

ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針

日本ウイルス学会

1993年7月17日

まえがき

1. ウイルス研究における安全評価の原則
2. ウイルス研究に伴う実験室感染のリスクとその予防
3. 安全取り扱い上の要素
 - (1)ウイルスの感染しやすさと病原性
 - (2)治療法・予防法の利用
 - (3)職員の研修と教育
 - (4)健康管理
4. 安全管理体系
 - (1)バイオセーフティレベルと封じ込め施設
 - (2)安全管理システム
 - (3)非常時対策

(4)汚染除去：滅菌と消毒

5. 物理的封じ込め的方式

- (1)各封じ込めレベルでの日常运营管理
- (2)安全確保のための設備・器具
- (3)封じ込め施設の設計

6. ウイルス材料の分与と輸送

7. 関連分野の問題

- (1)動物実験における問題
- (2)ウイルス学領域における組換えDNA実験
- (3)臨床材料
- (4)野生動物関連分野の問題

文 献

まえがき

ウイルス研究はかつての病原微生物学の領域を越えて生命科学の中心のひとつとして幅広い領域の研究者が参加するようになってきている。しかし、ウイルス研究におけるバイオセーフティに関しては、各研究機関が個別に対応しているのが現状である。このような背景から1989年、文部省科学研究費・総合研究(B)による「バイオハザード対策—システム化に関する研究班」(班長 高橋理明)が結成された。本研究班による各種検討の結果、日本ウイルス学会にバイオセーフティ委員会を設置してウイルス研究におけるバイオセーフティ対策を学会として検討することが要請された。

これを受けて1990年、日本ウイルス学会総会でバイオセーフティ委員会の設置とウイルス研究におけるバ

イオセーフティ指針の作成が承認された。

本指針の目的はウイルス研究における安全確保のため、病原ウイルスを中心とした動物ウイルスの取り扱いに関連した安全操作と安全設備の原則を確立するものである。

1. ウイルス研究における安全評価の原則

ウイルスは一般社会で人および動物と共存してきたものである。ウイルス感染に対する安全対策の基礎は100年以上にわたる長い微生物学研究の歴史の中で実際の経験にもとづいて確立されてきた。さらに1970年代に総合的なバイオハザード対策としての病原体の封じ込め方式が米国を中心として検討され、1983年には世界保健機関で実験室バイオセーフティ指針としてまとめられた。

病原体の封じ込めは一次隔離と二次隔離の2者により行うことになっている。一次隔離は実験者と病原体の間の隔離により実験者の感染を防止するものである。二次隔離は実験室と外界の隔離であって、実験室から外界への汚染防止を目的とするものである。

以上の観点からウイルス研究における安全評価には以下の原則を考慮することが必要である。

1) ウイルス感染の成立には一定量以上のウイルスが体内に侵入することが必要である。感染が成立してから発病するまでには早くも2～3日、普通1週間程度の潜伏期がある。この間、感染した人は健康者として自由に行動しており、ほかの人に感染を広げるおそれがある。

2) ウイルスは動物または生きた細胞の中でしか増殖することはできない。動物または細胞の外ではウイルスは種類によって時間の差はあるがすべて不活化される。特に太陽光線のもとでは急速に不活化される。ウイルスによるバイオハザードでは化学災害や放射線災害の際に問題になるような残留や蓄積は起こらない。2次隔離の条件を検討する際にはウイルスのこのような性質を考慮すべきであって、化学災害や放射線災害での原則をそのままあてはめることは妥当ではない。

3) 以上の2点から明らかなように実験者の感染防止が安全対策の基本となる。これが確実に行われることが環境へのウイルスの漏出の防止につながる。ウイルスが実験室から物理的に漏出して外部の人への感染をひきおこしたことはバイオハザード対策が確立される前の時代も含めて、極めて特殊なわずかの例があるに過ぎない。バイオハザード対策における二次隔離方式が確立された現在、このような漏出による感染事故は完全に防ぐことができる。

4) 実験室内での感染がバイオハザードの原因としてもっとも重要であることは上に述べた通りであるが、この際、とくに配慮を要するのは実験者以外に同じ建物で働く人および訪問者に対する安全対策である。これらの人への感染はその人への健康被害だけでなく、外部環境へのウイルス漏出につながる。

2. ウイルス研究に伴う実験室感染のリスクとその予防

病原微生物の取扱いに伴う実験室内感染を最も広汎に解析したのはPike(1976)¹⁾の研究である。彼は、1900年より、1976年に至る米国内の3,921例の感染例を解析し、原因となった病原体、取扱い中の操作、原因等に言及しているが、病原体として、頻度の最も高いのはブルセラ、Q熱、ウイルス性肝炎(全型別を含む)、腸チフス、結核である。これ等の感染症は、時と共に、一般社会での発生分布が変遷し、それを反映して、実験的取扱いの頻度も変るので、リスクを想定し予防するには、研究動向の変遷もよく把握しておく必要があ

る。上記の上位5種の中で、ウイルス研究室で取扱われるのは、Q熱とウイルス肝炎であるが、ウイルス肝炎は、最近の研究で、A、B、C、D、E型に分けられ、それぞれ疫学的性質も異なるので、それぞれに対応した予防上の評価が必要である。血液を介して感染するB型、C型肝炎ウイルスに対しては、それぞれのウイルスを研究試料として取扱う場合以外に、研究材料としてヒトの血液、血清、臓器等を取扱う場合でも感染が起るので、適切な評価と対応が必要となる。B型、C型肝炎ウイルスは、針刺し事故の他に、体表の傷への感染性体液の接触、口腔、鼻腔、結膜等への感染性飛沫の付着、等でも感染するから、後述のように、ヒトの血清を取扱う研究室では、B型肝炎ワクチンを定期的に接種して、職員の安全を図ることが望まれる。結核は、細菌性疾患であるが、米国では、ヒト免疫不全ウイルスの感染の拡散に伴い、日和見感染としての結核発生が増加していることから、一つの疫学的指標として、結核の可能性を考慮しておくことも必要である。

クロイツフェルト・ヤコブ病病原体、狂犬病ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス等の感染は何れも、自然感染例でも慢性進行性で、結果は重大であるが、ウイルス感染源への曝露があっても、感染の成立の確率が低いと考えられている。

Pikeはその、広汎な解析の結論として、病原体材料の誤嚥、誤注射、飛沫への曝露等、事故や誤操作を原因とする感染は、所謂、標準的な無菌操作法の徹底と、事故を予防するための措置で予防することは出来るが、感染性エアロゾルの吸入を原因とすると思われる実験操作そのものを原因とする約30%の事例は、従来の実験操作では防げないとして、感染性エアロゾルの封じ込めを中心とするバイオセーフティの体系の必要性を指摘した。

これに併行して、感染性エアロゾルの性状を解析して、これを効果的に封じ込めて、感染を予防するバリエーションシステムが、米国のCDC、NIHで独立して体系化され、1984年、一つの指針に統一された²⁾。WHOでも、これと同じ原則に立って、実験室バイオセーフティ指針³⁾を、1983年に制定、公布している。

3. 安全取扱い上の要素

(1) ウイルスの感染しやすさと病原性

既に述べたように、ウイルスによる実験室感染は、創傷、誤刺、誤飲、粘膜曝露、エアロゾル吸入等の様々

な経路で起るが、エアロゾル吸入以外の感染は、無菌操作と呼ばれる標準的実験操作の励行と、事故を防ぐような操作方式の導入で予防することが可能である。従って、バイオセーフティの対象として、配慮すべき点は、行われる実験操作で、どの程度に感染性エアロゾルが発生するか、取扱われる病原体を含む感染性エアロゾルの吸入によって感染が起りやすいか、感染が起った結果、どのような疾患が起り、どのような予後が推定されるかということである。

バイオハザードの原因となるエアロゾルの発生は、あらゆる実験操作に及ぶ。取扱うウイルス液のどれ位の部分がエアロゾルとなって空气中に浮遊してくるかをエアロゾル比率 (spray factor, SF) といい、代表的な実験操作における SF が米国で、1960年代に、モデル実験で求められ、標準的資料として利用されている。その中から 10^{10} 粒子/mlのウイルス浮遊液を取扱った場合に、エアロゾルとなって出てくる粒子数を推定すると、ピペットによる静かな混和で 10^3 個、密閉蓋のついたブレンダーでの磨砕で 10^2 個、滴液がこぼれて付着しているロータを用いて遠心した場合 2×10^4 個、等となる。その他、動物の尿や糞便で汚染された床敷からは、大量のエアロゾルが発生するので、排泄物中に排出しやすいウイルスの感染実験を行う場合は、一般の試験管内のウイルス実験以上の封じ込めの程度が必要となる。

気道感染を起しやすいウイルスは、ミクソ、パラミクソ、その他のいわゆる呼吸器ウイルスに止らず、水痘、等のウイルスも呼吸器、粘膜を通して侵入したあと、ウイルス血症を介して、最終標的組織に達して発症するので、とくに注意が必要である。反対に、ヒト免疫不全ウイルスやB型肝炎ウイルスは、創傷、血液を介しての感染は起りやすいが、エアロゾルによる感染は殆んど起らないので、封じ込めは接触感染の防止を中心としたものとする。

(2)治療法、予防法の利用

ウイルスは、一般に薬剤による化学療法が出来ない。例外的にA型インフルエンザウイルスに対するアマンタジン、ヘルペスウイルスに対するアシクロビル、ガンシクロビル、ヒト免疫不全ウイルスに対するAZT、ddI、ddC等が実用化されているが、ウイルス疾患の予防は、感染性エアロゾルへの曝露予防が第一であり、第二に、効果的なワクチンの利用が可能ならば、安全性は大いに増す。これと対象的に、ウイルスと大体同じ手法で実験されるリケッチア、マイコプラズマは、

本質的に細菌であり、抗生物質による効果的な化学療法が可能であるから、時間的に適切な診断のつけられる体制と、化学療法の準備が出来ていれば研究者の安全確保は容易である。

B型肝炎、ポリオ、麻疹、風疹、ムンプス、水痘、黄熱等のワクチンは有効であり、それぞれのウイルスを取扱う場合には投与しておくことが望ましい。とくにB型肝炎ワクチンは、ヒト血清、体液、臓器を取扱う研究室では、予防計画の中に取り入れて利用する必要がある。ワクチニアウイルスによる種痘は痘瘡の予防に効果を発揮したが、弱毒ワクチニアウイルスLc16 m8を用いた細胞培養痘瘡ワクチンの接種を、ワクチニアウイルスを用いた発現ベクター実験の従事者の安全対策上検討する必要がある。健康管理の項で述べられるように、研究室職員は、予防接種を必要とするウイルス種別に、抗体その他を測定して、免疫状況を明らかにし、必要があれば予め予防接種を受けておく必要がある。

(3)職員の研修と教育

ウイルスの研究に当り、実験を立案し、これを実施する職員は言う迄もなく、それに協力し、介助することで、病原体を有する試料に直接触れる補助職員も、対象となる病原ウイルスの病原性、その伝播経路、感染の予防と、治療法について充分な知識を有し、本人と環境の安全を確保するために、病原ウイルスの漏出を防ぐための安全な取扱い方法について、確実な技術を習得していなくてはならない。このためには、一定の基準に適合した研修と教育が行われ、その内容と程度は、バイオセーフティレベルに応じて充実し、レベルの高いものとなっていなくてはならない。

1) 微生物学の基本技術：微生物学の基本技術である無菌操作は、実験系の交叉汚染を防ぎ、実験の成立を可能にする基本技術であると共に、研究者の安全を確保する基本である。実験に当って、病原体の拡散を防ぎ、研究者が病原体に曝露されることを防ぐ次の3原則が、研究室の基本的なしつけとされる。

- ①病原体を含む試料の管理を統一し、責任者の不明な試料があったり、実験中に外に病原体試料が露出されることのないようにする。
- ②事故によって、病原体を含む試料が一般区域に漏出しない体制を確立しておく。
- ③事故の場合の処置を全職員に知らせておく。実験室内では、次の基本的事項を徹底しておく。
 - a. 病原ウイルスを有する試料のピペット操作を口

で行わない。

- b. 取扱いに当ってはエアロゾル発生を最少限度にするよう、操作方法を選択する。
- c. 注射針、鋭尖の器具の取扱い方式は、刺傷事故を最少限度にするものを選び、その廃棄は、穿通出来ない容器に入れて汚染除去出来るようにする。
- d. 原則として、前の閉じたガウンと手袋を着用する。
- e. 実験後、手袋を脱いだあとは、直ちに手を石けんで洗う。
- f. 実験の前後及び試料による汚染が起った直後に、実験台表面を消毒する。
- g. 実験室内では、飲食喫煙を禁止する。

2) 研修と教育：研究施設の管理責任者は、その中で働く研究職員の安全確保のための研修と教育を定期的に施行する責任を負う。職員は、実験操作が安全であるか否かを判断し、実験室環境の安全性と欠陥があれば、これの是正を提言出来るだけの能力を持たなくてはならない。研究者は、その研究に伴う実験に用いる施設が安全確保に充分であることを確認するのみならず、関係する全職員が安全確保に関する知識と技術においても充分であることを確認した上で、実験を開始するようにしなければならない。研修で与えられるべき項目を整理すると次のようになる。

