同定・継代・実験・廃棄を実施する場所
 - 1.2.3 病原体保管室：超低温冷凍庫の設置場所
 - 1.2.4 超低温冷凍庫：病原体を入れた容器（一次容器）を保管する装置
 - 1.2.5 二次容器：一次容器を保持するための容器（箱）
 - 1.2.6 棚（抽出）：超低温冷凍庫内の保管位置
 - 1.3 開始点：臨床検体から培養が実施され、分離菌（あるいは株）として確立（同定）した時点から管理を開始する。
 - 2 新規保管
 - 2.1 培養あるいは同定（当所あるいは他所での結果）された分離株を正・副の2セット（1次容器2本）以上作製する。
 - 2.2 正の分離株は保管のみとし、継代・使用は副株を使用して行う。
 - 2.3 正の分離株は、副株の継代・使用に支障が発生した場合のみ使用する。
 - 2.4 保管室への分離株の移動：新規確立した分離株を保管室へ移動する。
 - 2.5 保管場所の特定：保管室内の保管庫を特定し、保管位置を特定し、二次容器を特定する。二次容器に空きがない場合は新たに二次容器を準備し、保管位置も特定する。
 - 2.6 二次容器への保管：保管庫から二次容器を取り出し、分離株（一次容器）を二次容器に保管する。複数の場合は繰り返し実施する。
 - 2.7 保管庫からの取出
 - 2.8 保管場所の特定：管理書類からの確認あるいはシステム上での検索から保管場所（二次容器位置）を特定する。
 - 2.9 取り出し：保管庫から二次容器を取り出し、当該の分離株（一次容器）を取り出す。複数の場合は、これを繰り返す。
 - 2.10 実験室への移動：取り出した分離株（一次容器）を実験室へ移動する。
- 3 継代増殖
 - 3.1 培養：新たに培養した試験管にそれぞれ関連のIDを付与する。
- 4 実験・検査
 - 4.1 新規分離同定あるいは継代増殖した分離株による実験あるいは検査を実施する。ここで再継代も発生する。
 - 4.2 継代株（1次容器）にIDを付与する。
- 5 廃棄
 - 5.1 高圧蒸気滅菌処理後、廃棄する。
 - 5.2 廃棄を記録する。
- 6 分与
 - 6.1 継代・増殖後に分離株単位で実施する。記録され、管理対象から外れる。
- 上記のフローについて図1に示した。

【仕様条件】

1. 一次容器：1.5～2.0 ml サイズのクライオ

チューブを使用する。

2. ラベル：凍結状態で貼付可能であること。
二次元バーコードが印刷され、検体番号が表示できること。
3. 検体番号：英数字8桁

【システムセットアップ】

上記の条件を満たすようシステムを構成し、バーコードシステムのセットアップを実施した（図2～5）。

D. 考察

バイオリスク管理上の利便性、正確性を帰する目的でバーコードシステムの運用フローの検討とセットアップを実施した。一般の検査室のように臨床検体に始まって検査、保管という基本的に一方向の流れだけでシステムを構成できないことから、やや複雑なフローとなった。病原体サーベイランス等で多くの分離菌を管理することを考慮すると、ある程度永続性のあるシステムの構築を考えなければならないため、汎用二次元バーコードシステムを援用する形式となったが、今後実際に運用と評価を実施し、必要な修正等を加えていく必要がある。