- a. ウイルス取扱いの基本技術。
- b. 健康維持のための個人衛生。
- c. 各バイオセーフティレベルの施設と封じ込めの原理、その利用法。
- d. 防護具と使用法。
- e. 汚染除去、消毒、滅菌の原理と技術。
- f. 各種標識の意味と使い方。
- g. 廃棄物の取扱い、包装と処理方法。
- h. 感染性試料の包装、輸送、発送の原則。
- i. 安全キャビネットの効果的使い方。
- j. オートクレーブの原理と使い方。
- k. 遠心機の使用における安全確保。
- l. モニタリングと安全監視の技術と評価。
- m. 事故時の報告と処置、対応。
- n. 関連情報の正確な伝達と関係者への衆知。
- o. ヒトの血液及び体液の安全取扱いの基本。

国立予防衛生研究所では、昭和62年より、実験室において病原微生物を取扱う全職員を対象に、バイオセ

ーフティ講習会を実施しており、特に、後述の安全管理体系上、バイオセーフティレベルー3以上の実験に従事する者は、この研修を終了していることを条件としている。同講習会のテキスト「病原体等取扱い及び管理必携」(1987,1989改訂)は、同研究所総務部に請求されれば入手出来る。

研修の成果として、病原微生物の有する危険性について科学的に正確な知識が与えられ関係職員が、不必要な恐怖心を持たないようにすることも期待される。これの波及効果として、一般大衆が、病原微生物に関して抱く過大な恐怖心ないし、これを誇張して扇動しようとする者に対する正しい対応が形成されることも望まれる。一般の行政関係者、立法関係者に対する科学的理解を求めるための研修コースも必要になるであろう。

P3、P4レベルの研究施設の設備と運営方法、標準的な操作方法等については、上記の一般的な研修コースを終った上で、安全運営規則の一つとして個々の実験室の管理責任者が該当職員に研修を行った上で、実験参加を認め、安全管理上の承認手続をとることが望ましい。

(4)健康管理

雇用に当る機関、管理責任者、所長等は、労働安全衛生法に基づく定期健康診断に加えて、職員等に対して、実験室内ウイルス感染を早期に発見、対応するため、また、実験室内(職場内)感染を予防するために、特殊健康診断を定期的および必要に応じて臨時に実施しなければならない。

(以下、機関の最高責任者を所長等と表現する。)

1) 定期健康診断

- ①既往歴を含む健康診断と、取扱いウイルスの感染で発生する可能性の大きい症候の臨床的診察を実施する。
- ②必要に応じて、取扱いウイルスに対する検査を実施する。
- ③定期健康診断は原則として年1回実施する。
- ④新規雇用または配置職員等は、定期健康診断またはそれに相当する健康診断(①および②)を、就労前に受けることが望ましい。また、就労前の血清を採取、保存して置くことが望ましい。すでに就労している職員などは可及的早い時期に、血清を採取、保存して置くことが望ましい。

2) 臨時健康診断

所長等が必要と認めた場合、または職員等が希望

した場合、臨時健康診断を実施することができる。

3) 健康診断記録の管理と保存

健康診断の結果は職員等別に記録保存し、部外秘とする。職員等の離職後5年間保存しなければならない。

4) 健康診断結果への対応

健康診断の結果、異常が認められる職員等には、直ちに必要な手段を講じなければならない。

5) 職員等の届出

①ウイルスを取り扱う職員等は、身体に異常が認められる場合、直ちに所長等へ、その旨届出なければならない。届出を受けた所長等は、直ちに当該ウイルスの感染の有無について、詳細に調査し、対処しなければならない。職員等は他医により処置された疾患も届け、自らの健康管理記録を完全にしよう努めることが望まれる。

②職員等は実験室内（職場内）事故を速やかに報告しなければならない。報告を受けた所長等は、直ちに当該ウイルスの感染の可能性の有無について、詳細に調査し、対処しなければならない。また、この旨を記録した事故報告書を作製しなければならない。

6) 就労上の注意

妊娠可能期の女性に対しては、風疹ウイルス、サイトメガロウイルス感染の胎児に及ぼす危険の可能性について、明確に知らせておかなければならない。取扱いウイルスによっては、免疫機能に障害のある職員等が取り扱う場合の危険性等も検討すべきである。

7) 予防接種

取扱いウイルスによっては、職員等に予防接種を行うことがある。

4. 安全管理体系

(1) バイオセーフティレベルと封じ込め施設

1) 病原微生物の安全管理の原理は、病原微生物の各々に対して、前述のようなエアロゾル感染の起りやすさ、発症した際の症状の軽重と予後の良否等に基づいて、感染・発症の確率を一定のレベル以下に限局することであり、下記の要因を考慮して、1～4のバイオセーフティレベルに分類し、エアロゾルの封じ込めのための施設のハードウェアと、運営管理のためのソフトウェアの双方を指定する。バイオセーフティレベルは、感染・発症の確率の許容レベルの高い方をレベル

1にして、封じ込めレベルとしては低くし、確率を極端に低くしなくてはならないものを、最高の封じ込めレベルのレベル4に指定し、その中間にレベル2、3をおく。ウイルスの場合、レベル1は、実習やモニタリングに適したウイルスとされ、ヒトに病原性のないウイルス株や、弱毒生ワクチンに用いられている限られた株のウイルスがこれに指定されている。

2) ウイルスのバイオセーフティレベル指定に際してとり入れられる要因は：a. 病原体そのもののヒトにおける病原性、b. その病原体による感染を予防する有効な予防接種が利用出来るか否か、あるいは、発症しても、効果的な特異的治療法があるか、c. 研究機関の存在する地域社会に、その病原体による感染症が常在しているか否か、等で、一般の病原体は、レベル3までに入る。ウイルスの中で、実験室感染の可能性が高く、しかも有効な予防法、あるいは治療法の開発されていない特定の、幾つかのウイルス疾患がクラス4に分類され、あとで詳しく述べられるような厳重な封じ込め施設と、取扱い方式が整備されていない限り、研究、検査の対象として取扱うことが禁止される。米国では、バイオセーフティレベル1～4の指定の他に、家畜病原体で、米国内での取扱いが禁じられているものあるいは、農業省の政策でその持込みに制限が加えられている病原体（全部がウイルス）31種を、特定動物病原体（Restricted animal pathogens）として指定し、原則的に実験的取扱いそのものを禁止している²⁾。わが国でも家畜伝染病予防法で輸入ないし取扱いが禁止されているものがある。

3) 感染性エアロゾルの物理的封じ込め設備は一次バリアー（primary barrier）と二次バリアー（secondary barrier）の2段で構成される。一次バリアーは、実験野の汚染エアロゾルが実験者に触れないようにするもので、安全キャビネットがこれに当る。実験者の安全そのものは一次バリアーによってのみ保証されるものであるから、その性能、信頼性を定期的に確認すると共に、標準的使用方式を確立してその使用法を誤らないようにする教育と研修を行うことが必要となる。安全キャビネットは、キャビネット内を陰圧にして、前面開口部より、空気を取り入れるクラスーⅠ、前面開口部より空気を取り入れ、HEPA フィルタを通したあと層流（ラミナーフロー）で、清浄空気を実験野に送るクラスーⅡ、完全閉鎖式で、ゴム手袋を通じて実験操作を行うクラスーⅢの3クラスに分けられる。クラスーⅢ安全キャビネットはグローブボックスとも呼ばれる。二次バリアーの目的は、事故その他の

原因により、感染性エアロゾル又は汚染源そのものが一次バリアーから逸出しても、これを実験室の外には拡散させないことを目的としたもので、地域社会及び環境への責任を果すためのものである。実験者の安全は、完全に機能する一次バリアーによってのみ確保されるものである。ハードウェアに相当する建物及び附帯設備については、建物及び区域を他の施設から隔離し、独立させる程度をどのようにするか、室内の内部に向う定方向性気流を確保するに止めるか、室内空気を外界に対して陰圧を保つことを要するか、壁や床、窓、及びパイプ、配線などの貫通部の気密性の程度、室内空気のとおり込み方式、排気における HEPA フィルタによる濾過の有無等で細かく機能が規定される。ソフトウェアに相当する使用・運営・管理方式では、実験室の構造と設備の安全性能を設計通り発揮させ、封じ込めの目的を達するため、実験室内への一般人の立入り制限、出入に際しての更衣、退室時のシャワーによる身体の洗浄、安全設備の経常的維持管理などの運営方式の標準化が必要である。

4) バイオセーフティ各レベルの封じ込め施設と運営方式は、CDC/NIH, WHO, 予研⁹⁾の各体系で大体共通であるが、これを要約して、一次バリアー、二次バリアーと分けて、表記すると、表・1になる。組換え DNA 実験指針という物理的封じ込めレベルも、これと共通で、表中に記載したように、レベル 1～4 と P 1～P 4 が対応する。米国(CDC/NIH)や WHO の指針には、P 1, P 2 レベル実験室を基礎実験室(basic laboratory), P 3 レベル実験室を封じ込め実験室(containment laboratory), P 4 レベル実験室を最高度封じ込め実験室(maximum containment laboratory)と表記している。米国では、P 4 レベル実験室として、所謂、宇宙服実験室(suits laboratory)も併用されている。この場合、実験者は、クラスーⅢ安全キャビネットのゴム手袋に相当する宇宙服(陽圧スーツ)の中に入り、キャビネットに相当する実験室の中で、呼吸用空気コックに連結した送気管を通して、呼吸しつつ実験作業を行う。実験台、実験器具などは、室内で露出した状況で使えるので、実験操作は、グローブボックスを用いる場合よりやりやすくなるが、宇宙服が一次バリアーとなって実験者の安全を保証しなくてはならず、又、実験室の構造が同時に、一次、二次バリアーを兼ねることになるので、建物自体に、グローブボックスに相当する性能と信頼性が要求される。又、宇宙服の着脱のための更衣室と、消毒薬で宇宙服の外側を処理するための薬液シャワー室とを、一般の P 4

レベル実験室の出入口の内側に設けるが必要になる。

(2)安全管理システム

病原体の場合には放射性物質や組換え DNA の場合とは異なり、法律あるいは強制力を有する指針はできていない。各機関が安全管理システムを自主的に制定し、自主的に運営するのが原則となる。

我が国における代表的な安全管理システムとして国立予防衛生研究所(予研)のものがある。ここでは病原体等安全管理規程(管理規程)⁴⁾と実験室安全運営規則(運営規則)が制定され、実行機関としてバイオセーフティ委員会と安全監視委員会の2つの組織が設置されている。

指針として制定・普及されている組換え DNA 実験での安全管理システムと予研の安全管理システムを比較してみると、組換え DNA 実験指針に相当するのは管理規程であり、安全委員会に相当するのはバイオセーフティ委員会である。安全監視委員会の組織は組換え DNA 実験の場合には独立したものにはなっていないが、役割の面では安全主任者にほぼ相当するものとみなせる。運営規則は危険度分類 3 以上の病原体を扱う実験室を対象として各実験室に応じた規則として作成されるものであり、組換え DNA 実験指針ではこの項目はない。

各機関でウイルス実験に関する安全管理システムを作成する場合には、各機関の組織構成、実験内容などの状況に応じた検討が必要である。その際の参考として予研の安全管理システムの概略を以下に紹介する。

1) 管理規程

a. 目的：管理規程は予研における病原微生物、生物の産生する毒性物質、発癌性物質、アレルゲン等の生物学的相互作用を通して人体に危害を及ぼす要因の実験的取扱いについて基準を設定し、研究その他の業務を制約することなく、病原体の保管及び取扱いを安全に遂行させることを目的に制定されたものである。

b. 定義：病原体等とは、病原微生物、生物の産生する毒性物質、発癌性物質、アレルゲンなど生物学的相互作用を通して、人体に危害を及ぼす要因を総称する。指定実験室とは病原体等の危険度分類で 3 から 4 までの病原体等の保管又は実験を行う場所所定の基準に適合し、所長の承認が得られた実験室をいう。

c. 安全管理体制：安全管理の最高責任者である所長は安全管理の目的を達成させるため、下記の二つの担当機関を設置している。

表1 バイオセーフティ・レベル別封じ込めのバリアー構成

クラス別	一 次 バ リ ア ー	二 次 バ リ ア ー	
		建物及び付帯設備	運営及び操作方式
1 (P1)	特に必要としない	通常の微生物学実験室	一般外来者の立入りを禁止する必要はない
2 (P2)	エアロゾル発生の多い実験操作に限りクラスⅠ又はⅡキャビネット	通常の微生物学実験室を、実験区域を限定した上で用いる	実験進行中は、一般外来者の立入りを禁止する
3 (P3)	実験操作はクラスⅠ又はⅡキャビネット内で行う	(1)二重ドア又はエアロックにより外部と隔離 (2)実験室内の表面は洗浄及び消毒可能なように作る (3)排気系を調節して、外→内の気流を確保 (4)排気は高性能フィルタを通して滅菌	(1)作業職員名簿に記載された者以外の立入りは禁止する (2)室内専用の外衣、履物を使用 (3)搬出物はオートクレーブで滅菌または消毒剤により表面を滅菌する
4 (P4)	実験操作はクラスⅢキャビネット内で行う	(1)独立した建物又は、他の区域とサポート域で隔離された区画 (2)壁、床、天井は連続構造で耐水性、気密性とする これ等を貫通する部分も気密構造とする (3)出入口にエアロック→シャワー→エアロックの構造を設ける (4)気圧差を設け、外部→サポート域→実験室→キャビネットの順に陰圧とする (5)HEPAフィルタ：給気1層、排気2層 (6)両面オートクレーブ (7)排水は120℃加熱滅菌	(1)入室の際には下着を含めて完全更衣 (2)退室の際には、内部用衣服を完全に脱いだあと、シャワーで全身を洗浄 (3)作業職員名簿に記載された者以外の立入りを禁止 (4)搬出物はオートクレーブで滅菌又は、密封の上、表面を滅菌