E. 健康危機情報

特になし。

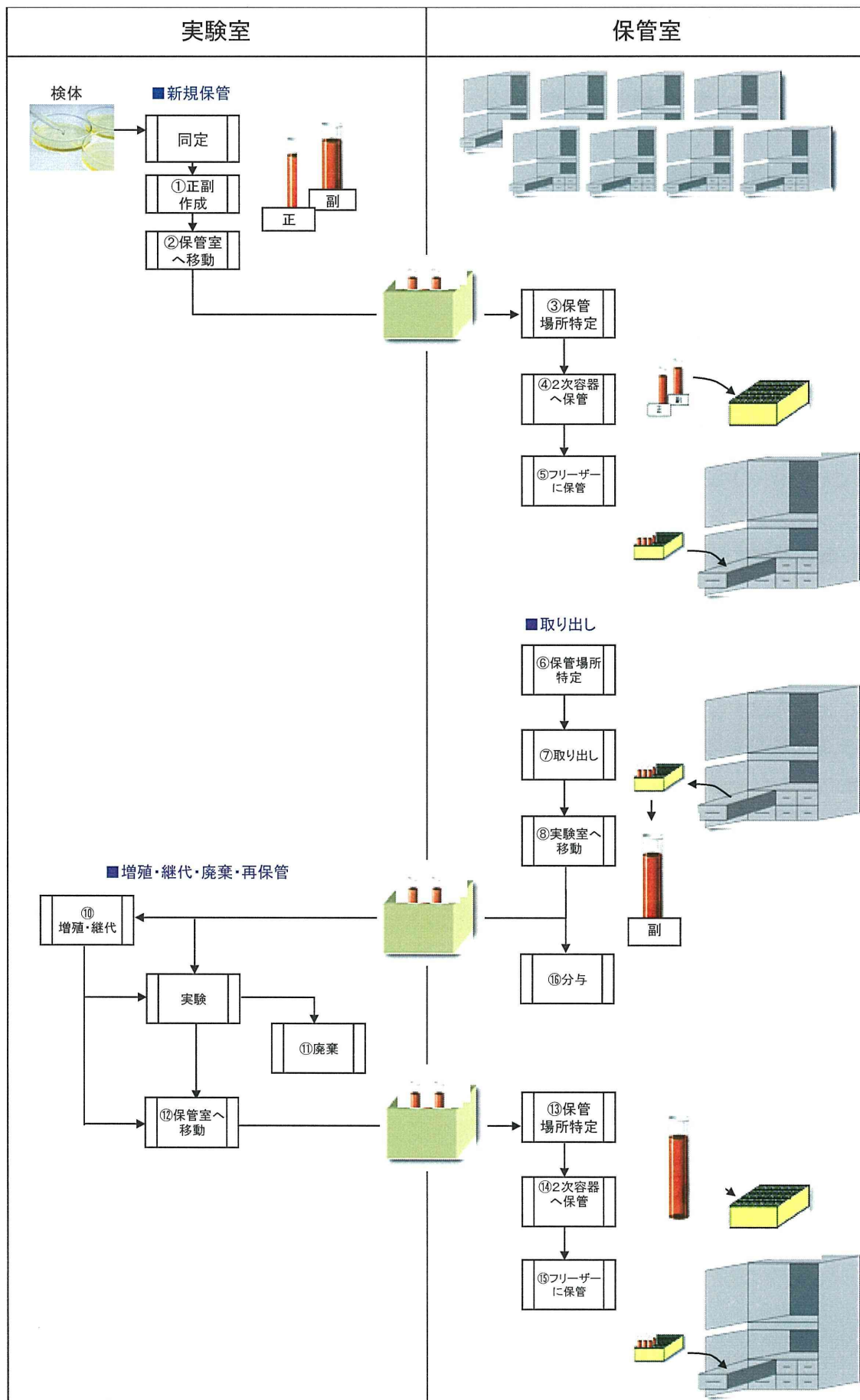
F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

図1 分離株運用フロー図



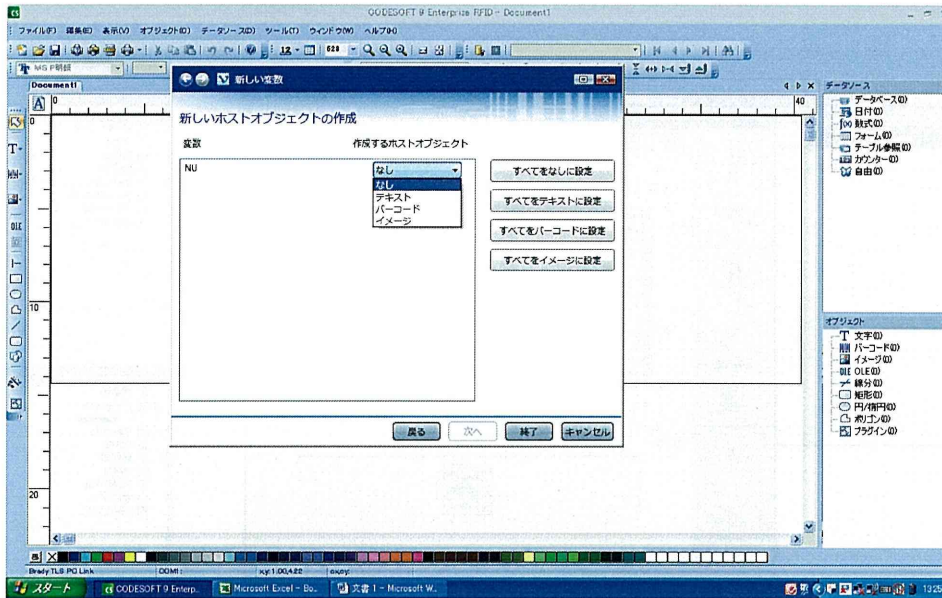


図2 バーコードシステムセットアップ：対象データベースとの接続と読み込み

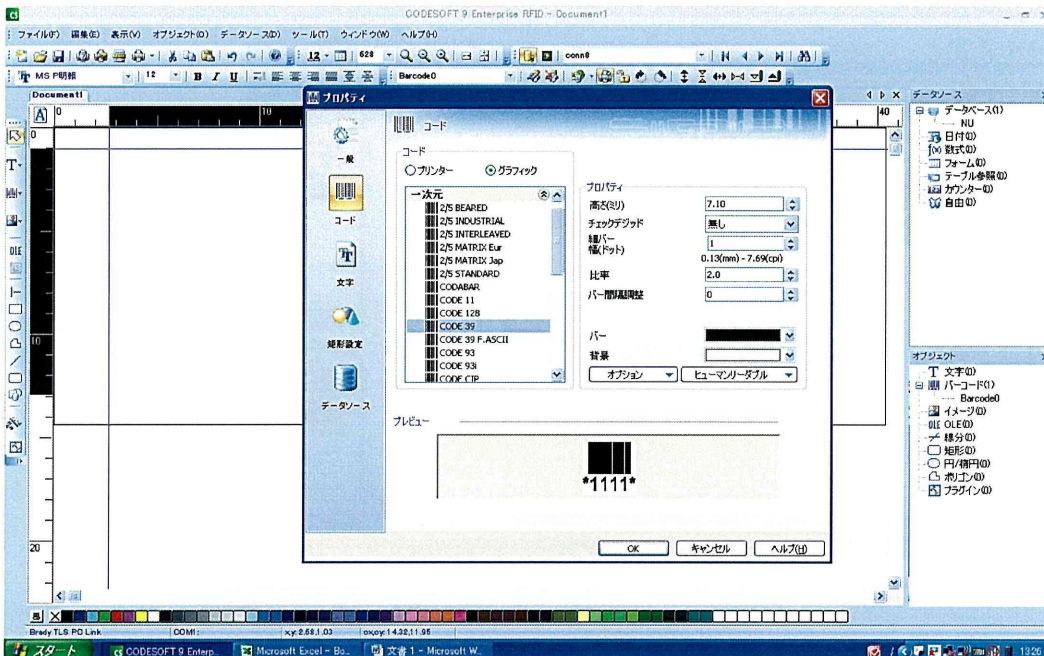


図3 バーコードシステムセットアップ：QRコード作成図1

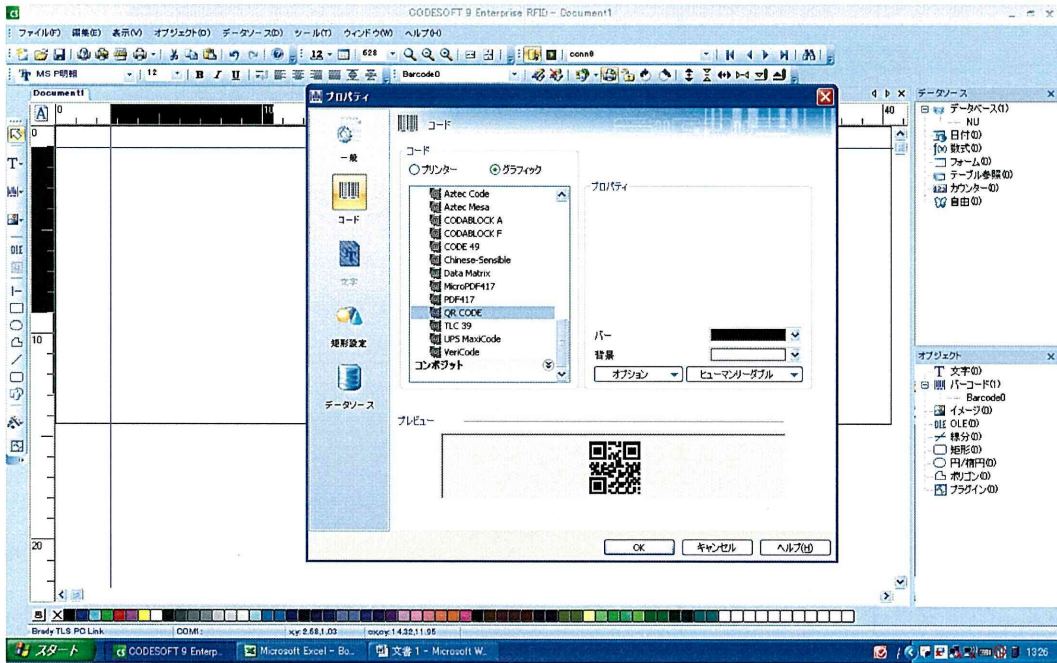


図4 バーコードシステムセットアップ：QRコード作成図2