バイオセーフティ委員会

この委員会は所長の諮問により、次のような業務を行う。

- ①安全管理に関する理論的、技術的問題の研究及び調査
- ②病原体等の危険度に基づく分類と安全設備基準の作成
- ③指定実験室の承認手続に関する審査
- ④バイオセーフティレベル3から4までの病原体等の分与などの申請に対する審査
- ⑤その他病原体に対する安全管理に関することを担当する。

病原体等の取扱い安全監視委員会

この委員会はバイオセーフティ委員会で制定した諸規程及び指定実験室安全運営規則の実施状況を監視することを業務とする委員会で、所長の指揮監督下におかれている。主な業務は、

- ①指定実験室の定期及び臨時の査察
- ②バイオハザード事例の原因調査
- ③指定実験室内の事故の調査及び事故処理の指揮と確認
- ④管理規程及び運営規則の実施面での問題点
- ⑤その他病原体等の取扱いの監視に関することを担当する。

委員構成は、予研副所長を委員長として、健康管理担当者、安全管理担当者並びに病原体等の取扱いに関し学識経験のある職員及び予研以外の公務員のうちから所長が任命又は委嘱した者若干名で組織される。

d. 指定実験室の承認条件：指定実験室の承認を得ようとする場合は、取扱う病原体の名称及び危険度、実験の目的と方法、実験期間とともに、実験室の安全設備が所定の基準に適合することを明記した文章を添えてその実験室の所属する部長がその承認を申請する。更に、上記申請に加えて、指定実験室で病原体を取扱う職員についても、その職員が病原体の安全な取扱い方法、安全施設の機構と利用方法、事故の場合の処置等に関して、十分な知識と技術修練を有し、健康上異常のないことを証明する資料を添付する。また、指定実験室は、所定の内容を含んだ「実験室安全運営規則」を制定し、承認を得ることになっている。更に、病原体の保管場所についても指定実験室の内部又は、指定実験室区域として承認された場所であってはならないこと、指定実験室の入口には取扱い病原体の名称、危険度及び危害防止主任者を示した国際バイオハザ-

ード標識を標示すること、危害防止主任者は指定実験室にあって、実験室安全運営規則に定められた業務を遂行すること等が要求される。

e. 事故とその処置：実験室の事故として取扱われるものとして、次の項目が挙げられる。

- ①外傷その他により、取扱い病原体が職員の体内に入った場合
- ②安全設備の機能に欠陥が発見された場合
- ③指定実験室内で病原体の逸出が未発見のまま24時間以上経過した場合
- ④健康診断の結果異常が認められた場合
- ⑤病原体を取扱った職員から感染を疑わせる報告があった場合

事故発見者は遅滞なく危害防止主任者に通報し、それを受けた危害防止主任者は直ちに所長及び所属部長に報告するとともに、運営規則に定められた処置を行うことを義務付けられている。所長は必要に応じ事故処置を安全監視委員会に指揮させるとともに、事故の程度、内容及び危険区域等を一般職員等に周知させる。

f. 緊急事態と対応措置：天災又は、火災等により管理規程や運営規則の遵守が不可能になった場合は緊急事態として対策本部を設置し、次のような処置がとられる。

- ①病原体の逸出の防止対策
- ②災害対策の指導若しくは助言
- ③危険区域の設定及び解除
- ④汚染防止及び除去方法の指導
- ⑤汚染者の隔離
- ⑥広報活動
- ⑦危険区域の安全性調査
- ⑧その他緊急事態に必要な対応策

緊急対策本部は所長、副所長、総務部長、安全監視委員会委員及び所長の指名する者で構成される。

g. 健康管理：病原体を取扱う職員については、取扱い病原体に対する抗体価の測定を含む実験室内検査と、その病原体により発症する可能性の大きい症候の臨床的診断が定期的健康診断として年一回実施されるが、所長が必要と認めた場合は臨時にこれを実施することもある。

健康診断の記録は、職員が常時携帯を義務付けられている健康管理手帳に記入されるが、健康診断の結果異常が認められた職員については、安全確保のため、直ちに必要な処置が講じられる。また、職員が異常を自覚した場合は、直ちに危害防止主任者に届出て、当該病原体の感染の有無について、詳細な調査を受ける。

危害防止主任者は、調査の結果、当該病原体に感染したと認められる場合、あるいは医学的に不明な場合は直ちに所長及び所属部長に報告する義務を負っている。

2) 運営規則

この規則の目的は、管理規程に基づき指定実験室の安全確保と安全運営に必要な管理方式及び操作手順、その他の技術的事項を定めたものである。本規則は管理規程に定める運営規則作成基準に基づくとともに、指定を受けようとする実験室の構造及び設備等によって作成し、バイオセーフティ委員会の審査を経て、所長が承認した規則である。従って、各指定実験室ごとにその内容は多少づつ異なる。

(3)非常時対策

バイオセーフティの主目的は、実験に用いる微生物又は、その産生物によるヒトへの危害の予防であるから、非常事態における第一の原則は人命の救助であり、病原体の完全な封じ込めより、人命を救うための脱出を可能にすることを優先させる。従って、非常事態における避難路を、封じ込め性能に対する侵害を最少限に止める形で確保出来るよう実験室の設計に当って配慮する。避難時の確保と共に、脱出のための時間を、余裕をもって確保出来るよう各種の警報装置を効果的に配置する。完全な封じ込めの最主要因子は一次バリアーであるから、一次バリアーに関して、非常事態における安定性、耐久性を最大限に盛り込み、二次バリアーに関しては、実用的に可能な最大限のものを盛り込むことが原則になる。個々の事態に関して配慮しておくべき点をまとめると次のようになる。

1) 火災；実験操作において火を用いなくていいものを選び、引火性の溶媒の使用を避けることで、火災の発生の可能性を低くする。放水による消火は、汚染を拡大させる危険があるので、人命への危険を避けつつ、化学消防を行う体制を組込んで、研究室当事者による初期消火が速やかに行えるようにしておく。

2) 強風；台風その他に伴う強風で、空調系のエアバランスが崩れ、バリアー間の微妙な差圧が逆転し、封じ込めが設計通り行われなくなる事態が発生する。定風圧・定風量装置や、緊急ダンパーなどを組込んで、この問題に対処しておく配慮が必要である。

3) 停電；封じ込めの機能を維持するためには、最低限の保安運転として、換気一差圧系監視一制御一警報通信系、避難用設備などの機能が維持されることが必要で、一般的には、立上り時間の短い非常用発電機

で、これ等の系統に30秒以内に給電出来る設備をつける。

4) 地震；地震に伴う封じ込め機能の損傷を予防する設計上の配慮が必要である。一次バリアーである安全キャビネット本体と建物の間の固定に十分な強度を持たせ、必要ある場合、キャビネットを密閉すれば、中の感染性エアロゾルが完全に封じられ得るようにしておく。耐震性の目標として、P4レベル実験室の場合、耐震設計という大地震（切断係数2.0）と最強地震（同0.6）の中間に当る切断係数0.384が採用されている。

(4)汚染除去：滅菌と消毒

滅菌と消毒は、実験室内感染防止対策のなかで、主要な役割を持つものの一つである。滅菌と消毒法には表2に示すように多くの方法があるが、微生物は種類によって殺滅手段に対して抵抗性が異なることが多く、その適用については微生物の性状、特に物理化学的な抵抗性を考慮し、また滅菌と消毒の意味するところを厳密に区別したうえで、選択的にその目的と手段を決定することが肝要である。

滅菌は、病原体、非病原体にかかわらず、すべての微生物を殺滅あるいは除去することであり、一般的には加熱および紫外線による方法が、空気および水中の微生物除去にはフィルターによる濾過法が用いられている。

消毒は、病原微生物あるいは目的とする微生物を物理・化学的方法により殺滅し、感染性をなくすことである。これには消毒剤が用いられ、主としてその化学作用により種々の微生物を殺滅する。微生物の種類により効果が異なるので加熱処理よりも信頼性は劣るものの、適切な使用法によるものであれば、一般的な実験室の汚染除去には非常に有用である。

微生物一般の抵抗性について要約的にふれると、栄養型の細菌では、多くの殺菌手段に対して抵抗性は弱い。グラム陽性のブドウ球菌及び連鎖球菌はグラム陰性菌のチフス菌や大腸菌よりも抵抗性が強い。結核菌などの抗酸菌は熱などに対しての性質は栄養型の菌とほぼ同じであるが、薬物に対しては選択性があり溶剤系（アルコール、クレゾール、フェノール）の薬物や両性界面活性剤には作用されるが、塩酸や逆性石鹼には作用されない。

芽胞菌はあらゆる滅菌・消毒手段に強い抵抗性を示すが、なかでも最も有効とされる方法は、高压蒸気による加熱、紫外線および放射線（ γ 線）の照射である。

薬剤では、グルタルアルデヒド、ガス状で作用するホルムアルデヒドおよび酸化エチレンが有効とされている。

ウイルスについては、エンベロープを有するものと有しないもので抵抗性が異なる。前者に所属するウイルスにはヘルペス、ミクソ、アルボなどがあるがこれらはいずれの滅菌・消毒法に対しても比較的抵抗性が弱い。後者にはピコルナウイルスが属し抵抗性が強い。このことは一般的傾向であって、例外のあることを認識していなくてはならない。

一般的にウイルスの熱不活化による半減期を大まかにまとめると、60℃で秒単位、37℃で分単位、20℃で時間単位、4℃で日単位、-70℃で月単位、-196℃で年単位になる。原則としては、ウイルスを含む試料、臓器、動物屍体、実験器具などの最も確実な滅菌法は、高圧蒸気滅菌であり、1気圧(121℃)、30分の滅菌で、完全に目的を達することが出来る。動物屍体の滅菌に当っては、内部が完全に121℃になるように、時間を充分かける必要がある。個体の臓器内に熱を短時間で充分に到達させるためには132℃(2気圧)を用いることが推奨される。その他の実験台、容器等の単純な表面の汚染除去には、消毒薬が用いられる。以下に具体例として、WHOおよび国内研究班によって作成された3種のウイルスの滅菌と消毒法および消毒剤の要点的事項を列記する。

1) ヒト免疫不全ウイルスの滅菌、消毒法 (WHO, AIDS シリーズ 9,1991)

①蒸気滅菌：121℃、20分間

②乾熱滅菌：170℃、2時間

③煮沸消毒：20～30分

④薬物消毒

a. 次亜塩素酸ナトリウム

- ・多目的の実験室用消毒剤としては有効塩素濃度0.1% (1,000ppm)
- ・強力な実験室用消毒剤としては有効塩素濃度1.0% (10,000ppm)

注：次亜塩素酸化合物溶液の効力は、血液、血清、およびその他の蛋白質含有物質によって中和されるため、定期的な交換が不可欠である。

b. エタノール、イソプロパノール

- ・濃度70%として使用
- ・手指、試料容器外面、実験台などの表面の消毒に適する。

c. ホルマリン

- ・濃度3.5～4% (1:10希釈) として使用
- ・実験室等の表面消毒に適する。
- ・優れた消毒剤であるが、溶液、蒸気ともに有毒であることに留意する。

d. グルタール

- ・高水準の消毒剤である。
- ・通常2%の水溶液として供給されている。
- ・使い捨てできず熱に弱い装置および器具の消毒に用いられる。

2) B型肝炎ウイルスの滅菌・消毒法 (厚生省B型肝炎研究班, 1987)

①蒸気滅菌：121～132℃、20～40分間

②乾熱滅菌：180℃、60分

③煮沸消毒：15分以上

④薬物消毒

a. 塩素系消毒剤：次亜塩素酸ナトリウム剤

- ・有効塩素濃度 10,000ppm
- ・消毒時間 1時間
- ・商品名 クロラックス、ピューラックス、ピューラックス10、ハイター、ミルトン

b. 非塩素系消毒剤

- ・2% グルタルアルデヒド液(商品液 ステリハイド)
- ・エチレンオキシドガス
- ・ホルマリンガス

注：消毒用エタノールは無効

3) クロイツフェルト・ヤコブ病、およびスクレイビー病原体の滅菌・消毒法

厚生省遅発性ウイルス感染調査研究班の診断基準では以下の方法を推奨している。

①焼却

②オートクレーブ処理 (なるべく高熱で長時間、例えば130℃で30分)

③次亜塩素酸ナトリウム (なるべく高濃度で長時間、例えば0.5～1%, 2時間)

④SDS (sodium dodecyl sulfate 1%溶液で10分煮沸)

⑤ギ酸 (80%ギ酸溶液で2時間)

4) 消毒剤の要点的まとめ

A. ハロゲン化合物

a) 塩素化合物

①細菌の細胞膜および細胞質中の有機物を酸化分解して殺菌効果を現す。

②一般細菌、真菌、ウイルスに有効であるが、芽胞菌には無効であり、結核菌に対しては不

確実である。

- ③有効塩素濃度1,000ppm 以上で30分以上作用させる。
- ④各種の微生物に対し広範囲に殺滅効果がある。
- ⑤分解しやすく、特に有機物により効果が低下する。金属に対して強い腐食性を有する。酸性にすることによって有毒な塩素ガスを発生する。
- ⑥商品名：次亜塩素酸ナトリウム

b) ヨウ素

- ①ヨウ素 (I_2) の酸化力により殺菌作用を示す。酸性で殺滅効果が強く、アルカリ性で効力を失う。
- ②栄養型細菌、ウイルス、真菌、原虫に対して有効。結核菌に対しても強い殺菌力を示す。
- ③器具消毒、作業表面の拭浄、手洗消毒。
- ④広範囲のスペクトラムを有し、多目的に使用可能。
- ⑤有機物の存在により効果が容易に低下する。一般の金属に対して腐食作用がある。皮膚、粘膜などに着色性を有する。
- ⑥商品名：イソジン[®]、プレボダイン[®]、ダイアザン[®]、ウエスコダイン[®] (有効濃度：75～150 ppm)。

B. アルコール類

- ①蛋白変性、酵素活性阻害および脂質溶解による殺滅作用を示す。
- ②栄養型細菌、結核菌、一部のウイルスおよびリケッチアに対して有効である。芽胞菌や糸状菌には無効である。
- ③器具、実験台表面、キャビネットなどの消毒、拭浄に用いられる。
- ④残留性、人体への毒性や刺激性が少ないことから安全性が高い。
- ⑤繰り返し手指消毒により手荒れを起こす場合がある。
- ⑥商品名：消毒用エタノール、イソプロパノール、プロノゾール。

C. フェノール類

- ①蛋白変性および溶解作用により殺滅作用を発揮する。
- ②栄養型細菌、結核菌には有効であるが、芽胞菌およびウイルスに対しては無効である。

- ③実験室の壁・床などの消毒と拭浄に用いられる。
- ④中和されにくいため有機物の混在下でも殺滅効果は安定している。洗浄と消毒が同時に行なえる特性をもつ。
- ⑤希釈により著しく殺滅作用の低下がみられる。不快臭と組織毒性がある。
- ⑥一般名：フェノール、クレゾール石鹼液。

D. 第4級アンモニウム塩

- ①細胞膜および細胞質内酵素蛋白に作用し、殺滅作用を現す。
- ②栄養型細菌、真菌に殺菌効果が認められる。結核菌には長時間の作用が必要。ある種のウイルス (痘瘡) には有効とされている。芽胞菌には無効である。
- ③機器および実験室表面の消毒と拭浄に適用される。
- ④臭いはほとんどなく、皮膚粘膜に対し刺激が少ない。腐食性はほとんどない。洗浄と消毒を同時に行なうことが可能である。
- ⑤石鹼によって沈殿し、殺菌効果が低下する。
- ⑥商品名：ハイアミン[®]、オスバン[®]、ジアミートル[®]、ウエルパス[®]。

E. アルデヒド類

- ①蛋白凝固作用を有するとともに酵素蛋白の作用を失活する。
 - ②栄養型細菌、結核菌、真菌、ウイルスなど芽胞菌を含むあらゆる微生物に対して有効である。
 - ③器具の迅速消毒や実験室内および安全キャビネットなどの燻蒸消毒に用いられる。
 - ④広範囲の微生物に有効でしかも速効性に作用する。消毒剤に耐性となった微生物についても殺滅効果を示す。有機物の混在下でもその効果は低下しない。
 - ⑤毒性および刺激性が強い。不快臭がある。
 - ⑥一般名 (商品名)：ホルマリン、グルタルアルデヒド (ステリハイド[®]、サイデックス[®])。
- 注：グルタルアルデヒドは液体の消毒剤としては現在最も高レベルのものである。

以上の5種類に化学分類した消毒剤について WHO の指針³⁾は各消毒薬の特徴と適用範囲を表3のようにまとめている。

5. 物理的封じ込め的方式

(1)各封じ込めレベルでの日常運営管理

1) P1レベル

P1レベルは健康な成人に対して病原性がまったくなく性状がよく分析された病原体等の株に適用する。しかしながら、なんらかの理由で免疫不全や免疫抑制のかかった者は危険性にさらされる可能性があるため、作業責任者に申出て、適当な指導を受けるべきである。このレベルの作業室は、卒前教育、卒後の初期教育の作業室として適当である。作業室は建物内の一般通行路からは隔離されていること。作業は通常卓上で行う。

ここに示す基準は安全性を確保する目的だけからするとやや厳しすぎるかもしれないが、病原体を取扱う際の基本的な安全操作法を強調して教えることは有用であろう。

A. 基準操作

- A1 作業中は閉扉。作業中は作業責任者の指導により、入室制限をすることができる。
- A2 作業台清拭。毎日。病原体等がこぼれた時はその都度。
- A3 液体、その他の汚染廃棄物。廃棄または再利用前に除染。
- A4 ピペット操作器具の使用。口を使ったピペット操作の禁止。
- A5 同一室内に作業区域（作業域）と、それ以外の区域（文書作業区域）が同居してもかまわないが、作業域内での飲食・喫煙・食物貯蔵・化粧を禁止する。飲食物を貯蔵する冷蔵庫や貯蔵庫は作業域外に設置する。
- A6 作業後、退室前に手洗。
- A7 汚染エアロゾル発生を少なくするため、注意深い作業を行う。
- A8 作業衣着用（推奨）。作業区画以外で着用してはならない。

B. 指定操作

- B1 汚染物を作業室外に運搬する場合、堅固で洩れない容器に入れ、室外に出る前に蓋をする。
- B2 放置すると腐敗する廃棄物をすぐに処置しない場合、これらを貯蔵する冷凍庫を設置する。
- B3 防虫、防鼠。

C. 安全器具 ピペット操作器具のみ

D. 作業室

- D1 清掃しやすいように設計・設置。床材は継目がないこと。壁・床・天井の突きあわせは丸く収めること。
- D2 作業台表面。水・酸・アルカリ・有機溶媒・中等度の熱に耐性のこと。
- D3 家具類・堅固で清掃しやすいこと。
- D4 手洗器（手洗い用流し）
- D5 窓の開く作業室には防虫網
- D6 同じ建物内にオートクレープ

2) P2レベル

P2レベルは中等度の病原性を有する病原体等に適用する。P1レベルの作業室に要求されることの他に、

- ①作業者は予め必要な教育・訓練を受け、微生物学的知識を十分に持った者の監督の下に作業する。
- ②作業中は、関係者以外は立入禁止。
- ③汚染エアロゾルの発生しやすい作業は安全キャビネットを使用するが、その他の作業は卓上で行う。

A. 基準操作

- A1 作業中は閉扉。作業中は、関係者以外は立入禁止。
- A2 作業台清拭。毎日。病原体等がこぼれた時はその都度。ポリエチレン等で裏張りしたテーブルカバーは清掃を容易にし、汚染エアロゾル発生を少なくする。
- A3 液体、その他の汚染廃棄物、および動物とその廃棄物。廃棄または再利用前に除染。
- A4 ピペット操作器具の使用。口を使ったピペット操作の禁止。
- A5 作業室内での飲食・喫煙・食物貯蔵・化粧の禁止。
- A6 作業後、退室前に手洗。
- A7 汚染エアロゾル発生を少なくするため、注意深い作業を行う。

B. 指定操作

- B1 汚染物を作業室外に運搬する場合、堅固な洩れない容器に入れ、室外に出る前に蓋をする。
- B2 防虫、防鼠。
- B3 作業中の入室者には、作業責任者の許可を必要とする。小児・妊婦・免疫不全の者は危険性が高いと考えられる。

作業責任者は、誰が何時入室できるかを定める

最終責任を持つ。

- B 4 作業責任者は、入室する者に対して、危険性の存在を知らせ、入室条件を満たした者のみが入室できることを教える。作業責任者は、入室に際し必要な条件・入室方法を文書で示す。
- B 5 病原体等の存在する作業室等に万国共通のバイオハザードマークを表示する。これには、作業責任者、病原体名、入室に必要な条件等を付記する。病原体等を含む、あるいは付着する可能性の高い容器・機器にもバイオハザードマークを表示する。
- B 6 作業衣着用。着用のまま、区画外にでないこと。
- B 7 作業に直接使用しない動物を作業室に入れない。
- B 8 病原体が皮膚に触れないよう特に注意する。病原体等、および感染動物の取扱いには手袋を使用する。
- B 9 すべての作業廃棄物は廃棄以前に除染する。
- B10 遠心・磨砕・破碎・振盪・混和、超音波処理、内圧が常圧でない病原体容器の開栓、動物への噴霧、動物や卵からの病原体採取、濃縮または大量試料の取扱はすべて安全キャビネット内で行う。
- B11 注射針はできる限り使用しない（注射や採血にはやむをえない）。使用後は注射針をはずすことなく、直ちに穴のあかない容器に入れる。廃棄以前に除染する（オートクレーブが望ましい）。
- B12 よりPレベルの高い作業を同時進行させる場合には高い方のPレベルにあわせる。
- B13 感染性の消失した抗原を使用する血清反応は卓上で行ってよい。
- B14 こぼれ、事故、その他、感染事故の可能性のある場合には、ただちに作業責任者に報告し、記録（事故の内容、原因、暴露された可能性のあるもの、処置法）を残す。作業責任者は、適切な処置をとる。
- B15 作業者の就労前、および就労後は定期的に採血し、保存する。
- B16 作業に伴う災害の可能性、安全対策上必要な要件を記載したマニュアルを作成する。作業者はこれを熟読し、その指示に従う。
- C. 安全器具
- C 1 生物学用クラス I, II 安全キャビネットを設置する。感染性のあるエアロゾルを発生する可能性の高い操作に使用する。この操作には、遠心、磨砕、破碎、激しい振盪・混和、超音波処理、ピペット操作圧力、真空容器の開蓋、動物の鼻腔内接

種、動物や卵からの検体採取を含む。

- C 2 遠心機については、ロータまたはバケットに安全蓋があり、その開閉を安全キャビネット内で行う場合には、作業室内に設置することができる。
- D. 作業室
- D 1 清掃しやすいように設計・設置。床材は継目がないこと。壁・床・天井の突きあわせは丸く収めること。突き合せ部位に継ぎ目がないこと。
- D 2 作業台表面。水・酸・アルカリ・有機溶媒・中等度の熱に耐性のこと。
- D 3 家具類・堅固で清掃しやすいこと。
- D 4 手洗器（手洗い用流し）、手術室用が望ましい。
- D 5 窓の開く作業室には防虫網
- D 6 同じ建物内にオートクレーブ

3) P 3 レベル

高度に危険な病原体に適用する。作業者は十分な教育・訓練を受け、安全の確保に十分な知識と経験のある科学者の監督の下に作業する。作業責任者の許可なく入室はできない。全作業は安全キャビネット内、または安全対策機器内で行う。作業室には特別な構造と設備が必要である。

A. 基準操作

- A 1 作業中は閉扉。
- A 2 作業台清拭。毎日。病原体等がこぼれた時はその都度。ポリエチレン等で裏張りしたテーブルカバーは清掃を容易にし、汚染エアロゾル発生を少なくする。
- A 3 液体、その他の汚染廃棄物、および動物とその廃棄物。廃棄または再利用前に除染。
- A 4 ピペット操作器具の使用。口を使ったピペット操作の禁止。
- A 5 作業域内での飲食・喫煙・食物貯蔵・化粧を禁止。
- A 6 作業後、退室前に手洗。
- A 7 汚染エアロゾル発生を少なくするように、注意して作業を行う。

B. 指定操作

- B 1 作業に必要な者以外は入室できない。入室を許可される者は個別に作業責任者が最終責任をもって判断する。
- B 2 作業責任者は、入室する者に対して、危険性の存在を知らせ、入室条件を満たした者のみが入室できることを教え、入退室に際し必要なすべての手技に従うことを確認する。

- B 3 病原体の存在する作業室等に万国共通のバイオハザードマークを表示する。これには、作業責任者、病原体名、入室に必要な条件等を付記する。病原体等を含む、あるいは付着する可能性の高い容器・機器にもバイオハザードマークを表示する。
- B 4 生きた病原体等を扱う開放操作はすべて安全キャビネットまたはこれに替る安全対策機器内で行う。開放操作を卓上で行ってはならない。
- B 5 作業台、安全キャビネット、その他の室内の清掃。毎日。病原体等がこぼれた時はその都度。ポリエチレン等で裏張りしたテーブルカバーは清掃を容易にし、汚染エアロゾル発生を少なくする。
- B 6 防虫、防鼠。
- B 7 作業衣着用(前ボタンは不適)。着用のまま、室外にでないこと。作業衣を室外に出す前、洗濯前に除染すること。
- B 8 病原体や、感染動物の取扱には手袋を使用。手袋を脱ぐ時には無菌操作に従い、汚染廃棄物として処理する。
- B 9 感染動物を扱う作業には不織布性マスクを使用する。
- B 10 作業に直接使用しない動物・植物を作業室に入れない。
- B 11 作業室・動物作業室からでる廃棄物は、廃棄・再利用前にすべて除染する。
- B 12 真空配管等には HEPA フィルタと液体溜めを備える。
- B 13 注射針はできる限り使用しない(注射や採血にはやむをえない)。使用後は注射針をはずすことなく、直ちに穴のあかない容器に入れる。廃棄以前に除染する(オートクレーブが望ましい)。
- B 14 より P レベルの高い作業を同時進行させる場合には高い方の P レベルにあわせる。
- B 15 感染性の消失した抗原を使用する血清反応は卓上で行ってよい。
- B 16 こぼれ、事故、その他、感染事故の可能性のある場合には、ただちに作業責任者に報告し、記録を残す。作業責任者は、適切な処置をとる。作業責任者は適切な医学上の予防・監視・治療態勢を準備しておくこと。
- B 17 作業者の就労前、および就労後は定期的に採血し、保存する。
- B 18 作業に伴う災害の可能性、安全対策上必要な要件を記載したマニュアルを作成する。作業者はこれを熟読し、その指示に従う。