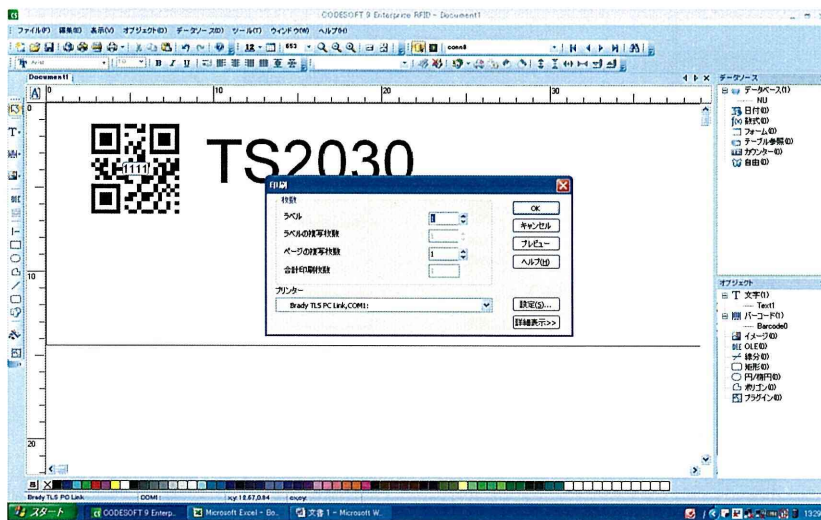


図5 バーコードシステムセットアップ：QRコード作成と文字表示

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

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）
研究分担者 安藤 秀二（国立感染症研究所ウイルス第一部）
研究協力者 伊藤 健一郎（国立感染症研究所感染症情報センター）