C. 安全器具

- C 1 生きた病原体等を取扱うすべての作業は生物学用安全キャビネット、あるいはこれに替る封じ込め機器等を使用して行う。
- C 2 P 3 レベルを必要とする作業も、次の 3 条件を満足すれば、P 2 レベル作業室で行ってもよい。
- ①すべての操作を生物学用クラスⅢ安全キャビネット内で行う。
 - ②生物学用クラスⅢ安全キャビネットから取出すものはすべて付属するオートクレーブを通すか、あるいは堅固な密封容器に入れて消毒剤の入った浸漬タンクを通して取出す。
 - ③他のすべての点で P 3 の要件をみたす。
- ## D. 作業室
- D 1 作業室は一般通路から次のいずれかの方法で隔離されていること。
- ①扉／更衣室＋シャワー／扉
 - ②エアロック
 - ③扉／通路／扉
- いずれの場合にも昆虫の通過に対して対策をとること。
- D 2 床・壁・天井面は耐水性で清掃しやすいこと。これらの面の間隙・貫通孔は密閉するか、密閉しやすい構造であること(空調により室内が陰圧となる)。
- D 3 作業台表面。水・酸・アルカリ・有機溶媒・中等度の熱に耐性のこと。
- D 4 家具類。堅固で清掃しやすいこと。
- D 5 出口近くに肘、脚、または足で操作できる手洗器を設置する。
- D 6 窓は閉鎖、密閉する。
- D 7 P 3 区画への扉は自動閉鎖、自動施錠とする。
ここではドアチェックをつけ、開放状態にならないようにするとの意味。多くの電動式扉は密閉度が悪く、かえって不向きである。また、締込み式のドアノブは密閉度の点ではよいが、閉めない人が多くなる傾向にありどちらがより安全か分からない。
- D 8 同じ建物内にオートクレーブ。除染用のオートクレーブは作業室内にあることが望ましい。
- D 9 排気システムを有すること。排気システムは、室内に向かって流れ込む気流を作ること。作業室の排気は、他の区域に再利用されない限り、建物の共通排気に取込んでよい。また、作業室内空気の再利用(再循環)は行ってよい。安全キャビネ

ット以外の室内空気は、処理せずに直接排気してよい。排気口から出た排気は外気で希釈されるように設計する。作業台表面。水・酸・アルカリ・有機溶媒・中等度の熱に耐性のこと。

D10 排気設備を持つ作業室では、給排気が連動し、作業室内に向かう気流が確保されること（停止時には静止）。

D11 生物学用クラスⅠ，Ⅱ安全キャビネットの排気は、

- ①直接外気に
- ②建物の排気系に、または
- ③作業室内に、排気する。

建物の排気系に排気する場合には、キャビネット間や、建物排気との間に相互作用があってはならない。

4) P4レベル

きわめて危険、または国内にない病原体の取扱に適用する。ここで作業する者は、当該病原体とその作用、P4レベルにおける作業基準、技術、P4作業室の特性・機能を十分身につけていること。これらの条件をすべて具えた作業責任者の監督の下に作業する。P4区画への出入りは厳重に制限すること。各区画について十分なマニュアルを作成し、遵守する。

A. 基準操作

- A1 作業台清拭。毎日。病原体等がこぼれた時はその都度。
- A2 ピペット操作器具の使用。口を使ったピペット操作の禁止。
- A3 汚染エアロゾル発生を少なくするため、注意深い作業を行う。

B. 特殊操作

- B1 生物活性のあるものを生物学用クラスⅢ安全キャビネット、P4作業域から外に出す時は、こわれない一次容器に入れ、さらにこわれない二次容器に入れてから、消毒剤の入った浸漬タンク、あるいは噴霧消毒箱等を通して搬出する。
- B2 目的とする生物活性のある試料以外はすべてオートクレーブ等の方法で除染することなしにP4作業域から搬出しない。高熱に耐えないものはガスまたは蒸気によって除染する。
- B3 P4区画あるいは各作業室の作業に直接関係する者のみが入室できる。
 - ①作業に必要な者以外は入室できない。入室を許

可される者は個別に作業責任者が最終責任をもって判断する。

②作業責任者は、入室する者に対して、危険性の存在を知らせ、入室条件を満たした者のみが入室できることを教え、入退室に際し必要なすべての手技に従うことを確認する。

B4 P4区画に入室する時は、下着・靴下に至るまで脱衣し、退出時に髪にシャワーを浴びないものは、シャワーキャップをつける。

B5 P4区画から退出する時は、シャワーを浴び、着衣を交換してから、退出する。退出時には、作業衣等をシャワー室の内側に残す。エアロックは緊急時以外には使用しない。

B6 病原体等の存在する作業室等に万国共通のバイオハザードマークを表示する。これには、作業責任者、病原体名、入室に必要な条件等を付記する。病原体等を含む、あるいは付着する可能性の高い容器・機器にもバイオハザードマークを表示する。

B7 物品の出し入れは、2重扉オートクレーブ、噴霧箱、あるいはエアロックを通して行う。両方の扉を同時に開けてはならない。(D11参照)

B8 防虫、防鼠。

B9 作業に直接使用しないものを作業室内に入れない。

B10 注射針はできる限り使用しない（注射や採血にはやむをえない）。使用後は注射針をはずすことなく、直ちに穴のあかない容器に入れる。廃棄以前に除染する（オートクレーブが望ましい）。

B11 感染動物を扱う作業には不織布性マスクを使用する。

B12 こぼれ、事故、その他、感染事故の可能性のある場合には、ただちに作業責任者に報告し、記録を残す。作業責任者は、適切な処置をとる。作業責任者は適切な医学上の予防・監視・治療態勢を準備しておくこと。

C. 安全器具

C1 すべての作業は生物学用クラスⅢ安全キャビネット内で行う。

例外1：体全体が入る陽圧作業服を使用する場合には、生物学用クラスⅠ，Ⅱ安全キャビネットを使用できる。

例外2：有効なワクチンがある場合には、ワクチン接種を受けた作業者は陽圧作業服なしに生物学用クラスⅠ，Ⅱ安全キャビネットで作業できる。

D. P 4 区画

- D 1 P 4 区画は独立家屋，または明確に区別された建物の 1 部とする。シャワー室の両側に更衣室(室外衣用，作業衣用)を設ける。ものの出入れ用に，2 重扉オートクレープ，噴霧箱，エアロック等を設置する。
- D 2 作業室内面は完全密閉とする。床に排水口を設ける場合には，消毒剤の入ったトラップをつけ，さらに排水処理タンクに直接接続する。給排気装置には HEPA フィルタを装置。
- D 3 作業室内面，および装置・器具はほこりのたまる水平上面をなるべく避ける。
- D 4 作業台表面には継目がないこと。水・酸・アルカリ・有機溶媒・中等度の熱に耐性のこと。
- D 5 家具類。堅固で清拭しやすいこと。
- D 6 出口近くに肘，脚，または足で操作できる手洗器を設置する。
- D 7 真空ラインを設置する場合，
 ①各コックにできるだけ近いところに HEPA フィルタを配置する。
 ②P 4 区画内のみで独立した系統とする。
 ③HEPA フィルタはそのまま除染できること。液体・ガスの配管は逆流のない設計であること。
- D 8 飲料水用蛇口は足で操作できること。作業室内には置かないこと。配管は独立とし，逆流防止装置がついていても，他の給水管と接続してはならない。
- D 9 P 4 区画への扉は自動閉鎖，自動施錠とする。
- D 10 窓は密閉とし，破損しないこと。
- D 11 2 重扉オートクレープの外扉は滅菌終了後のみ開く構造であること。
- D 12 通過型浸漬タンク，噴霧箱はオートクレープにかけられないものを P 4 区画から，取出す際に用いる。
- D 13 作業室の流し，安全キャビネット，作業室床，オートクレープからの排液は，すべて熱処理すること。シャワー室と便所の排液は化学処理または熱処理する。熱処理・化学処理ともに生物学的・物理的方法で有効性をモニタすること。
- D 14 給排気システムは他の部屋等に対して独立とする。外から一番危険性の高いと思われる方向に気流が流れるようにする。空間の気圧差測定にマノメータを配し，異常のある場合は警報を作動させる。給排気システムは連動とし，室内への気流方向を確保する。
- D 15 HEPA フィルタ濾過した空気は室内で再利用してよい。
- D 16 P 4 区画の排気は HEPA フィルタで濾過する。HEPA フィルタはフィルタ箱内で除染でき，汚染ダクトを最小にする位置に配置する。給排気システムの事故により発生し得る逆流に対処するため，給気側にも HEPA フィルタを配置する。
- D 17 生物学用クラス I，II 安全キャビネットの排気は作業室内に放出するか，あるいは，作業室の排気系を通して，外界に放出してもよい。生物学用クラス III 安全キャビネットの排気は再利用することなく直接放出するか，作業室に排気系を通して放出する。排気系を通して放出する場合には，安全キャビネット間，作業室との間に干渉がおきないことを確認する。
- D 18 “宇宙服”作業室は完全密閉とし，排気は 2 重 HEPA フィルタ濾過する。宇宙服は着たまま化学シャワーと除染が可能なこと。電気・空気等のバックアップシステムを完備すること。

(2)安全確保のための設備・器具

病原体等を取扱う作業施設，作業室に係する安全確保のための，設備・器具等は以下の表のとおりである。

防災器具

建物に付属する器具

緊急時照明施設，消火器
 防災シャワー，洗眼器

備品等

消防服，化学消防服，消防毛布，
 人工呼吸器 懐中電燈，救急箱
 貯蔵庫，冷蔵庫，冷凍庫：耐震，
 防爆設計

滅菌器具

高圧蒸気滅菌器，エチレンオキサイドガス滅菌器，焼却滅菌器

エアロゾル，ガスを隔離するための設備

生物学用安全キャビネット

ドラフト

作業者の身につける装備等

作業衣，手袋，マスク，保護眼鏡
 放射線モニタ

作業者が使用する器具等

実験器具の選択：エアロゾル発生器具の構造

遠心器，超音波破砕器，破砕器，

磨砕器等

攪拌器

ピペット操作器具

実験用器材の選択

鋭利な刃物，破損した時に鋭利になるものの使用を避ける。

ガラス器具はなるべく使用しない。

注射針，刃物はなるべく使用しない。

1) 防災器具にあげた多くの設備，備品は消防法などによって規定されており，病原体等を取扱う作業施設・室に特異的ではない。

これらのうち，可燃性有機溶媒の保存用の貯蔵庫，冷蔵庫，冷凍庫には防爆設計が望ましい。

2) 滅菌器具は必須である。通常の施設では，市販のものをそのまま使用できる。しかしながら，滅菌器の性能を化学的，あるいは生物学的な方法を用い常にモニタすることが必要である。

とくに危険な病原体等を扱う P 4 レベルの施設では，滅菌器から最初に排出される気体の中に未滅菌の病原体が混入する可能性が高いので，その対応も必要になる。

3) 病原体等を取扱う施設では，化学物質，RI 等をも使うことが多いので，その両方に対処することが必要である。

①ドラフト。化学物質対策。原則として病原体等を扱わない。

②クリーンベンチ。病原体等を扱わない。ベンチ内で発生するエアロゾルは作業者に向かって吹出してくるので，卓上で作業する場合より危険である。そのため，病原体等を扱わない場合でも，株化されていない細胞，動物材料，検体としての血清などの取扱には使うべきではない。クリーンベンチを使える作業としては，培地の調整，病原体等の混入がないことがわかっている株化細胞の取扱いなどである。

③生物学用安全キャビネットはクラス I，II，III の 3 種に大別される。いずれも病原体等の取扱いに際し発生するエアロゾルを作業領域に封じ込めるための機器である。生物学用クラス I，

II 安全キャビネットは前面に作業用の開口部を有し，流入気流によって作業室へのエアロゾル漏出を防ぎ，HEPA フィルタによって排気中のエアロゾルを取り除く。生物学用クラス III 安全キャビネットは機器に装着された手袋を通して作業する密封型のキャビネットである。

a. 生物学用クラス I 安全キャビネット：作業領域に清浄空間を要求しない場合に使用する。エアロゾルを発生する機器はこれの中で使用することが望ましい。機器に合せて設計することも可能である。

b. 生物学用クラス II 安全キャビネット：作業領域に清浄空間を必要とする場合に使用する。作業空間に供給する清浄空気と，キャビネットに取込まれる流入気流のバランスが微妙なので，米国，日本，ヨーロッパ各国には，国単位の統一規格（後述）が発表されている。製作者のみの性能保証はかえって危険である。

c. 生物学用クラス III 安全キャビネット：特に危険度の高い病原体等の取扱いや特殊目的の作業（例えば感染動物の取扱い）等）に使用する。目的に応じた設計が必要なことが多く，統一規格を作ることはきわめて困難である。

4) 作業者の身につける装備等

①作業衣：P 1，P 2 では前開きでよいが，P 3，P 4 では前開きはよくない。P 3，P 4 では露出した皮膚を少なくする工夫が必要であり，空調との関係（長袖で作業するには 22～24℃ 以下に設定することが必要で，コストが増大する）をよく考える必要がある。P 2 で半袖を使えるかどうかは作業内容によろう。作業衣の長さについても，作業内容との関係で検討すべきである。

②手袋：手術用の手袋は操作性はよいが高価である。多くの場合はより安価なプラスチック製手袋でよいが，これらは手首までのものが多いため，P 3 作業には疑問がある。穴があいたり，破れたりするものは避けるべきである。

③マスク：不織布製のマスクを使用する。多くの場合，使用者を特定できるようにしておけば，再使用も可能である。

④履き物：一般通路から，作業区画に入るところで履き物を交換することが望ましい。P 3，P 4 区画に入るところではもう 1 度交換する。露出される足の面積から，履き物はサンダル，靴，

長靴のうち適当なものを使用する。P 3, P 4 区画ではサンダルは不可。

- ⑤保護眼鏡：主に化学物質用。皮膚に密着するもの。コンタクトレンズ使用者は、レンズと角膜の間にガスが入込み、予想外の失明事故を起こすことがあるので特に注意。

5) 作業者が使用する器具等

①エアロゾルを発生する器具

- a. 遠心機：遠心機はエアロゾル発生を起こしやすい。遠心機からのエアロゾル発生はいくつかに分けて考える必要がある。

a 1 遠心管の密閉。病原体等を扱う者は遠心管は密閉しているのが当然であると考えているであろう。しかしながら、遠心管を入れるバケットの中が汚れていることは日常茶飯事である。すなわち、密閉は完全とは言えないことが多い。密閉度の高い遠心管を使用する。遠心管の中に入れる液量の上限・下限を設定する。超遠心機では溶封遠心管を推奨する。

a 2 遠心管の破損。遠心管が破損した経験のない作業者は少ないであろう。破損する可能性の高い遠心管は使用しない。ガラス製は止めて、プラスチック製を使用する。

a 3 バケット、ロータの密閉度。バケットは開放製のものが多い。超遠心機の水平ロータのバケットの密閉度はきわめて高い。使いやすい密閉型のバケットを開発してほしい。アングル型のロータは蓋をしてねじこむものが多く、密閉であると考えているものが多いが、実際にはロータの蓋の高さの位置で遠心チェンバの内側をぬぐうとかなりの汚れがでる。これは試料が遠心管から出て、バケット内に止まらず、ロータからも漏出したことを示しており、作業室内に大量のエアロゾルが放出されていることを示している。超遠心機を使う場合は、安全性の面から言えば、水平ロータを推奨する。

a 4 超遠心機の場合、とくに注意が必要である。

a 5 遠心機のチェンバからの排気を HEPA フィルタで濾過したり、チェンバ内をホ

ルムアルデヒドガス滅菌したりする装置が市販されている。前者は P 4 作業室では効果を期待できる。後者は、チェンバ内のエアロゾル濃度が高いのは遠心直後であり、滅菌に必要な時間は24時間であるので、遠心が終了してから24時間はとりだせないことになる。

b. 超音波破砕器、破砕器、磨砕器等：密閉型の機器を選択する。やむをえず開放型の機器を使用する場合にはキャビネット内で使用する。

c. 攪拌器：小型の機器はキャビネット内で使用する。

d. 個々の機器をすべて安全キャビネットに収容することが理想であるが、余りにも高価となり、実用的ではない。便法として、P 2, P 3 レベルでは、作業室の中に小区画を作り、エアロゾル発生機器を収容する。作業者は区画の外から操作用開口部を通して、機器を操作する。作業室の排気をこの区画の中から取ることによって、この区画の入口となる操作用開口部に外向きの気流を維持し、作業者の安全を確保する。この方法は、比較的安価で実施しやすい。

②ピペット操作器具：口を用いたピペット操作を行わないためにきわめて多様な器具が開発・市販されている。

(3)封じ込め施設の設計

1) 用語

①施設、区画、室、作業域、作業領域

a. 施設：ここでは施設とは、一般通行路から一応区別された区域をいう。

この中へ入る時は、病原体等を取扱う施設であることを明示した標識があること。たとえば、〇〇微生物研究所、ウイルス学教室の看板など。必ずしも一般の通行を制限してなくてもよい。施設の中には、事務室、食堂、文書作業室、空調機器室、便所なども存在し得る。

b. 区画：作業室、機械室、洗い場、貯蔵庫、暗室等を含み、病原体が存在し得る区域をいう。

c. 室：実際に病原体等を開放系で取扱う作業室。

d. 作業域：P 1 レベルでは、室内に区域を制定し、病原体等を取扱う作業を行う区域(作業域)と、文書作業区域を同居させることができる。

e. 作業領域：卓上、あるいは安全キャビネット内の病原体等が開放性に存在する区域。

2) 施設の設計

①共通事項

a. 防災施設。防災器具の項で述べた。しかしながら、Pレベルの高い作業区画では、防災面を強調することがだんだん難しくなる。たとえば、入室制限を強くして関係者外に事故の起る可能性を少なくしようとすれば、入退室に時間がかかり、災害時の避難には不利である。また作業の目的別に小部屋を多く作る傾向にあるため、各室に防災設備を個別に設けると初期コストが増大する。(防災シャワー、洗眼器等)

b. 作業区画外設備と、作業区画内設備の振分け。

b 1 P 1レベルでは、同一室内に共存できる。

b 2 P 2～4レベルでは共存できない。作業区画外に文書作業室、飲食・喫煙・食物貯蔵・化粧等を行う場所が必要。区画内外の連絡法。作業時間の長い場合には、便所を区画内に設備するかどうかの検討を行う。

c. 窓の開く作業室には防虫網。作業中は閉鎖するのが通常である。従って、なんらかの空調設備が必要となる。

d. 手洗器（手洗い用流し）

e. 防虫，防鼠，出入口，窓など。

f. 同じ建物内に滅菌用設備(オートクレーブ等)。
P 3以上では作業室に必要となることが多い。

g. 備品等

g 1 作業台表面。水・酸・アルカリ・有機溶媒・中等度の熱に耐性のこと。

g 2 家具類。堅固で清掃しやすいこと（配置を含む）。

g 3 汚染物を作業室外に運搬する堅固で洩れない容器の置き場。

g 4 放置すると腐敗する廃棄物を貯蔵する冷凍庫を設置。

g 5 使用後注射器を収集する穴のあかない除染可能な容器とその置き場。

g 6 内外の履き物，着衣等の置き場。

h. 区画外設備

直接使用しない動物の保管・飼育場所。

②P 1レベル：

a. 設計

a 1 作業区域（作業域）と、それ以外の区域（文書作業区域）を明確に分ける。作業域内での飲食・喫煙・食物貯蔵・化粧を

禁止する。飲食物を貯蔵する冷蔵庫や貯蔵庫は作業域外に設置。

a 2 床材は継目がないこと。壁・床・天井の突きあわせは丸く収めること。

a 3 清掃しやすいように設計・配置。

③P 2レベル

a. 区画外の設備

a 1 事務所，文書作業室，食堂，便所，機械室等

a 2 二酸化炭素，液化窒素等の供給は区画外から行えることが望ましい。

b. 区画への入口

b 1 入室管理を行う場合にはそのための設備。たとえば，テレビ監視装置，電気錠。

b 2 着衣・履き物の交換に伴う保管場所

b 3 出入りには作業用の試料・器具等を伴うことが多いので，通行手段を考えること。たとえば，カートを利用する場合には通路の境に段差がない方がよい。

b 4 防鼠・防塵の目的には最低100mm 扉が持上がっている方がよい。この場合，両側にすのこを置くと履き物の交換が容易である（すのこの上は履き物で上がらないこと）。この方式はb 3とは相入れない。

c. 作業室

c 1 病原体等の存在する作業室等に万国共通のバイオハザードマークを表示する。これには，作業責任者，病原体名，入室に必要な条件等を付記する。

c 2 履き物，作業衣交換のための場所。

c 3 作業に伴う災害の可能性，安全対策上必要な用件を記載したマニュアル。

c 4 床材は継目がないこと。壁・床・天井の突きあわせは丸く収めること・突き合せ部位に継ぎ目がないこと。

c 5 安全キャビネットの設置（後述）

c 6 遠心機等エアロゾルを発生する機器の収納場所（安全確保のための設備・器具5）①d参照）。

c 7 手洗器（手洗い用流し），手術室用が望ましい。

④P 3レベル

P 3レベル以上では，作業室が独立して1つしかないもの，区画内に作業室が複数あるもの，P 2レベルの作業区画の中に取り込まれているもの

などいろいろであり、一概に記載するのはきわめて困難である。以下に示す典型例を参考にして示すので、個々の詳細点について、慎重に判断するべきである。

a. 作業室への入口

- a 1 作業室は一般通路から次のいずれかの方法で隔離されていること。

①扉／更衣室＋シャワー／扉

②エアロック

③扉／通路／扉

いずれの場合にも昆虫の通過に対して対策を取ること。

クリーンルームと異なるところは、中からの病原体等の持出しを防ぐことにあるため、エアシャワーは特殊目的がない場合には必要がない。

- a 2 P 3 区画への扉（外側）は自動閉鎖、自動施錠とする。

自動閉鎖：開放状態で放置されないようにする。ホテルの扉を連想すればよい。ドアチェックをつければよい。多くの電動式扉は密閉度が悪く、かえって不向きである。見えないところにゴミがたまり、防虫、防鼠にもよくない。

密閉度：P 3 作業室の空調は作業室内へ向かう気流を確保する。すなわち、扉の密閉度が低いと室外の塵埃の多い空気が混入することになる。とくに通行の便を考え、床側の戸当たりをなくすると、戸の下の際間から常に風が吹込むことになる。密閉度の点では、締込み式のドアノブがよいが、閉めない人が多くなる傾向にある。

自動施錠：外側が自由通行路の場合には自動施錠が必要であろうが、すでに通行制限を受けている場合には、ラッチが締り確実に閉鎖すればよい。自動施錠の所もある。

- a 3 着衣・履き物等の置き場所。

b. 作業室

- b 1 床・壁・天井面は耐水性で清掃しやすいこと。これらの面の間隙・貫通孔は密閉するか、密閉しやすい構造であること（空調により室内が陰圧となる）

- b 2 窓は閉鎖、密閉する。

- b 3 真空配管等には HEPA フィルタと液体溜めを備える。

- b 4 出口近くに肘、脚、または足で操作できる手洗器。

- b 5 作業に伴う災害の可能性、安全対策上必要な用件を記載したマニュアル。

c. 空調設備

- c 1 排気システムを有すること。排気システムは、室内に向かって流込む気流を作ること。作業室の排気は、他の区域に再利用されない限り、建物の共通排気に取込んでよい。また、作業室内での再利用は行ってよい。安全キャビネット以外の室内空気は、処理せずに直接排気してよい。排気口から出た排気は外気で希釈されるように設計する。

- c 2 排気設備を持つ作業室では、給排気が連動し、作業室内に向かう気流が確保されること（停止時には静止）。

作業室の空気の清浄度は、給気の清浄度と、隙間から流入する空気によって決まる。床・壁・天井の素材、突き合せ構造は慎重に選択する。貫通口（パイプ・電気配線・電気器具等）に十分注意。扉の周囲の隙間も問題。給気の清浄度は、99%程度のフィルタで十分目的を達する。HEPA フィルタは使わない方がよい。

d. 備品等

- d 1 作業台表面。水・酸・アルカリ・有機溶媒・中等度の熱に耐性のこと。

- d 2 清掃しやすいように配置

- d 3 生物学用安全キャビネット、あるいはこれに替る封じ込め機器等。

- d 4 P 2 レベル作業室で P 3 レベルの作業をする場合。

①すべての操作を行う生物学用クラスIII 安全キャビネット。

②生物学用クラスIII 安全キャビネットに付属するオートクレーブ、消毒剤の入った浸漬タンク。

③他のすべての点で P 3 の要件をみたす。

- d 5 生物学用クラス I, II 安全キャビネットの排気は、

①直接外気に

②建物の排気系に、または

③作業室内に、排気する。

建物の排気系に排気する場合には、建物あるいは実験室の空調の可動または停止によってキャビネットの排気風量に10%以上の変動を与えてはならない。又、複数のキャビネットの可動または停止によって当該キャビネットの排気風量に影響を与えるようなことがあってはならない。1台のキャビネットの排気風量は約1,000m³/hとなるので、実験室の排気量に比較して大きな値であることに十分注意する。クラスII安全キャビネットの排気風量は、定格値の±10%以内にある場合に限って安全性が確保されることに留意する必要がある。キャビネット間や、建物排気との間に相互作用があってはならない。