研究要旨 バイオリスク管理への取り組みは各国で温度差があり、その事実が人的交流や研究体制と成果に影響を及ぼしている。陸続きに隣接する国の多い欧州では EC による政治、経済上の統合、融和に伴いこの問題は大きくなり、労働環境の安全や、資格制度、就職問題、科学の質など様々な分野へ影響が波及する問題として取り組まれている。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。合意に至る議論と仕組みについて報告する。

A. 研究目的

European Committee for Standardization (Comite Europeen de Normalisation) の「バイオリスク管理の国際的基準」合意文書は CWA (CEN ワークショップ合意文書) として 2007 年末に取りまとめられ、2008 年 2 月に公開された。延べ 25 カ国からの 76 人が参画し、33 の関係機関とウェブ公開によるパブリックコメントを経て、国際的に一定の合意を得たバイオリスク管理のスタンダードを初めて示した。現在、欧州基準 (EN) あるいは国際基準 (ISO) へのアップグレードへの試行期間にある。通称 CWA15793 と呼ぶこの基準は、組織管理の在り方として ISO 基準にも記載のある効果的な PDCA サイクルを採用している。

CWA15793 に準拠し、体系的にバイオリスクを管理するためには、施設の所長を始めとした管理職の予算措置を含む安全な労働環境と社会的責任に対する積極的取組みの姿勢と、労働環境を含むバイオリスク管理についての専門的な管理知識を保有する専門家の存在が不可欠である。

一方で、重症呼吸器症候群の世界的な大流行以降の高度封じ込め実験施設の乱立などで、より厳密な病原体等の管理が国際的に求められたことから、様々な分野から専門家の助言のニーズが生じ、封じ込め施設および実験施設提供会社の民間のコンサルタントに始まり、特定領域のみに秀で、知識背景が偏った自称「バイオセーフティ専門家」が多数出現した。その結果、コンサルテーションを実施したにもかかわらず認可に際して国家あるいは認証機関から修正を求められたり、高額な支払いを要求されたり、事故が発生したりと、専門家といわれる人々の知識が疑われ、専門家の質が国際的に問われる様になった。

このような背景から、欧州バイオセーフティ学会 (EBSA) が主導し、欧州共同体が主な出資者となり、同じ CEN ワークショップの枠組みの元で、バイオセーフティの専門家とはどのような人を言うかを定義しようという CWA の成立を目指して 2010 年に CEN WS53 が立ちあげられた。また、これに並行して、カナダが発起し、複数の国際的バイオセーフティ学会が主な出資

者である CWA15793 の導入に際しての指針を作成するための CEN WS55 も進められた。この分担報告では、WS53 の合意文書の発行をうけ、CWA15793 の合意作成から協力してきた分担者が、相互の関連性にも配慮して最終会議までの経過と合意点についてまとめ、それ以降の「専門家の質的管理」にかかわる国際的動向の情報を共有する。

B. 研究方法

CEN（欧州標準化委員会：Comite Europeen de Normalisation）のワークショップに専門家として参加し、3回の会議と4回のドラフトレビューを実施し、パブリックコメントを経て、最終合意案作成に協力した経過を報告する。この合意文書の作成過程には、延べにして2,000人近いバイオリスクの管理、緩和にかかわる人々と、公衆衛生、微生物、労働監視・安全、大学教授などが学会を通じ、組織機関として、ワークショップ参加の代表者を介して、パブリックコメントを通じて関与し、意見を闘わせ、情報を交換し合う形でかかわった。

（倫理面への配慮）

本分担には、倫理面の配慮が必要な情報は含まれていないが、CEN（欧州標準化委員会：Comite Europeen de Normalisation）に著作権がある文書については、討議参加に提供された個人用コピーの利用許諾範囲にしたがって引用、提示する。また、活動状況を示す写真については、個人が特定できないように配慮した。