- d 6 同じ建物内にオートクレーブ。除染用のオートクレーブは作業室内にあることが望ましい。

⑤ P 4 レベル

a. P 4 区画全体

- a 1 P 4 区画は独立家屋、または明確に区別された建物の1部とする。
- a 2 P 4 区画からの排気、排水、その他を滅菌処理する能力が必要である。目的とする生物活性のある試料以外はすべてオートクレーブ等の方法で除染することなしにはP 4 区画から搬出ししない。高熱に耐えないものはガスまたは蒸気によって除染する。
- a 3 P 4 区画の排気はHEPA フィルタで濾過する。HEPA フィルタはフィルタ箱内で除染でき、汚染ダクトを最小にする位置に配置する。給排気システムの事故により発生し得る逆流に対処するため、給気側にも HEPA フィルタを配置する。
- a 4 “宇宙服”作業室は完全密閉とし、排気は2重 HEPA フィルタ濾過する。宇宙服は着たまま化学シャワーと除染が可能なこと。電気・空気等のバックアップシステムを完備する。
- a 5 飲料水用蛇口は足で操作できること。作

業室内には置かないこと。配管は独立とし、逆流防止装置がついていても、他の給水管と接続してはならない。

b. P 4 区画への入口

- b 1 P 4 区画への扉は自動閉鎖、自動施錠とする。
- b 2 入室制限をするに十分な構造・機能
- b 3 シャワー室の両側に更衣室（室外衣用、作業衣用）を設ける。
- b 4 脱出口（エアロック）
- b 5 病原体等の存在する作業室等に万国共通のバイオハザードマークを表示する。これには、作業責任者、病原体名、入室に必要な条件等を付記する。
- b 6 防虫、防鼠。
- b 7 内外の連絡方法、特にP 4 レベルでは実験ノートも持出しできないから、ファックス等による。

c. P 4 区画への物品の通路。

- c 1 2重扉オートクレーブの外扉は滅菌終了後のみ開く構造であること。
- c 2 通過型浸漬タンク、噴霧箱、あるいはエアロックはオートクレーブにかけられないものをP 4 区画から、取出す際に用いる。両方の扉を同時に開けてはならない。
- c 3 作業室の流し、安全キャビネット、作業室床、オートクレーブからの廃液は、すべて熱処理すること。シャワー室と便所の廃液は化学処理または熱処理する。熱処理・化学処理とともに生物学的・物理的方法で有効性をモニタすること。

d. 作業室

- d 1 窓は密閉とし、破損しないこと。
- d 2 作業室内面は完全密閉とする。床に排水口を設ける場合には、消毒剤の入ったトラップをつけ、さらに排水処理タンクに直接接続する。
- d 3 真空ラインを設置する場合、
- ①各コックにできるだけ近いところに HEPA フィルタを配置する。
 - ②P 4 区画内のみで独立した系統とする。
 - ③HEPA フィルタはそのまま除染できること。液体・ガスの配管は逆流のない設計であること。

- d 4 出口近くに肘, 脚, または足で操作できる手洗器を設置する。

e. 空調

- e 1 給排気システムは他の部屋等に対して独立とする。外から一番危険性の高いと思われる方向に気流が流れるようにする。空間の気圧差測定にマノメータを配し、異状のある場合は警報を作動させる。給排気システムは連動とし、室内への気流方向を確保する。
- e 2 HEPA フィルタ濾過した空気は室内で再利用してよい。

f. 備品等

- f 1 作業台表面には継目がないこと。水・酸・アルカリ・有機溶媒・中等度の熱に耐性のこと。
- f 2 家具類。堅固で清掃しやすいこと。
- f 3 生物学用クラスIII安全キャビネットの設置。

例外1：体全体が入る陽圧作業服を使用する場合には、生物学用クラス I, II 安全キャビネットを使用できる。

例外2：有効なワクチンがある場合には、ワクチン接種を受けた作業者は陽圧作業服なしに生物学用クラス I, II 安全キャビネットで作業できる。

- f 4 安全キャビネットに付属した2重扉オートクレーブの外扉は滅菌終了後のみ開く構造であること。通過型浸漬タンク、噴霧箱はオートクレーブにかけられないものを取出す際に用いる。
- f 5 生物学用クラス I, II 安全キャビネットの排気は作業室内に取ってよい。あるいは、作業室の排気系を通して、外界に取ってもよい。生物学用クラスIII安全キャビネットの排気は再利用することなく直接排気するか、作業室に排気系を通して排気する。排気系を通して排気する場合には、安全キャビネット間、作業室との間に干渉がおきないことを確認する。

6. ウイルス材料の分与と輸送

一つの研究施設から、他の施設への病原微生物の分

与と輸送は、それが日常管理されている区域、施設から離れて、一般社会環境を通過するという意味で、微生物の安全管理上見過せない分野である。研究者としては、分与し、送る先がその病原体を充分安全に取扱い、管理出来ることも確認しておく責任があるので、分与の手続の中にこの確認を欠かさないことが大切である。

1) 分与先の安全取扱いの確認；予研では、そのレファレンス業務その他として、病原微生物を分与するに当って、これを受取る側に、その病原体の指定されているバイオセーフティレベルに対応する実験施設のあることを確認する手続を入れている。手続としては、分与願を予研所長に提出するに当って、申請者は、分与を受けた病原体を取扱う設備の性能を描写し、これを図示した文書を添付することが義務づけられている。予研所長は、前述のバイオセーフティ委員会に必要に応じて、資料を提示して、分与の可否を諮問する。

2) 包装；WHO³⁾、米国 CDC/NIH²⁾の指針で述べられている方式が国際的に定着している。この方式を用いれば、国内の郵便輸送、国際間の航空輸送(IATA 規則)にも適合し、スムーズに送ることが出来る。包装は基本的には、病原微生物を入れた耐水性の第一次容器(receptacle)を、耐水性の第二次容器に納め、その間に吸湿性物質と万一の場合には、病原体を無害化するような物質を充填する。第二次容器を更に外部容器に入れて、宛名ラベル、内容のラベル等を附けて包装は完成する。ウイルス材料の場合、冷却の必要のある場合が多いが、冷却、冷凍剤は、第二次容器と外部容器の間に入れる。外部容器には、ドライアイスや、液体窒素などの気化で生じるガスを抜き、破損を防ぐ等の配慮も必要である。

3) 発送上の手続：我国では、郵政省令としての郵便規則によって、危険物の取扱いが定められており、この中に病原体に関係した条文もある。国際輸送に関しては、万国郵便条約(Universal Postal Union)と国際航空輸送連盟(International Air Transport Association)に規定があり、前者の場合発送する方、受取る側、共に、関係国の郵政大臣の認可を受けている必要がある。研究機関として指定を受けておくと共に、受領先が、これを済ませてあることを確認する必要がある。航空貨物として発送する場合は、IATA 規則に従うと共に、受取り側に到着空港名、到着時刻と便名、輸送状番号等を電報又はファックスで連絡しておくことが必要である。外国からの病原体材料を受入れる場合は、ヒトの病原体材料は関税法に基く税関の

審査が行われる。この場合、税関は、検疫所と協力して判断するから、予め、検疫所に相談しておくことが望まれる。家畜伝染病予防法の対象となる動物材料では輸入が禁止されているものがある。動物検疫所または農林水産省畜産局衛生課に相談しておくことが必要である。

7. 関連分野の問題

(1) 動物実験における問題

1) 動物実験におけるバイオハザードの特徴

感染実験に用いるウイルスだけでなく、動物自体が自然感染している病原体もバイオハザード源になること、実験期間を通じて動物が感染源になりうること、動物実験における飼育管理や実験操作による感染の機会が多いことの3点が特徴である。

2) 感染実験

既知のウイルスを動物に接種するものであるため、基本的には試験管内実験の場合と同様に対応することができる。すなわち、封じ込めレベルに関しては試験管内実験の場合の危険度分類を原則的にあてはめることができる。ただし、この分類は人に対する危険性にもとづいているため、実験動物に対する病原性を考慮する必要がある。たとえばセンダイウイルス、マウス肝炎ウイルスは人への病原性を欠くが、マウスでは激しい伝播力を有する。そのため、実験区域に他の正常動物がいる場合には特別の配慮が必要である。

このような観点にたって『感染動物実験における安全対策(案)』が国立大学動物実験施設協議会でまとめられている(昭和62年5月)。本対策案は国内外を通じてもっとも総合的にまとめられたものであるため、ウイルス感染実験に際しては本対策案に準ずることが妥当とみなせる。

3) 動物の自然感染

一般に実験動物では微生物学的品質管理の観点から微生物汚染の少ない清浄動物の確保が試みられている。しかし、検査対象外のウイルスに自然感染していることに注意しなければならない。その代表的な例として、1970年代に起ったラットの腎症候性出血熱(HFRS)ウイルス感染がある。清浄と考えられていた実験用ラットがHFRSウイルスに自然感染していて、多くの研究者に感染を起こしたものである。

実験動物の入手にあたっては信頼しうる業者から購入することが重要である。研究者間の分与の場合にも飼育環境の状況を確認することが望ましい。

サルはほとんどの場合、野生のものが実験に用いられており、しかもサルは人の多くの病原微生物に感受性をもつことから特に注意が必要である。1967年に起きたミドリザルからのマールブルグウイルス感染はそのもっとも代表的な例である。また、Bウイルスはマカカ属のサルの多くに潜在感染を起こしており、サルでは稀に症状を引き起こすだけであるが、人では致命的感染を起こす。1989年にはカンクイザルにエボラウイルス感染が見つかり、大事件となったが、幸い、感染した人で発病した例は全くなく、かつてアフリカで流行して高い致死率を示したエボラウイルスとは異なるものと推測されている。しかし、この例は野生のサルを用いるかぎり未知のウイルス感染が存在する危険性を示している。

野生サルについてはWHOの勧告にもとづいた検疫が必要である。しかし、検疫済みであっても例えばBウイルスのように潜在しているウイルスの可能性があるものとみなして、正しい取り扱い方式にしたがって実験を行わなければならない。

(2) ウイルス学領域における組換えDNA実験

組換えDNA実験については文部省または科学技術庁の組換えDNA実験指針に従う。しかしながら、組換えDNA実験に使用する遺伝子の供与体となるウイルスそのものの取り扱い、調整段階は組換えDNA実験の範囲外になる。組換えDNA実験の結果生じるウイルスの場合でも、その中に異種遺伝子が含まれていないウイルスたとえば組換えDNA実験で作成された欠損ウイルス、再配列による変異ウイルスは組換え体ウイルスとはみなされていない。したがってこれらのウイルスの取扱いは本指針に従うものとする。

組換え体ウイルスを取り扱う場合の封じ込めレベルは組換えDNA実験指針にしたがって決定される。

(3) 臨床材料

臨床材料(血液、体液、組織等)の取扱いに際しては、全てに、細菌等のウイルス以外の病原体を含めて、感染性因子が存在する可能性があるとして、対処すべきである。すでに或種のウイルスの感染が明かな個体からの臨床材料であっても、さらに他のウイルス等の複数の病原体の重複感染を受けている可能性もあるため、以下の原則にしたがって慎重に取扱うべきである。

取扱いの原則

1) 感染ウイルスが既知の個体からの臨床材料:

当該ウイルスのバイオセーフティレベルに順じ

て取扱う。

2) 感染ウイルスが未知の個体からの臨床材料：

①：臨床診断書から感染ウイルスが予測できる場合。

予測されるウイルスのバイオセーフティレベルに順じて取扱う。

②：ウイルス感染が疑われるが、ウイルスが特定できない（予測できない）場合。

当該施設（機関）における最高位のバイオセーフティレベルの実験室にて取扱う。

(4) 野生動物関連分野の問題

1) 国内生息野生動物による人畜感染症

わが国で野生動物を自然宿主とする主要な人畜共通感染症としてウイルス性では日本脳炎、ダニ脳炎や腎症候性出血熱、クラミジア性ではオウム病、またリケッチア性では恙虫病や紅斑熱などがある。これらはいずれも人が罹患した場合、重篤になりやすい。またA型インフルエンザ、ニューカッスル病、パルボウイルス感染症、ゲタウイルス感染症、アカバネウイルス感染症や犬伝染性肝炎なども野生鳥獣から家畜や伴侶動物に感染して被害を与える場合がある。

これらの多くは多種類の動物を自然宿主にして複合感染環を形成するために、一旦自然界で流行巣が形成された場合、野生動物の管理や監視が難しく、また病原巣の排除が不可能なことからその防疫対策は極めて困難となる。

野生動物では病歴調査が不能なことから、それらにいかなる病原体が保有されているか不明である。広範な自然環境で人目に触れずに自由生活を営む野生動物では、重篤で大規模な発生がなければ殆ど疾病の存在に気付かれない。また、長く疾病の発生報告もなく、危険がないと思われる地域でも、詳細な感染調査によって様々な病原体の存在が明かとなっている。例えば、アポイウイルスは北海道における恙虫病の疫学調査に際して日高地方のアポイ山麓で捕獲された野鼠の脾臓から偶然に分離されたウイルスである。本ウイルスはフラビウイルス群に属し、マウスに脳炎を起こすがそのベクターは不明である。日高地方を中心とした血清疫学的調査では、人、家畜や野生動物で抗体陽性例が発見され、人畜共通感染症の原因ウイルスの一つと推定されている。

2) 人間社会に生息する野生動物による人畜共通感染症

文明社会の発達とともに人間の生活に依存して自

由生活を営む野生動物としてクマネズミ、ドブネズミ、ハツカネズミ、カラス、スズメ、などが出現した。また、ドバト、セキセイインコやミンクなどのように家畜化された動物が自然界に脱走しながら人の生活圏に留まったものもある。これらは人間社会と野生動物の中間に住むものとして Peridomestic animals と呼ばれ、人との接触機会が多だけに、人畜共通感染症の感染源として危険性が著しく高い。例えばドバトによるオウム病、ニューカッスル病やサルモネラ症、住家性ねずみによるサルモネラ症、レプトスピラ症、ペスト、泉熱、発疹熱、恙虫病、紅斑熱、腎症候性出血熱やリンパ球性脈絡髄膜炎（LCM）などがある。したがってこれらの動物については他の森林の野生動物より一層嚴重な取り扱いが望ましい。

3) 野生動物由来の実験材料の採取および取扱い

野生動物および野生動物材料の採取に際しては、いかなる野生動物も人に対して危険な病原体を保有するという前提のもとで対応する必要がある。また、ラッサ熱、腎症候性出血熱、Bウイルス病やA型インフルエンザでは自然宿主で無症状のままウイルスの持続感染が成立しているために、これらの流行地において感染源になりうる動物を取り扱う場合には特別な注意が必要である。

多くの場合、人はまず野生動物の捕獲から採材までの間に直接動物の保有する病原体に暴露され、罹患する機会を持つ。このために動物の保定や麻酔を確実にを行い、安全を期さなければならない。野外調査の成果は気象、地勢、参加者の数や経験などによって大きく左右され、また研究室よりもはるかに劣悪な条件下で動物の検索や採材を行うために、あらかじめ入念に準備をしても咬傷や汚染物の吸入などによる不慮の感染事故が発生しやすい。

野生動物から臓器や血液などを採取した後の死体はその場で焼却あるいは埋葬して、他の動物への伝播を確実に防止する。

野生動物には様々な吸血性節足動物が付着している。特にダニ類はアルボウイルス、リケッチアや原虫などを保有してベクターとなるものが多い。このために、野生動物の捕獲に際してダニ類の吸血を受けたり、あるいは野生動物を研究室に搬入した後に吸血宿主から離れたダニ類が人や実験動物に移行して思わぬ被害が発生する。このために野生動物は原則として研究室に持ち込むべきではない。やむを得ず生きている動物をそのまま研究室に搬入する場合は、外部寄生虫を確実に除去した後、嚴重な隔離施設に収容し、実験動

物検疫のマニュアルに従って安全性を確認した上で実験に供するようにする。また感染動物材料の輸送、保存やウイルスの分離は実験室バイオセーフティ対策指針に従って実施する。また、狂犬病、モンキーボックス、黄熱などの流行地において野生動物との接触や採材などに従事する場合は、あらかじめワクチンを接種して自らの安全を確保するのが鉄則である。

4) サル由来材料の取り扱い

動物実験の項で述べたように野生サルには種々の病原体が潜在感染している可能性がある。ウイルス研究では細胞培養用としてのサルの腎臓、血球凝集試験用としてのミドリザルの赤血球等、サル由来の材料がしばしば用いられている。これらの取り扱いにあたっては病原体による汚染の可能性を念頭において、直接接触をさけるように注意しなければならない。また、使用後は必ず滅菌・消毒したのちに廃棄するようにしなければならない。

5) 海外伝染病

発展途上国での人口爆発と森林・原野の急激な開発に伴って人と動物との接触機会が飛躍的に増大した結果、危険度の極めて高い新型の人畜共通感染症が各地で発生し始めた。これらの大部分はウイルス性であって現在のところ適切な予防法と治療法がないために、一旦国内に持ち込まれた場合、相当程度の惨禍が予想され国際伝染病とも呼ばれている。また野生動物から家畜に感染して甚大な畜産被害をもたらすものも多い。前者にはモンキーボックス、Bウイルス病、マールブルグ病、ラッサ熱、ポリビア出血熱やアルゼンチン出血熱また野生動物からベクターによって媒介されるクリミア・コンゴ出血熱やリフトバレー熱などがある。後者には野生偶蹄類の口蹄疫と牛疫、イノシシのアフリカ豚コレラなどがある。

国際事情の変化に伴って、これらの海外伝染病の流

行地での野外調査に日本からの参加が求められており、国際協力事業の一環としてこれらの調査、研究に相応の役割分担を果たす必要がある。このためには流行地での動物の捕獲、採材、検査材料の輸送や検疫など、研究材料の確保と病原体の分離までに様々な安全対策が必要となる。また、これらの流行地での疫学調査、流行監視や流行対策ならびに実験室での診断法、治療法やワクチンなどの開発を進める上に、より高度な安全研究施設や装置が必要であって、特に国内ではP4施設の円滑な使用が求められている。

わが国では家畜伝染病の病原体の輸入は原則として禁止されている。特に口蹄疫の流行地からの偶蹄類の血液や臓器材料などの輸入は著しく困難である。また、近年野生動物保護の観点から結ばれたワシントン条約によって、稀少動物やそれらの材料の輸出入が大幅に制限されている。これらのために、国外での野生動物の捕獲、採材およびそれらの輸出入に関して、家畜伝染病予防法、動物検疫法やワシントン条約についての十分な理解が必要となっている。

文 献

- 1) R. M. Pike (1976) : Laboratory-associated infections. Summary and analysis of 3,921 cases. Health. Lab. Sci., **13**, 105-114.
- 2) CDC/NIH (1984) : Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication No.84-8395, CDC, Atlanta.
- 3) WHO (1983) : Laboratory Biosafety Manual. WHO, Geneva.
- 4) 国立予防衛生研究所(1981決定, 1983, 1985改正, 1992全部改正) : 国立予防衛生研究所病原体等安全管理規定

ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針・策定の経緯

日本ウイルス学会バイオセーフティ委員会は第142回幹事会（1990年2月3日）で設置が決定された。設置の経緯，目的，組織および活動の原則，研究活動と討議の分野については日本ウイルス学会報第76号に述べられたとおりである。

1991年8月9日に第1回委員会で検討された方針が，第147回理事会（1991年10月22日）で報告された（会報第78号）。

「ウイルス研究におけるバイオセーフティ指針」第1次素案は第149回理事会（1992年2月1日）に提出されて，理事の意見が求められた（会報第78号）。理事からのコメントにもとづいて検討を重ねた結果，同指針第2次素案が第150回理事会（1992年7月25日）に提出された。本素案についての理事の意見を再度求めたのちに，指針（案）として平成5年3月発行の会報に掲載

して会員の意見を求めることとなった（会報第79号）。

会報第80号（1993年3月1日発行）に指針策定の経緯および指針（案）の全文を掲載し，1993年6月末日まで会員の意見を求めた結果，修正，反対等の意見はなく，会員の了承が得られたものと判断した。

以上の結果をふまえて第153回理事会（1993年7月17日）で本指針が正式に承認された。

なお，個々のウイルスの安全度分類については国立予防衛生研究所・病原体等安全管理規定における病原体のレベル分類に基づいて対応することを提案し，了承された。

日本ウイルス学会バイオセーフティ委員会

橋本信夫（北海道大学獣医学部・公衆衛生学教室）

野本明男（東京大学医科学研究所・ウイルス研究部）

○山内一也（日本生物科学研究所）

三田村圭二（昭和大学医学部・第2内科）

△北村 敬（国立予防衛生研究所・ウイルス第一研究部）

小松俊彦（国立予防衛生研究所・バイオセーフティ管理室）

速水正憲（京都大学ウイルス研究所・免疫不全ウイルス研究施設）

山西弘一（大阪大学微生物病研究所・麻疹部門）

日野茂男（鳥取大学医学部・ウイルス学教室）

佐藤 浩（長崎大学医学部・動物実験施設）

○委員長 △書記

国立予防衛生研究所
病原体等安全管理規程

(平成4年9月3日全部改正)

ウイルスのレベル分類に関する部分の抜すい

別表 1

病原体等のバイオセーフティレベルを分類する基準

病原体等を試験管内で通常の量取り扱い扱う場合ヒトを標準として、以下の基準により、病原体等のバイオセーフティレベルを分類する。ただし、実験動物のみ感染する病原体等については付表 2 に示す。

レベルー 1（個体及び地域社会に対する低危険度）

ヒトに疾病を起し、或は動物に獣医学的に重要な疾患を起す可能性のないもの。

レベルー 2（個体に対する中等度危険度、地域社会に対する軽微な危険度性）

ヒト或は動物に病原性を有するが、実験室職員、地域社会、家畜、環境等に対し、重大な災害とならないもの、実験室内で曝露されると重篤な感染を起す可能性はあるが、有効な治療法、予防法があり、伝播の可能性は低いもの。

レベルー 3（個体に対する高い危険度、地域社会に対する低危険度）

ヒトに感染すると重篤な疾病を起こすが、他の個体への伝播の可能性は低いものの。

レベルー 4（個体及び地域社会に対する高い危険度）

ヒト又は動物に重篤な疾病を起こし、罹患者より他の個体への伝播が、直接又は間接に起こり易いもの。

注：① 国内に常在しない疾患等の病原体等についてはより高いレベルに分類する場合がある。

② 院内感染の原因となる重要な病原体等については通常のレベルより高かった。

③ これに記載されない病原体等については個別に考慮する。

④ 臨床検体の取り扱いはレベル 2 で行うが、臨床診断から危険度の高い病原体等が疑われる時は、それと同等の扱いとする。

別表1 付表1

国立予防衛生研究所においては、別表1に定める基準により、病原体等のバイオセーフティレベルを、下記のごとく分類する。

病原体のレベル分類

1. ウイルス及びクラミジア、リケッチア

(ウイルス名は日本ウイルス学会用語委員会による英語表記を用い、表中では Virus を省略した。なお、ここに記載されていないウイルスについては個別に考慮するものとする。)

・レベル1

Live vaccine virus (Vacciniaを除く)

・レベル2

Adeno-associated (全型)	Hepatitis (A, B, C, D, E)
Batai	Herpes saimiri
Bunyamwera	Herpes simplex (1, 2)
California encephalitis	Human cytomegalo
Corona	Human herpes 6
Cowpox	Human papilloma
Coxsackie (A, B 全型)	Human parvo
Creutzfeldt-Jakob disease agent	Human rhino
Dengue (全型)	Human rota
Echo (全型)	Human T-cell leukemia-lymphoma
Eastern equine encephalitis	(HTLV 1, 2)
Entero (68-71)	Influenza (A, B, C)
Epstein-Barr (EB)	Japanese encephalitis
Gibbon ape lymphosarcoma	JC

La Crosse
 LCM¹⁾
 Measles (SSPE)
 Molluscum contagiosum
 Monkeypox
 Mumps
 Murray Valley encephalitis
 Newcastle disease
 O'Nnyong-Nnyong
 Orbi
 Parainfluenza (1-Sendai²⁾, 2-4)
 Polio (1-3)
 Rabies (fixed, attenuated)
 RS
 Rubella
 Semliki forest

Simian immunodeficiency virus (SIV)³⁾
 Simbu
 Sindbis
 St. Louis encephalitis
 Tanapox
 Vaccinia
 Varicella-zoster
 Vesicular stomatitis
 Western equine encephalomyelitis
 West Nile fever
 Yaba monkey tumor pox
Chlamydia pneumoniae¹⁾
Chlamydia psittaci¹⁾
Chlamydia trachomatis

- 1) 大量に増殖させる場合はレベル3とする。
- 2) 動物実験を行う場合はレベル3とする。
- 3) 取り扱いが安全キャビネット内で行う。

・ レベル3

Chikungunya
 Colorado tick fever
 Hantaan
 Human immunodeficiency (HIV 1,2)
 Kyasanur Forest fever
 Negishi
 Powassan

Rabies (street strain)
 Rift Valley fever
 Tick-borne encephalitis
 Venezuelan equine encephalitis
Coxiella burnetii
Rickettsia spp.

・ レベル4

Crimean Congo hemorrhagic fever
 Ebola
 Herpes B
 Junin

Lassa

Variola (major, minor)

Machpo

Yellow fever (17D vaccine strain を

Marburg

除く)

註. 媒介節足動物を用いる実験の場合は別途個別に考慮する。

別表1、付表2

実験動物の病原体等のバイオセーフティレベル分類

分類基準

ヒトに対する病原性はないが、動物間において感染を起こす病原体等のin vitroでの取り扱いについて分類した。対象実験動物の範囲は、原則として犬、猫、猿、齧歯類とした。なお、in vivo 実験の場合、1ランク上げる病原体等については、分類表中に*で示した。ここに挙げていない病原体等については個別に考慮するものとする。

レベル1

動物への感染がほとんどないもの。

レベル2

動物への感染は少なく、感染が起きても汚染は防ぎうるもの。

レベル3

動物への感染が強く、汚染が起こるもの。

1. ウイルス

・レベル1

ワクチン株など

・レベル2

Canine adeno (Infectious canine hepatitis)

Canine corona

Canine distemper

Canine parvo

Caviid herpes 1 (Guinea pig cytomegalo)

Ectromelia (Mousepox) *

Feline calici

Feline immunodeficiency

Feline infectious peritonitis

Feline leukemia
Feline panleukopenia
Feline rhinotracheitis
Herpes papio
Kilham's rat
Lactate dehydrogenase (LDV)
Lapine parvo
Lapine rota
Mouse diarrhea (Mouse rota)
Mouse hepatitis
Murine adeno
Murine polio
Murine leukemia
Pneumonia of mice
Rabbit pox
Sialodacryoadenitis (rat corona)

・ レベル 3

なし