C. 研究結果

1) CWA 合意文書に至るプロセス

CEN（欧州標準化委員会：Comite Europeen de Normalisation）は1961年に欧州経済共同体と欧州自由貿易連合の加盟国における、標準化機構として設立された。現在は欧州共同体および欧州経済圏に、自由貿易、労働安全、

消費者保護、相互互換性のあるネットワーク、環境保護、研究開発のプログラム、公的調達の透明性などを目的とした、専門的基準（欧州規格や CEN ワークショップ合意文書）を提供している。欧州共同体（EU）には多くの国が含まれており、歴史、文化、宗教、政治、経済などの社会的背景から、各国の基準に違いがあることが EU としての一体性に支障となり、社会的、経済的、科学的発展の妨げとならないよう考慮して、様々な統一基準が EN（欧州規格）や CWA（CEN ワークショップ合意文書）として作成されてきた。

バイオリスク管理の国際コミュニティは、世界の国々の科学教育や訓練、民間営利活動との関係などにおいて、バイオセーフティの概念やバイオリスクの管理の方法論に違いがあり、必ずしも科学的根拠にしたがっておらず、個人個人の科学的知識の複合を背景とした経験則が中心でこれまで管理されていた経緯から、科学者の交流が増え、国際的共同研究が当たり前になった今世紀には、用語や考え方、リスク理論などの基準が異なることが、研究者間の議論がかみ合わず、それぞれの施設における研究の質と安全性の確保を妨げ、新興感染症の検査結果の信頼性を損ない、相互の科学的交流に支障となると考えた。そのため、診断・実験・研究などのための施設で実験室（ラボ）を運営する際のバイオセーフティとバイオセキュリティを対象とした「バイオリスク管理の国際的基準」を CEN の枠組みの中で作成し、延べ25カ国からの76人が参画し、特に33の関係機関とウェブ公開によるパブリックコメントを経て、CWA15793「Laboratory biorisk management standard」として2008年2月に公開し、国際社会に提供した。この文書は、ハードウェアのスペックや、一段階ずつの操作マニュアルのようなものではなく、バイオリスクをどのように管理してゆくかのマネジ

メントシステムの手法についての基準、つまり考え方を定めた。その組織や施設の目標に対して、日常業務の効率をあげ、より大きな成果を達成するために、相互に係るプロセスをどのように管理するかについて、Plan（計画）・Do（実施）・Check（検討）・Act（対処）の四項目に分けて検討している。

CEN WS53 は、それぞれの国でバイオセーフティ・リスクおよびバイオセキュリティ・リスクを管理する者の出身分野も、経験量も、技能も異なっており、国際認証資格も無いことから、同専門家を自称する人々が多数出現し、21 世紀に入り新興感染症や新研究分野の発展に加え、バイオテロ対策の必要性に絡んで事故、施設の認可が得られない、設計のやり直し等、問題が多発した経緯を踏まえている。CWA15793 を導入するに際して、教育の仕組み、資格制度、国家組織のバイオリスク管理への関わり方の違いなどを超えて、「バイオセーフティの専門家とは何ができる人なのか？」という疑問に答えるために発起された。2011 年に 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として完成した。これも、単なるチェックリストではなく、専門家に期待される「できる事」を示し、それに必要な専門分野や最低限必要な背景知識の領域が欧州の教育システムを基準に示されている。具体性を持たせるために、基準となる大学での科学分野の教育項目に合わせて、カリキュラム事例も附表として示されている。これらを踏まえて、国際バイオセーフティ学会連合（IFBA）で専門家認証についての議論が 2012 年春に開始される予定である。

本来、完成した CWA は ISO 同様に CEN が著作権と著作権を有する出版物であり、コピー複製の配布や電子ファイルの共有は著作権の侵害となる。本来は CEN の出資者たる欧州共同体以外の国は、有料で購入する必要がある、WEB

リンクの設定もできない。しかし、CWA 15793 だけはその作成目的を鑑み、カナダ政府外務省の好意によりライセンス購入費が支出され、自由なダウンロードが許されている。参考文献にアクセスできるサイトを引用するので、個別にアクセスして、正当にアクセス履歴を残してダウンロードして頂きたい。現在 CWA16335（CEN WS 53）も何らかの方法で、同様に共有できる方法を検討中である。

2) CWA16335（CEN WS 53）の目的

CEN WS53 はバイオセーフティ専門家としての能力・適性（biosafety professional competence）という副題がついていた。したがって、その合意文書である CWA16335 もこの副題を踏襲している。日本語として competence の概念に完全に一致する単一の訳語を見つけることは難しいが、基礎素養、保有が期待される能力、専門家としての要件等が該当する。現在も尚、「バイオセーフティの専門家」と言うと、様々な分野でそれぞれに異なる意味を持つことから、同様の混乱を避け、各国間、特に人的交流が非常に活発な欧州各国間での「専門家」の質的管理を可能にするために、「バイオセーフティの専門家」について定義し、共通認識を確立させることが実質的な目標であった。CEN WS53 のビジネスプランには、適切なバイオセーフティと実験施設におけるバイオセキュリティの二本の柱は、バイオリスクの管理の仕組みと管理と仕組みの構築に必要な技量を持つバイオセーフティの専門家を登用することであると記載されている。遺伝子組み換え実験や、デュアルユースの可能性がある実験、封じ込め病原体の研究などが増加し、病原体の封じ込め、あるいは感染性物質の安全な取扱い環境を守る者としてのバイオセーフティ専門家の役割の重要性が増した。どんな知識や経歴を持つ人で、何ができることが求められているのか、必要な技能や知識に獲得にどんな教育が必要かといった

ことがこの合意文書には盛り込まれている。

また、附則として訓練プログラムの設計、認証や、専門家の認定機構の参照とする項目一覧を提示している。

3) CWA16335 (CEN WS 53) の最終案作成

今年度はビジネスプラン通り、パブリックコメント後の第三回の最終会議が開催され、CEN の理事会組織が認証し、その後合意文書が発表された。CWA の最終稿が起草された会議には、共同で議長を務める 2 人と、草案等のまとめを行うタスクフォース 5 人、事務局 3 人を除くと、10 人で始まり、遅れて 3 人が参加した。すでに根本的な議論は終了し、第三回会議は文法、表現、用語の統一、技術的な整合性の確認など、手間のかかる細かい作業によるマイナーな変更で合意に至れるかを検討する場であり、第一回会議の際の人数 (55 人+6 団体) から半分以下となった。

人数の減少にはもう一つの要因がある。ドイツなどの大きな民間の研究施設は、本 WS の設立に強硬に反対していた。従来規制に新たな法令を追加して、規制強化につながるため、業務に支障が出るとの主張からである。罰則を持たない CWA は、法規とは異なり、遵守義務も無いことが知られておらず、法規を現状に合致する一助として活用できることも理解されていなかった。様子を観察する人数が初期には大量に参加し、急速に興味を失ったと考えられる。特に民間企業において、規格・基準無く担当者が雇用されており、資格創設による規制をいかに恐れているかを示す一例でもあった。

CWA16335 の基本構成は以下からなる。まえがき、背景と導入、活用方法についての記載の後に、以下の 1~7 の項目があり、組織内でのバイオセーフティ専門家の役割や、期待される活動と基礎知識、役割遂行に必要な技能

と能力といった 5~7 が主要部分である。

1. Scope
2. Informative references
3. Terms and definitions
4. Abbreviations
5. Role of the biosafety professional in an organization
6. Biosafety professional background qualifications
7. Competences

パブリックコメントの後に加えられた微修正には、文法やスペルの修正以外に以下の 5 点を中心となっている。1) CWA の本来の目的と合致しているかを確認すること、2) 欧州の規則や情報が反映されていること (参加者の国際性にも配慮する)、3) バイオセーフティの専門家の **role, tasks, profile** についての記載を「見える化」した形で文書に入れる (管理者の注意を引き、専門家の必要性を示す根拠とすることができるように)、4) **biological XX** という用語の使い方の整理、5) **biorisk management, bioasfety, laboratory biosecurity** の使い方を整理する (CWA 15793 を下敷きに行っていることから、整理をする際に整合性に配慮する)。

4) CWA16335 の導入に際して

WS 53 での合意を採用あるいは活用する際に注意しなければならない点が 2 点ある。この WS は、バイオセーフティをそれにかかわる「個人」の視点からとらえ、そういう人材に必要な **competency** は何か、その人物の **role** とは何かと、個人が所属あるいはサービスを提供し共に働く組織において、その個人に対して期待され、果たすべき役割を示すことを目指した。CEN は欧州共同体の組織の一部であるが、この CWA の仕組みの国際性から、欧州の規則や情報に十分に配慮しつつも、国際的にも活用できる普遍性のある構成を心掛けた。その一例が CWA 本体と

Annex に分割した内容に現れている。また、CWA は個人の資格の認定や研修の在り方を認証するための基準を示したものは無い。基準の設置は行政母体にその役割があり、行政施策の一部であり、政治および行政的管理の視点を抜きに、専門家や学術関係者の合意で決定されるものでは無い。あくまで活用できる資料として、必要な項目と枠組みを提示している。

D. 考察

国際的には、新たに3つの大きな動きがある。バイオリスク管理を総合的に強化するために、人材育成に集中して活動が強化されていること。バイオリスク管理を学問として体系づけ、専門職種として確立を目指していること。国際的基準を導入することで、相互に人や研究の交流が円滑になり、相互に安全の基準が理解し合えるような環境にすること。これらの動きは、米国や欧州の国や学会が核となり広がっている。CWA がその一例である。この他に複数の国際学会が中心となり、遠隔教育（インターネットベース）、対面の講習会、経験と実務能力を基準とした登録専門家認定機構の設立、技能認定研修、研修会用資料の共有、ビデオ（DVD）学習教材の提供などが、行われている。

翻って日本はどうであろうか。まず、コアグループが明確でなく、基準が国内と国外で異なるために、国際的な流れには乗りにくい状況にある。海外との研究協力や留学といった交流の機会が多い研究者こそ、こういった動きに敏感になりイニシアチヴをとれることが理想である。そのためには、プラットフォームとしての学会や、研究会といったものが生まれてくる必要があるが、情報不足のためか、こういった動きがまだ見られない。研究班に、その主導的役割を期待される発言が毎回の評価に見られるが、継続期間が限定されており、現状

でもネットワーク活動や、人的交流に対しての予算は実験室での研究や、システム開発に比して極端に低く見積もられる様な研究費での活動は不可能であり、提言以上のことは不可能である。研究班としては、引き続き国際情報の提供や、国際基準の研究の機会の提供、国内で使える形にした資料等の提供を続け、国内での議論の成熟を促して行く予定である。併せて、緊縮財政の下ではあるが、海外での動きに連携して、CWA16335 を参考に、より効果的な「人材育成」に力を入れたいと考えている。

国家認定が無い現在、専門家認定の仕組みの乱立を招くような介入より、体系だった論理に基づいた教育の仕組みを構築することが優先されるべき課題であると考え。今回報告したCWA16335 の文書は、教育体系の構築に必要な項目、技能、知識内容を付表として、提供している。ここで示す基礎となる実務能力の最も重要なものにリスク・アセスメントがあり、この項目の理論構築から開始する。

E. 結論

バランスをとった管理をする場合には、専門家といわれる人材が必要である。特に、多くの部署を巻き込み、日常的に継続して実行し、かつ、これまでと違って初めは面倒と思われる手続きが入る場合は、コミュニケーションが重要となる。多くの教育の場で、人材の育成をおざなりにしてきたと反省がなされているが、この分野は新しく、はじめから人材はいない。これからの取り組みこそが、安心安全な研究境を作る。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし