

実験室バイオセーフティーマニュアル

(改訂版)

世界保健機構 2003年

LABORATORY BIOSAFETY MANUAL
SECOND EDITION (REVISED)
WORLD HEALTH ORGANIZATION
Geneva 2003

(抜粋)

目次

1. 一般理念	1
第1部 ガイドライン	
2. リスク評価	5
3. 基礎実験室 - バイオセーフティ基準1及び2	9
4. 封じ込め実験室 - バイオセーフティ基準3	20
5. 高度封じ込め実験室 - バイオセーフティ基準4	24
6. 実験動物用施設	27
第3部 優良な微生物取扱い	
10. 実験室における安全な取扱い	33
(プリオンを含む可能性がある材料における予防措置)	

1. 一般理念

本マニュアル全般を通して、リスクグループ（世界保健機関リスクグループ 1、2、3 および 4）ごとの感染性微生物の相対的危険に対する言及がなされている。このリスクグループの分類は、実験室作業のみに使用すべきである。実験室はそれぞれの設計の特徴、構造および封じ込め設備に従って、基礎 - バイオセーフティー基準 1、ベーシック - バイオセーフティー基準 2、封じ込め - バイオセーフティー基準 3、および高度封じ込め - バイオセーフティー基準 4 と呼ぶ。表 1 にリスクグループを記載し、表 2 はリスクグループを実験室の呼称と関連づけており、また表 3 にはこの 4 つのバイオセーフティー基準における要件がまとめてある。

表 1 リスクグループ^a による感染性微生物の分類

リスクグループ 1（無または低度の個体および集団リスク）

ヒトまたは動物疾病を引き起こす見込みのない微生物

リスクグループ 2（中程度個体リスク、低集団リスク）

ヒトあるいは動物疾病を引き起こす病原体であるが、実験室作業、集団、家畜、または環境に重篤な危害となる見込みのない病原体。実験室で被曝すると重篤な感染を引き起こす可能性があるが、有効な治療および予防手段が提供されており、感染が広がる危険性が限られている。

リスクグループ 3（高個体リスク、低集団リスク）

人および動物に重篤な疾病を通常引き起こす病原体であるが、普通は感染個体から他の個体へ感染が広がることはない。有効な治療および予防手段が提供されている。

リスクグループ 4（高個体リスクおよび高集団リスク）

人および動物に重篤な疾病を通常引き起こす病原体であって、個体から個体へ、直接あるいは間接的に容易に伝染する病原体。有効な治療および予防手段が通常提供されていない。

^a リスクグループの概念および分類は再評価されており、バイオセーフティーマニュアル第 3 版で扱われる。

表2 リスクグループとバイオセーフティー基準、作業および装置との関連

リスクグループ	バイオセーフティー基準	実験室タイプ	実験室作業	安全装置
1	ベーシックバイオセーフティー基準1	基礎授業、研究	GMT	なし、開放実験台での作業
2	ベーシックバイオセーフティー基準2	1次医療、診断研究	GMT+保護服、生物危害標示	開放実験台+エアゾール用のBSC
3	封じ込めバイオセーフティー基準3	特殊診断、研究	レベル2と同様+特殊衣服、入室規制、方向性気流	BSC および/または全活動用の他の主要装置
4	高度封じ込めバイオセーフティー基準4	危険病原菌ユニット	レベル3と同様+エアロック入口、シャワー出口、特殊廃棄物処理	クラスIIIのBSC、またはクラスIIのBSCと与圧服の併用、両面オートクレーブ(壁経由)、濾過空気

BSC：生物学的安全キャビネット

GMT：望ましい微生物学的技法

各国（各地域）は、下記要素に基づいてリスクグループごとに微生物の国家的（地域的）分類を策定すべきである。

- 微生物の病原性
- 微生物の伝播様式および宿主範囲。これらは、現地集団に存在している免疫レベル、宿主集団の密度および動態、適切なベクターの存在および環境衛生の基準に影響される可能性がある。
- 有効な予防手段の現地利用性。これらには、予防接種または抗血清投与（受動免疫）による予防、および衛生手段、たとえば食物および水の衛生管理処置、病原体保有動物または媒介節足動物の制御等が含まれる。
- 有効治療の現地利用性。これには受動免疫、被曝後の予防接種、抗菌剤、抗ウイルス剤および化学療法剤の使用が含まれ、薬剤耐性菌株の出現の可能性を考慮すべきである。

表3 バイオセーフティー基準要件の要約

	バイオセーフティー			
	1	2	3	4
実験室の隔離	不要	不要	望ましい	要
実験室除菌封鎖性換気	不要	不要	要	要
- 内向空気流	不要	不要	要	要

	バイオセーフ ティー			
	1	2	3	4
- ビル・システム経由機械式	不要	不要	要	不要
- 機械式、独立	不要	不要	要	要
- HEPA 濾過空気排気	不要	不要	望ましい	要
二重ドア入口	不要	不要	要	要
エアロック	不要	不要	不要	要
シャワー付きエアロック	不要	不要	不要	要
控えの間	不要	不要	要	不要
シャワー付き控え室	不要	不要	望ましい	不要
排水処理	不要	不要	望ましい	要
オートクレーブ				
- 現場用	要	要	要	要
- 実験室内	不要	不要	望ましい	要
- 両面型	不要	不要	望ましい	要
生物学的安全キャビネット				
- クラス I	不要	オプション	要	不要
- クラス II	不要	望ましい	要	要、防御服実験室と併用
- クラス III	不要	不要	望ましい	要、キャビネット実験室と併用

分類分けのさまざまな基準を評価するにあたっては、微生物を扱う地理学的地域における支配的な条件を考慮することが重要である。

分類リストを準備するにあたって、必要ならば、個人用保護具および 1 次封じ込め装置（たとえば、生物学的安全キャビネット）の使用の適否については、追加情報をいくつか与えることが推奨される。多剤耐性菌とわかっている場合、また大量または高濃度の病原体を扱うような場合には、バイオセーフティー作業および方法を改善することと、全体の封じ込めレベルを高めることに配慮しなければならない。分類リスト類の見本は、疾病管理抑制および予防センター（CDC）および国立衛生研究所（NIH）、米国 (1) また欧州連合（EU）(2) から入手可能である。

第1部
ガイドライン

2. リスク評価

生物学的安全性実践の主力はリスク評価である。特定の方法あるいは実験についてのリスクを評価する際の支援ツールが多数あるが、最も重要な要素はプロの判断力である。リスク評価は、使用を検討している微生物、使用しようとする装置および方法、使用する可能性のある動物モデル、ならびに利用可能な封じ込め装置および施設の特徴的性質を最もよく知る個人によって行われるべきである。実験室監督者または主任研究者は、適切かつ適宜にリスク評価を確実に行う責任があり、また機関の安全性委員会（存在する場合）および生物学的安全性スタッフ（存在する場合）と綿密に協力し合い、適切な装置および施設が考慮中の作業を支援するために利用できるかどうかを確認する責務がある。実行後も、リスクの程度に関する新データおよび他の関連新情報が科学文献から得られることを考慮に入れて、リスク評価を日常的に再検討し、必要に応じて改正すべきである。

微生物学的リスク評価を行うために最も有益なツールの 1 つは、微生物病原体（1 章参照）のリスクグループリストである。しかし、特定病原体のリスクグループ分けを単に参照するだけでは、リスク評価を行うには不十分である。適宜検討すべき要素には下記のものがある。

- 病原体の病原性および感染量
- 被曝結果の考察
- 自然感染ルート
- 実験室操作から生じる他の感染ルート（非経口、空気伝染性、経口摂取）
- 環境中の病原体の安定性
- 病原体の濃度および操作すべき濃縮物の量
- 適切な宿主（ヒトまたは動物）の存在
- 動物研究、実験室での感染報告または臨床報告から得られる情報
- 予定実験室活動（濃縮、超音波、エアゾール化、遠心分離等）
- 病原体の宿主域を広げたり、または既知の有効治療法に対する病原体の感受性を変える可能性のある生物の遺伝子操作（下記、リスク評価および遺伝子組換え微生物、を参照）
- 有効な予防法または治療的介入の現地での利用可能性。

リスク評価中に確認された情報をもとに、生物学的安全レベルを予定された作業に割り当て、適切な保護具を選択することができる。

情報が限られている被検体

上記のリスク評価方法は、適切な情報が入手可能であるときに有効に機能する。しかし、たとえば現地で採集された臨床被検体または疫学的試料については、適切なリスク評価を行うための情報が不十分な場合がある。これらの場合には、被検体操作に対して保存的手法を採ることが賢明である。

- 試料の出所にかかわらず普遍的予防策 (3) には常時従うべきであり、また障壁保護具 (手袋、ガウン、眼球保護) を適用すべきである。
- 基礎封じ込めバイオセーフティー基準 2 を、被検体を扱うための最低限の要件とすべきである。
- 被検体の輸送は国内および / または国際的規則および規制に従って行うべきである。

いくつかの情報が、これらの被検体を取り扱う危険性を決定する際の助けとなり得る。

- 患者についての医療データ
- 疫学的データ (罹患率、死亡率、推定感染ルート、他の発生調査データ)
- 被検体の地理学的出所についての情報

リスク評価および遺伝子組換え微生物

遺伝子組換え微生物 (GMMOs) を扱う研究に対して行われるリスク評価には、起こり得る潜在的危険の程度、結果の重篤性、およびその危険の発生可能性または頻度の評価が含まれなければならない。評価は適切かつ十分でなければならないが、必ずしもこと細かに記述する必要はない。たとえば、リスクが低い提案された抑制手段が明らかに適切であることが即時に明瞭である場合は簡略であってよい。低危険性で既知かつ熟知された生物に関わる作業については、ほとんど一目でその評価結果を下すことが可能であろう。しかし、不明な点がある程度あってより危険性の高い生物に関する複雑な作業については、評価は広範に行うべきであり、新たなデータの取得も必要となるかもしれない。

GMMO に関わる作業の潜在的危険性 (有害な影響) は、1 次受容体または宿主生物、環境中の潜在受容体、またはドナー微生物と関連する可能性がある。多くの場合、ドナー生物の特性よりも宿主生物の特性がリスク評価により深く関係してくる。危険性確認の際に考慮すべき要因には、病原性、外来遺伝子産物の生物学的活性または毒性、およびプラスミドまたはウイルス性ベクターの移動性が含まれる。一般的目安としては、ドナー生物が、選択可能な表現型 (たとえば、カナマイシン耐性またはβガラクトシダーゼ活性) を発現する特徴のよくわかっている DNA、またはプロモータまたは他の制御配列を供給する源としてのみ使用されるならば、ドナーの特性は考慮する必要はない。しかし挿入物が、生物学的に活性な分子、トキシンまたは病毒性因子をコードしている遺伝子を含んでいる場合は、ドナー生物由来の関連情報を考慮すべきである。

宿主／受容体に関連する危険

下記に対する考慮が必要である。

- 宿主の感受性
- 宿主菌株の、病毒性、感染性、トキシン産生および宿主域の変化を含めた病原性
- 受容体の免疫性の程度、免疫系の状態
- 被曝結果の重篤性

挿入遺伝子から直接に生じる危険

挿入遺伝子産物が下記のような既知の生物学的活性の性質を有していて、それが危害を生じさせるかもしれない状況においては評価が必要である。

- トキシン
- サイトカイン
- ホルモン
- 遺伝子発現レギュレーター
- 病毒性因子またはエンハンサー
- 抗生物質耐性
- アレルギー性

このような場合の配慮には、生物学的活性を達成するのに必要な発現レベルの推定を含めるべきである。

既存の病原性形質の変更に起因する危害

多くの場合、その産物が本来的に有害である遺伝子は修飾には関与しないが、既存の非病原性または病原性特質を変えた結果、悪影響が生じることがあり得る。正常遺伝子の修飾によって病原性が変化する可能性がある。これらの潜在的危険を特定しようとする場合、下記の点を考慮することができる（リストは完全に網羅的ではない）。

- 感染性または病原性が増加しているか。
- 外来遺伝子の挿入の結果、受容体内のいずれかの障害変異が克服できたか。
- 外来遺伝子は別の生物由来の病原性決定因子（細菌毒素、インベージン、インテグリン、ならびに膜の糖タンパク質およびリポ多糖類等の表面構造）をコードしているか。
- 外来 DNA が病原性決定因子を含んでいる場合、この外来遺伝子が GMMO の病原性に貢献し得るかを予知できるか。

- 利用可能な治療があるか。
- GMMO の抗生物質または他の形式の治療法に対する感受性が遺伝子修飾の結果、影響されることがあるか。
- GMMO を根絶することが可能か。

GMMO リスク評価に際して配慮する必要のある他の因子は、潜在的発癌遺伝子配列の存在および外来因子の存在など使用されている細胞系に関連する潜在的危険である。全動物および植物の実験への持ち込みも注意深い考慮を要する。研究者は、規則、規制および所属する機関で GMMO 研究を行う上での要求事項を熟知し、かつそれらに従わなくてはならない。

さらなる情報については、11 章ならびに参考文献 4 および 5 を参照されたい。

3. 基礎実験室 - バイオセーフティー基準 1 および 2

本マニュアルでは、リスクグループ 1~4 の微生物を対象とする指針および勧告を、すべてのバイオセーフティー基準の実験室に関する最小限の要件として示すことを目的とする。予防措置の一部はリスクグループ 1 の一部生物には不必要に見えるかもしれないが、これらは優れた（すなわち安全な）微生物学的技法を推進するための教育訓練目的に必要である。

臨床検査室および医療実験室（公衆衛生、臨床または病院）はすべて、バイオセーフティー基準 2 以上に設計しなければならない。実験室が受け取る試料を完全に制御することはできないので、実験室作業者は時折、予期せずに、予想より高リスクグループの生物にさらされることがある。この可能性は、安全計画 / 方針の作成において認識しなければならない。一部の国では、臨床実験室には認定が必要である。世界的に、共通の予防措置 (3) を常に導入し、習慣的に行うべきである。

ここで紹介する基礎実験室 - バイオセーフティー基準 1 および 2 に対する指針は、全レベルの実験室に必須であるので、網羅的であり詳細である。後述（第 4 章および 5 章）の封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 3、および高度封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 4 に対する指針は、基礎実験室に対する指針を改変し増補したものであり、より危険である（危害性の高い）病原体の作業のために設計されている。

作業規定

本規定は、優れた微生物学的技法にとって基礎的な、最も重要な実験作業および手順のリストである。多くの実験室および国立研究機関では、本規定を用いて、安全な実験操作のための作業 / 手順書を作成することができる。

各実験室は、周知の潜在的な危険要素を特定し、そのような危険要素を排除または最小限にする作業 / 手順を明記した「安全 / 操作マニュアル」を導入すべきである。優れた微生物学的技法は、実験室の安全に必須である。特殊化した実験装置によって適切な手順を補うことができるが、それに代わることはできない。最も重要な概念を以下に記載する。

立入り

1. リスクグループ 2 またはそれ以上のリスクグループの微生物を扱う部屋の扉に、国際生物危害警告シンボルおよび標示（図 1）を表示しなければならない。
2. 許可されていない人を実験区域に入れないこと。
3. 実験室のドアは閉めておくこと。

4. 16歳未満の子供は、実験区域に入ることを許可または認めないこと。
5. 動物舎への立入りは、権限を特別にすること。
6. 実験室での作業に関係しない動物は、実験室内に入れないこと。
7. 「禁煙」および「飲食禁止」の標示を、実験室の内外に明示すること。

個人保護

1. 実験室内の作業中は常に実験室用作業服、上衣、または制服を着用しなければならない。
2. 血液、感染性材料または汚染動物と直接または不測の接触を伴う可能性のあるすべての手順において、適切な手袋を着用しなければならない。使用後、手袋を無菌的に取り外し、その後手を洗うこと。
3. 作業者は、感染性材料および動物を取り扱った後、実験区域から退出する前に手を洗わなければならない。
4. 飛沫、衝撃物および人工紫外線源から目および顔を保護する必要があるときには、防護メガネ、顔面シールド（バイザー）または他の保護具を着用しなければならない。
5. 実験室外、たとえば食堂、喫茶室、事務室、図書室、職員室やトイレで実験室用防護衣を着用することを禁止する。
6. 実験室内ではつま先の開いた履物は着用しないこと。
7. 実験区域内では、飲食、化粧、およびコンタクトレンズを扱うことを禁止する。
8. 実験区域内に飲食品を保管することを禁止する。
9. 実験室用防護衣は、私服と同じロッカーまたは戸棚に保管しないこと。

手順

1. 口でピペットを使用することは厳禁である。
2. 材料を口に入れてはならない。ラベルを舐めてはならない。
3. すべての技術的手順は、エアゾールおよび飛沫の発生が最小限になるように実施すること。エアゾール発生の危険性が大きい場合は、作業を生物学的安全キャビネット（以下、安全キャビネット）内で行うこと。

4. 皮下針および注射器の使用を制限すること。これらをピペット器具の代用品や、非口径注入または実験動物から体液を吸引する以外の目的で使用しないこと。
5. 物をこぼした場合、事故、感染性材料にさらされたことが明白、またはさらされた可能性がある場合はすべて、実験室監督者に報告しなければならない。このような事故の記録書を維持すること。
6. 物をこぼした場合すべての掃除手順書を作成し、従わなければならない。

実験区域

1. 実験室を整理し、清潔で作業に関係しない物がないようにすること。
2. 作業面は、危険の可能性のある材料をこぼしたときや作業日の終わりに汚染除去すること。
3. 汚染材料、試料および培養物はすべて、廃棄/再利用のための洗浄の前に、汚染除去しなければならない。
4. 梱包および輸送は、当該国のおよび/または国際規定に従わなければならない。
5. 窓を開けることができる場合は、節足動物を防ぐ網戸をはめること。

生物安全性管理

1. 生物安全性管理計画、ならびに安全/操作マニュアルの作成および採用を確認するのは、実験室監督者(実験室の直接の責任を持っている人)の責任である。
2. 実験室監督者(実験室監督者に報告する)は、実験室の安全の教育訓練が常に行われているかどうかを確認すること。
3. 作業者は、特別危害の忠告を受けるべきであり、安全/操作マニュアルを読み、作業および手順の基準に従うことが必要とされる。実験室監督者は、全作業者がこれらを理解しているよう確認するべきである。安全/操作マニュアルを1部、実験室内に置くこと。
4. 適当な場合、節足動物およびげっ歯類防除プログラムを設けること。
5. 必要な場合にはすべての作業者に適切な健康評価、監視、および治療を与え、十分な医療記録を維持すること。
6. 実験室職員および他の危険な状態にある人から、基礎値測定用の血清試料を採取するとよい。これらは、当該国のまたは現場の指針に従って適切に保管すること。扱った生物および実験室の機能によっては、追加の血清試料を定期的に採取するとよい。

実験室の設計および設備

実験室を設計し、特定の作業の種類を割り当てるにあたって、安全上の問題をもたらすことで知られている以下の条件に特に留意すること。

- エアゾールの発生
- 大量および/または高濃度の微生物での作業
- 過密および過剰の装置
- げっ歯類および節足動物の発生
- 無許可の立入り
- ワークフロー：特定の試料および試薬の使用

設計の特徴

1. 安全な実験作業の実施 / 掃除ならびに維持のために、十分なスペースを設けなければならない。
2. 壁、天井および床は滑らかで掃除が容易であり、液体が浸透せず、実験室で通常使用される化学薬品や消毒剤に対して耐久性があること。床は滑り止めであること。露出したパイプおよびダクトは可能なら避けること。
3. 実験台の上面は、壁に密着し、水を通さず、消毒剤、酸、アルカリ、有機溶媒および中程度の熱に耐久性があること。
4. 照明は、すべての活動に十分であること。不必要な反射およびグレアは避けること。
5. 実験室備品は頑丈であること。実験台 / 戸棚 / 装置の間および下の空いたスペースは、掃除が可能にすること。
6. 実験台の上面および通路が散らからないように、即座に使用する備品を保管するための保管スペースを十分に設けなければならない。実験区域外の都合の良い場所に追加の長期保管スペースも設けること。
7. 溶媒、放射性材料、および圧縮 / 液化ガスの安全な取り扱い / 保管のための、スペースおよび設備を設けること。
8. 上着や私物を保管する設備を実験区域外に設けること。
9. 飲食および休憩用の設備を実験区域外に設けること。
10. (可能なら水の出る) 手洗い場を、各実験室に、好ましくは出口付近に設けること。

11. 扉は、のぞき窓が設置され、自動的に閉じる構造であり、適切な評価の防火扉であること。
12. 実験室と同じ建物内にオートクレーブを設けること。
13. 安全システムは、火災、電気事故、非常時のシャワーおよび洗眼設備に及ぶこと。
14. すぐに利用できる救急室または区域を設け、適切に整備すること。
15. リスクグループ 1 および 2 の微生物を扱う実験室には、換気要件は特にない。しかし、新たに設備を計画する場合、空気を再循環させずに内側への流れを提供する機械換気システムを設けることを考慮すること。機械換気を行わない場合、窓を開閉可能にし、節足動物を防ぐ網戸を設けること。
16. 良質な水を確実に供給することは重要である。実験用水と飲料水を交差接続しないこと。逆流防止装置で公共水道を保護することができる。
17. 安全な脱出を可能にする、確実に十分な電気供給および非常灯を設けること。インキュベーター、安全キャビネット、冷凍庫などの重要な装置、および動物ケージの換気用に予備発電機があることが望ましい。
18. 確実に十分なガス供給を設けること。取り付けた装置の維持管理は必須である。
19. 汚染防止要件を満たすため、廃棄物処理における 3 つの局面に特に注意が必要である。
 - 固形廃棄物処理用のオートクレーブは、特別に設計された設備および点検が必要である
 - 焼却炉は、再燃焼装置および煙除去装置を備えた特別な設計であること
 - 汚染廃水は汚染除去しなければならない
20. 実験室および動物舎は時折、破壊者の標的になる。物理的および火災上の防護を考慮しなければならない。強化扉、格子窓、鍵の発行を制限することが必須である。防護を強化するために、必要に応じて他の手段を考慮に入れ導入すること。

実験装置

安全装置は、優れた手順および作業とともに、生物安全性危害を取り扱う場合の危険性を下げるのに役立つ。このセクションでは、すべてのバイオセーフティー基準の実験室に適した装置に関連する基本原則を扱う。より高いバイオセーフティー基準に関連する実験装置の要件は、当該の章で扱う。

実験室監督者は、（指名されていれば）生物安全管理者および安全委員会と相談して、十分な装置が提供されており、それらが適切に使用されているかどうかを確認するべきである。装置は以下の特定の一般原則を考慮に入れて選択すること。

- 操作員と感染性材料の接触を阻止または抑えるよう設計されている
- 液体を浸透させず、耐腐食性であり、構造的要件を満たす材料から構成されている
- ばり、鋭利な縁部、防御物のない可動部品がないように加工されている
- 単純操作が容易に行えるように、また維持、掃除、汚染除去、検定試験が簡単に行えるように設計 / 構成 / 取り付けられている。ガラス製品および他の壊れやすい材料を可能な限り避けること

安全性に必要な特徴を装置が備えていることを確認するために、詳細な性能および構成仕様を参照する必要があることもある。

重要な生物安全性装置

1. 口でのピペット操作を避けるためのピペット補助器具。多種類のものが入手可能である。
2. 以下の場合に使用する安全キャビネット。
 - 感染性材料を扱う場合：このような材料は、密閉した遠心安全カップを使用して安全キャビネット内で装填 / 除去するなら、開放実験室で遠心してもよい。
 - 空気感染の危険性が増大した場合
 - エアゾールが発生する可能性が高い手順：これらは、遠心、粉碎、ブレンド、激しい振盪または混合、超音波破壊、感染性材料が入った、内圧が周囲圧と異なる可能性のある容器を開ける場合、動物の鼻腔内接種、感染性の動物組織 / 卵を収集する場合などがある。
3. プラスチック製使い捨て白金耳。別の方法としては、エアゾール発生を減らすために生物学的安全キャビネット（BSC）内で電気式白金耳焼却炉を使用してもよい。
4. ねじ口のチューブおよびボトル。
5. 感染性材料を汚染除去するオートクレーブ。
6. 入手可能な限り、プラスチック製使い捨てパスツールピペット（ガラスを避けるため）。
7. オートクレーブや安全キャビネットなどの装置は、使い始める前に（通常は認定された調査官が）適切な方法で妥当性検査を行わなければならない。製造者の指示に従って、調査官の再認定を定期的に行うべきである。

健康および医学的監視

雇用当局は、実験室監督者を通じて、実験室作業員の健康の監視が十分になされているかを確認する責任がある。このような監視の目的は、職業病のモニターである。このような目的を達するために以下の行為が適切である。

- 指示された場合に、能動または受動免疫の予防接種を提供する（添付書類 1 参照）
- 実験室で獲得した感染の初期検出を円滑にする
- 感受性の高い個人（妊娠中の女性など）を危険の高い実験作業から除外する
- 効果的な個人防護装置および手順を設ける

リスクグループ 1 の微生物を扱う実験室作業員の監視指針

過去の事実から、これらの微生物は、人間の病気または獣医学上重大な動物の病気をもたらすことはまずない。しかし、理想的には、すべての実験室作業員は就業前に健康診断を受け、その既往歴を記録しておくべきである。疾病や実験室での事故は敏速に報告することが望ましく、全職員が、優れた微生物学的技法を維持することの重要性を認識するべきである。

リスクグループ 2 の微生物を扱う実験室作業員の監視指針

1. 就業前または配属前の健康診断が必要である。個人の既往歴を記録するべきであり、臨床検査および基礎値測定用の血清試料の採取が推奨される。
2. 実験室管理により疾病や欠勤を記録すること。実験室作業員または担当医は、疾病による欠勤を実験室監督者にすべて報告する責任がある。
3. 妊娠可能年齢の女性に、ある種の微生物、たとえば風疹ウイルスへの職業被曝による、これから生まれる子供への危険性を認識させること。胎児を保護するための具体的な措置は、その女性が被曝した可能性がある微生物によって異なる。

教育訓練

実験室作業員を保護する安全対策は、人間による操作ミスおよび未熟な技術によって完全性を失ってしまう可能性がある。したがって、職員が実験室危害の認識およびコントロールに詳しく、安全を意識していることは、実験室での感染、問題および事故の防止に重要である。このため、勤務中での継続的な安全対策の教育訓練が重要である。効果的な安全プログラムは、実験室マネージャーが、安全な実験室作業および手順が従業員の基本教育訓練に組み込まれているかを確認することから始まる。安全対策の教育訓練は、新しい従業員を実験室に導入する際に不可欠であるべきである。従業員には、作業規定およびその実験室の指針を手ほどきするべきである。従業員が指針を読み、理解したことを確認する方法、たとえば署名書類を取り入れるべきである。

実験室監督者は、直属の職員に優れた実験技術を教育訓練する上で重要な役割を果たす。生物安全管理者は教育訓練を補助したり、教育訓練補助の作成およびその文書化を援助したりすることができる。

職員教育訓練は常に、すべての実験室作業者がよく用いる、以下の危険の高い手順を扱う際の安全な方法を包含するべきである。

- 白金耳の使用、寒天板の画線、ピペット操作、スミアの作成、培養物の開口、血液 / 血清の採取、遠心など、吸入の危険性（すなわちエアゾールの発生）
- 試料、スミア、培養物の取り扱いなど摂取の危険性
- 注射器および針の技術を使用する際の経皮的曝露
- 動物の取り扱いにおいて、噛まれたりひっかかれたりすること
- 血液および他の有害な可能性のある病理学的材料の取り扱い
- 感染性材料の汚染除去および廃棄

廃棄物の取扱い

廃棄物とは、処分するものすべてである。

実験室では、廃棄物の汚染除去とそれらの最終的な廃棄は密接に関連している。日常の使用に関しては、汚染材料を実際に実験室から取り除くまたは破壊する必要はほぼない。ほとんどのガラス製品、器具や実験衣は再利用 / 再循環させる。すべての感染性材料を実験内で汚染除去、オートクレーブまたは焼却することが最優先の原則である。

感染性の可能性がある微生物 / 動物組織を取り扱う実験室から物体 / 材料を出す際に確認すべき原則は以下のとおりである。

1. 物体 / 材料は、認められた方法によって効果的に汚染除去または消毒したか。
2. そうでなければ、それは即座に現場で焼却するか、または焼却能力のある別の施設に輸送するために認められた方法で梱包してあるか。
3. 汚染除去した物体 / 材料の廃棄は、即座の廃棄手順を実施する者、または処理した物と施設外で接触する可能性がある者に対して、生物学的またはその他のさらなる危害の可能性を伴うか。

汚染除去

すべての汚染除去手順において好ましい方法は蒸気オートクレーブである。汚染除去および廃棄する材料は、内容物をオートクレーブおよび/または焼却するかどうかを色分けした、オートクレーブ可能なポリ袋などに入れるべきである。他の方法は、微生物を除去および/または殺すもののみ考慮してもよい（詳細については、第 14 章参照）。

消毒剤および化学薬品

安全 / 操作マニュアルは、それぞれの目的にどの消毒剤を使用するか、および各消毒剤の製造者の推奨希釈率を記載した、書面による方針を含むべきである。製造者は適切な書類を提供できるはずである。各消毒剤が、実験室内でその表示された用途に対して有効になっているかどうかを確認すること。

次亜塩素酸ナトリウムおよびフェノール類化合物は、一般的な実験室用途に推奨される消毒剤である。

特別な目的には、破壊すべき薬剤が手順に対して耐性がないことが確立している限り、アルコール、ヨウ素、ヨウ素系や他の酸化剤などさまざまな表面活性剤または脂質破壊剤、あるいは非常に高いまたは低い pH が、効果的な場合がある。

他の方法

乾熱の使用は、変化の程度が予測できないので推奨しない。同様に、マイクロ波放射、紫外線放射または電離放射も不適切である。

アルカリ加水分解を含む新しい技術は、感染性廃棄物の最終処理における焼却の代わりとして使用することができる。

廃棄物の取り扱いおよび廃棄方法

感染性材料およびその容器を同定 / 分離する方法を導入するべきである。区分は、以下の分類を含むべきである。

1. 一般的な「家庭」廃棄物として再利用 / 再循環または廃棄できる、非汚染（非感染性）廃棄物。
2. 皮下針、メス、ナイフや破損ガラスなど、汚染（感染性）「鋭利物」。これらは常に、穴の開かない蓋付きの容器に入れ、感染性のものとして扱うこと。
3. オートクレーブによって汚染除去し、洗浄して再利用 / 再循環する汚染材料。

4. オートクレーブして廃棄する汚染材料。

5. 直接焼却する汚染材料。

鋭利物

使用後、皮下針は、キャップをしたり、切ったり、使い捨て注射器から外したりするべきでない。部品を完全な形で鋭利物容器に入れるべきである。鋭利物容器は穴の開かない容器とし、その容量一杯まで入れてはならない。4分の3になったら、「感染性廃棄物」容器に入れ、実験室の習慣によって必要ならばオートクレーブして焼却する。鋭利物容器は、埋立て廃棄してはならない。

使い捨て注射器は、それ自体でまたは針とともに容器に入れて、必要ならばオートクレーブして焼却すること。

オートクレーブして再利用する汚染（感染性）材料

オートクレーブして再利用する汚染（感染性）材料は、前洗浄しないこと。必要な洗浄および修理は、オートクレーブまたは消毒後に行わなければならない。

廃棄する汚染（感染性）材料

上述の鋭利物とは別に、すべての汚染（感染性の可能性のある）材料は、廃棄する前に、オートクレーブ可能な、色分けしたポリ袋などの漏れない容器に入れてオートクレーブすべきである。オートクレーブ後、焼却炉に輸送するために材料を輸送用容器に入れることができる。可能ならば、医療活動由来の材料は汚染除去後も埋立て廃棄すべきでない。実験室敷地内に焼却炉があれば、オートクレーブを省略してもよい。汚染廃棄物は、指定の容器（色分けした袋など）に入れ、オートクレーブまたは焼却炉に直接輸送すべきである。再利用可能な輸送用容器は漏れない密閉の蓋を有するべきである。容器は、実験室に戻して再利用する前に消毒して洗浄すべきである。

毎日生成する適切な消毒剤を入れた処分用のポット、パン、ジャー（好ましくはプラスチックなどの割れないもの）を各作業ステーションに配置するべきである。廃棄する材料は、使用する消毒剤に応じて（第14章参照）適切な時間、消毒剤にぴったり接触するように（空気胞に保護されることがないように）つけるべきである。消毒剤はその後、容器に移してオートクレーブまたは焼却すべきである。処分用のポットなどは、再利用の前にオートクレーブして洗浄すべきである。

一般的に好まれる実験動物の死体など汚染廃棄物の最終処分方法は、焼却である（第14章の焼却の項参照）。汚染廃棄物の焼却は公共の衛生および大気汚染当局ならびに実験室生物安全管理者の許可を得なければならない。

化学的、火災、電気的および放射線の安全

化学事故、火災、電気的事故または放射線事故の間接的な結果として、病原性生物の封じ込めが損なわれる可能性がある。したがって、どのような微生物学的実験室でも、このような分野において高水準の安全性を維持することが重要である。これらのそれぞれに対する制定法の規定 / 規制は通常、国家または現場の適格な当局によって設けられており、必要ならばその援助を求めることができる。化学的、火災および電気的危険は、本マニュアルの第 IV 部（第 15 ~ 17 章）でより詳細に述べる。

4. 封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 3

封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 3 は、リスクグループ 3 の微生物の研究、および、エアゾールの拡大の危険性が増す大量または高濃度のリスクグループ 2 の微生物を扱う研究用に設計され定められる。生物安全性レベル 3 の封じ込めは、基礎実験室 - バイオセーフティー基準 1 および 2 の操作性および安全プログラム（第 3 章に規定）の増強を必要とする。

本章で述べる指針は、基礎実験室 - バイオセーフティー基準 1 および 2 の指針の増補として紹介するので、それらは封じ込め実験室 - 生物安全性箇所レベル 3 に特有の指針より前に適用しなければならない。主な増補および改変は以下のとおりである。

- 作業規定
- 実験室の設計および設備
- 健康および医学的監視

本区分の実験室は、国の、または他の適切な保健当局に登録またはリストされているべきである。

作業規定

基礎実験室 - バイオセーフティー基準 1 および 2 の作業規定が適用されるが、以下のように改変される。

1. 実験室では 1 人で作業してはならない、2 人作業の原則を適用すること。
2. 実験室の扉に表示する国際生物危害警告シンボルおよび標示（図 1 参照）に、取り扱っている微生物名および立入りを管理する実験室監督者の名前を明記し、免疫などの当該区域に入るための特別な条件を示さなければならない。
3. 実験室用防護衣は、前衣に切れ目のない、または巻く形式の上衣、手術着、つなぎ服、ヘッド・カバー、および必要に応じて、靴カバーまたは専用靴でなければならない。前ボタンの標準実験上衣は不適切である。実験室用防護衣は実験室外で着用してはならず、洗濯前に汚染除去しなければならない。
4. 必要に応じて、感染動物を封じ込める室内では呼吸装置を着用しなければならない。

実験室の設計および設備

封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 3 は、リスクグループ 3 の微生物の研究、およびエアゾールの拡大の危険性が増し、感染によって人命を脅かす結果をもたらす、大量または高濃度のリスクグループ 2 の微生物を扱う研究用に設計される。

基礎実験室 - バイオセーフティー基準 1 および 2 の実験室設計および設備が適用されるが、以下のように改変される。

1. 実験室を、建物内の制限されていない開放通行区域から区別すること。実験室を廊下の端に配置する、仕切りや扉を建てる、あるいは控え室または基礎実験室 - バイオセーフティー基準 2 を通って立ち入るようにすることによって、さらなる区画を行うことができる。
2. 作業者は、前室を通して入室しなければならない(すなわち二重扉での入室)。
3. 実験区域への立入りは、節足動物や他の害虫の侵入を防ぐように設計しなければならない。
4. 出入り口の扉は、自動で閉まる構造であり、インターロック可能でなければならない。緊急脱出用に突破窓を設けるとよい。
5. 壁、床および天井の表面は耐水性で掃除が容易であること。これらの表面の隙間(たとえば、給水管)は、部屋の汚染除去を容易にするために密閉すること。
6. 実験室は、汚染除去のために密閉できるようにすること。吸気口システムは、気体が汚染除去できるような構造にしなければならない。
7. 窓は閉め、密閉し、強化ガラスであること。
8. 足または肘で操作できる、あるいは自動給水の手洗い場を各出口近辺に設けること。
9. 出入り口スペースから実験室内の方向への空気流を確立する換気システムを設けなければならない。職員は、実験室内への適格な方向の空気流が維持されているかどうかを確認しなければならない。
10. 建物の換気システムは、封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 3 からの空気が、建物内の他区域に再循環しないような構造にしなければならない。空気を HEPA フィルターに通し、空気調和し、その実験室内に再循環させることができる。実験室からの排気(安全キャビネットからの排気以外)は、人がいる建物および空気吸入口から離れたところに分散するように、建物外に排出しなければならない。この空気を高効率集塵(HEPA)フィルターを通して排出することが推奨される。
11. 安全キャビネットは、歩行区域、ならびに扉および換気システムによる横流から離して配置すること(第 7 章参照)。
12. クラス I またはクラス II 安全キャビネット(第 7 章参照)からの排気は、HEPA フィルターを通し、キャビネットまたは建物の排気システムの空気バランスを妨げないように行わなければならない。すべての HEPA フィルターは、気体の汚染除去および検査が可能ないように設置しなければならない。

13. 汚染排気材料を汚染除去するオートクレーブを、封じ込め実験室内に設けること。感染性廃棄物を廃棄するために封じ込め実験室から持ち出さなければならない場合は、必要に応じて当該国のまたは国際規制に従って、密閉の、壊れない、漏れない容器で輸送しなければならない。
14. 給水には、逆流防止装置を設けなければならない。
15. 廃水は、衛生下水に放出する前に汚染除去すること。

実験装置

安全キャビネットを含む、装置の選択における原則（第7章参照）は基礎実験室 - バイオセーフティー基準2のものと同じであるが、感染性材料を伴う活動は可能な限り、他の物理的封じ込め装置または特別な個人防護装置と併用して安全キャビネット内で行う。クラスIまたはクラスIIの安全キャビネットは通常封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準3で使用されるが、リスクグループ3の微生物を伴う危険性の高い手順には、当該国の規制に従って、クラスIIIの安全キャビネットが必要となるかもしれない。

健康および医学的監視

基礎実験室 - バイオセーフティー基準1および2の健康および医療監視プログラムは、封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準3にも適用するが、以下のように改変される。

1. バイオセーフティー基準3の封じ込め実験室で作業するすべての実験室作業者の健康診断は不可欠である。これには、詳細な既往歴および健康診断を含むこと。
2. 基礎値測定用の血清試料を採取し、今後の参考用に保存すること。
3. 免疫障害を持つ個人は、バイオセーフティー基準3の封じ込め実験室で雇用しないこと。
4. 妊娠中の女性の雇用には、特別の考慮を設けること（第3章の、リスクグループ2の微生物を取り扱う実験室作業者の監視の指針についてのセクションを参照）。
5. 臨床診断の結果が条件を満たしていれば、被検者に、本人が封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準3の施設に雇用されていることを明示する医療連絡カード（図2）を提供すること。このカードには所有者の写真を入れ、財布に入る大きさにし、所有者は常にこれを携帯すること。

注：記載する連絡先は各実験室で決める必要があるが、実験室監督者、医者および/または生物安全管理者を含むとよい。

A. カード表面

疾病監視通知	所有者の写真
氏名	
従業員各位	
本カードを保有しておくこと。不明な発熱性の疾病の場合、医師に本カードを提示し、上から順に、以下にリストされるうちの1人に連絡すること。	
	職場電話番号
医師	自宅電話番号
	職場電話番号
医師	自宅電話番号

B. カード裏面

医師各位
本カードの所有者は、病原性ウイルス、リケッチア、細菌、原生動物、蠕虫が存在する_____の分野で勤務している。不明な発熱性の疾病の場合、この従業員が被曝した可能性のある病原体の情報について、雇用者に連絡してください。
実験室名 _____
住所 _____

電話番号 _____

図 2. 医療連絡カードの書式例

5. 高度封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 4

高度封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 4 は、リスクグループ 4 の微生物の研究用に設計されている。このような実験室を建設して運営する前に、同様の施設を運営した経験のある機関と徹底的に相談するべきである。運営可能な高度封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 4 は、国のまたは他の適切な衛生当局の管理下にあるべきである。

実験室の設計および施設

封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 3 の特徴は、高度封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 4 にも適用され、以下が増補される。

1. 一次封じ込め。以下のうちの 1 つまたはその組合せを備える、効果的な一次封じ込めシステムを整備しなければならない。
 - クラス III キャビネット実験室。クラス III 安全キャビネットを備えた部屋（キャビネット室）に入る前に、少なくとも 2 つの扉の通過を必要とする。このような実験室構造では、クラス III 安全キャビネットが一次封じ込めを提供する。内外の着替え室を備えた作業員用のシャワーが必要である。着替え室を通さずにキャビネット室に持ち込む備品および材料は、二重扉のオートクレーブまたは燻蒸室を通して持ち込まなければならない。外扉を完全に閉めた後、実験室内の職員は内扉を開けて材料を回収することができる。オートクレーブまたは燻蒸室の扉は、オートクレーブの滅菌過程または燻蒸室の汚染除去が完了していないと外扉が開かないようにインターロックされている（第 7 章参照）。
 - 防護服実験室。自給式の呼吸装置を備えた防護服方式の実験室は、設計および施設要件の点で、クラス III 安全キャビネットを備えたバイオセーフティー基準 4 の実験室と著しく異なる。防護服実験室内に、感染性材料を操作する区域に入る前に作業員が着替え / 汚染除去室を通らなければならないように部屋を配置する。このような実験室構造では、防護服区域自体が一次封じ込めを構成しているとみなされる。防護服区域は、クラス III 安全キャビネットによって与えられるものと同等の保護を作業員に与えるように設計および維持される。封じ込め実験区域から退出する作業員のために、防護服汚染除去用シャワーを設けなければならない。別に、内外の着替え室を備えた作業員用シャワーも設けられる。防護服区域に入る作業員は、上下続きの、陽圧式で、HEPA フィルターを備えた空気式の防護服を着用する必要がある。防護服への空気は、緊急の場合に使用する、100%の余剰能力を有し独立した空気の供給源を備えるシステムによって供給しなければならない。防護服実験室への入室は、気密扉のエアロックを通じて行う。機械システムの故障や空気圧低下の場合に使用する、防護服実験室内で作業する作業員への適切な警告システムを設けなければならない（第 7 章参照）。

2. 立入りの管理。高度封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 4 は、別館または安全な建物内の明らかに区別された区域に配置しなければならない。作業者および備品の出入りは、エアロックまたは通過システムを通して行わなければならない。入室の際には、作業者は衣服を完全に着替えなければならない。退出の前に、作業者は私服を着る前にシャワーを浴びるべきである。
3. 空気システムの管理。施設内では陰圧を保たなければならない。供給および排出する空気の両方を HEPA フィルターに通さなければならない。クラス III キャビネット実験室と防護服実験室は、換気システムの点で著しく異なる。
 - クラス III キャビネット実験室。クラス III 安全キャビネットに供給する空気は、室内から、キャビネットに備えた HEPA フィルターを通して導入するか、または空気供給システムから直接導入することができる。クラス III 安全キャビネットの排気は、屋外に放出する前に 2 枚の HEPA フィルターに通さなければならない。キャビネットは常に、周囲の実験室より陰圧で動作していなければならない。キャビネット実験室には、専用の非再循環換気システムが必要である。
 - 防護服実験室。室内の空気を供給および排気する専用のシステムが必要である。換気システムの供給 / 排気構成要素は、防護服区域内の、最少有害区域から潜在的な最高有害区域の方向に空気が流れるようにバランスがとられている。施設が常に確実に陰圧状態に保たれるようにするために、余剰の排気ファンが必要である。防護服実験室内、および防護服実験室と隣接区域間の圧力差をモニターしなければならない。換気システムの供給 / 排気構成要素内の空気流をモニターし、防護服実験室内の昇圧を防ぐために適切な管理システムを使用しなければならない。HEPA フィルターを通した空気の供給を、防護服区域、汚染除去シャワー室および汚染除去エアロック / 室に供給しなければならない。防護服実験室からの排気は、屋外に放出する前に連続した 2 枚の HEPA フィルターに通さなければならない。あるいは、2 枚の HEPA フィルターを通した後、防護服実験室内にのみ排気を再循環することができる。いかなる場合にも、バイオセーフティー基準 4 の防護服実験室からの排気を他の区域に再循環してはならない。防護服実験室内での空気の再循環を選択した場合は、細心の注意を払わなければならない。防護服実験室内で実施する研究の種類、使用する装置、化学薬品、他の材料、および研究に関わる可能性のある動物種を考慮しなければならない。

すべての HEPA フィルターを年一回検査し、認定を受けなければならない。HEPA フィルター枠は、フィルターを取り外す前に原位置で汚染除去が行えるように設計されている。あるいは、フィルターを取り外して密封したガス密閉構造の一次容器に入れ、その後、汚染除去および / または焼却による破壊を行うことができる。

4. 廃水の汚染除去。防護服区域、汚染除去室、汚染除去シャワー、またはクラス III 安全キャビネットからのすべての廃水は、最終的な放出の前に汚染除去しなければならない。熱処理

(オートクレーブ)は、好ましい方法である。放出の前に廃水の pH を中性にする必要がある場合もある。作業用シャワーおよびトイレからの水は、処理なしに衛生下水に直接放出してもよい。

5. 廃棄物および材料の滅菌。二重扉の通過式オートクレーブを実験区域内に用意しなければならない。蒸気滅菌に耐えられない装置および品目用に、他の汚染除去方法を用意しなければならない。
6. 試料、材料および動物用のエアロック受渡口を設けなければならない。

実験室バイオセーフティーマニュアル

バイオセーフティ基準 4 の実験室での作業は非常に複雑なので、別の詳細な作業マニュアルを作成し、教育訓練の演習で試験すべきである。さらに、非常時用のプログラムを作成しなければならない(第 13 章参照)。このプログラムを作成する際に、国のおよび現場の保健当局との積極的な協力を確立すべきである。他の緊急機関、たとえば消防、警察や受入病院も含むべきである。

6. 実験動物用施設

実験および診断目的で動物を用いる者は、不必要な痛みまたは苦痛を発生させないように、できる限りの対処をする道徳的責任がある。動物には、快適で衛生的なすみか、十分に健康的な飼料および水を与えなければならない。実験終了後は、思いやりのある処理を行わなければならない。

保安上の理由から、動物舎は独立した、離れた設備とすべきである。実験室に隣接するならば、必要が生じた場合に実験室の公共部分から隔離して汚染除去および害虫駆除できるように、設計するべきである。

表 4. 動物用施設封じ込めレベル：作業および安全装置の概要

リスクグループ	封じ込めレベル	実験室の作業および安全装置
1	ABSL-1	立入りの制限、防護衣および手袋
2	ABSL-2	ABSL-1 作業に加えて危害警告標示。エアゾールを発生する活動にはクラス I または II BSC。廃棄物およびケージの洗浄前に汚染除去。
3	ABSL-3	ABSL-2 作業に加えて立入りの管理。すべての活動に対して BSC および特別の防護衣。
4	ABSL-4	ABSL-3 に加えて厳密な管理。入室前に衣服の着替え。クラス III BSC または陽圧防護服。退室時にシャワー。すべての廃棄物に対して、施設から取り除く前に汚染除去。

ABSL、動物バイオセーフティー基準；BSC、生物学的安全キャビネット

動物用施設は実験室と同様、主に調査中の微生物のリスクグループに従って、バイオセーフティー基準 1、2、3 または 4 に指定することができる。他の要因も考慮に入れるべきである。他の要因には、病原体に関しては、伝染の通常経路、使用する体積および濃度、接種の経路、排出の有無およびその場合の排出経路が含まれる。動物に関しては、動物の性質、すなわち攻撃性や噛んだりひっかいたりする性向、自然の外部 / 内部寄生虫、かかりやすい人畜共通の病気、アレルギーの播種の可能性が含まれる。

実験室と同様に、設計特徴の要件、装置および予防措置はバイオセーフティー基準に準じて厳重さが増す。これらは以下に記述し、表 4 に要約した。これらの指針は追加式であり、高いレベルの規範はそれぞれ低いレベルのそれを組み込む。

動物用施設 - バイオセーフティー基準 1

本項は、検疫したほとんどの家畜動物（人間以外の霊長類を除く；この点については国の当局に相談すること）およびリスクグループ 1 の病原体を故意に接種した動物の維持に適している。優れた微生物学的技法が必要とされる。動物用施設の管理者は、すべての操作および動物飼育舎への立入りの方針、手順およびプロトコルを確立しなければならない。職員用の適切な医療監視プログラムを設けなければならない。安全 / 操作マニュアルを作成し、導入しなければならない。

動物用施設 - バイオセーフティー基準 2

本項は、リスクグループ 2 の微生物を故意に接種した動物での作業に適している。以下の安全措置が適用される。

1. 動物用施設 - バイオセーフティー基準 1 のすべての要件を満たさなければならない。
2. 生物危害警告標示（図 1 参照）を扉および他の適切な場所に標示し、使用している感染性病原体を明示すること。
3. 施設は、掃除および維持管理が容易に行えるように設計しなければならない。
4. 扉は内側に開き、自動的に閉まる構造でなければならない。
5. 暖房、換気および照明は十分でなければならない。
6. 機械換気を行う場合、空気流は内側に向かっていなければならない。排気は屋外に排出し、建物のどの部分にも再循環しないこと。
7. 許可された者以外の立入りを制限しなければならない。
8. 実験用途以外の動物を入れないこと。
9. 節足動物およびげっ歯類防除プログラムを設けること。
10. 窓がある場合は、頑丈で耐破損性であり、開閉可能ならば節足動物を防ぐ網戸をはめなければならない。
11. 作業面の使用後は、効果的な消毒剤（第 14 章参照）で汚染除去しなければならない。
12. エアゾールの発生を伴う可能性のある作業には、専用の空気供給装置を備え、HEPA フィルターを通して排気する安全キャビネット（クラス I または II）または隔離飼育ケージを設けなければならない。
13. 現場または近くにオートクレーブを用意しなければならない。
14. 動物用床敷きの材料は、エアゾールおよび粉塵の発生を最小限に抑えるような方法で取り除かなければならない。
15. すべての廃材および床敷きは、廃棄する前に汚染除去しなければならない。
16. 鋭利な機器の使用は、可能な限り禁止すること。鋭利物は必ず、穴の開かない蓋付きの容器に回収し、感染性のものとして扱うこと。

17. オートクレーブまたは焼却する材料は、閉めた容器で安全に輸送しなければならない。
18. 動物ケージは、使用后汚染除去しなければならない。
19. 動物の死体は、焼却しなければならない。
20. 施設内では防護衣および装置を着用し、退出の際に脱がなければならない。適切な手袋を用意し、着用すること。
21. 手洗い設備を設けなければならない。職員は、動物用施設を退出する前に手を洗わなければならない。
22. すべての外傷は、どんなに軽微なものでも報告し記録しなければならない。
23. 施設内では飲食および化粧を禁じなければならない。
24. すべての作業者は、適切な教育訓練を受けなければならない。

動物用施設 - バイオセーフティー基準 3

本項は、リスクグループ 3 の微生物を故意に接種した動物での作業に適している。すべてのシステム、作業および手順は、年一回再検討し、再び認定を受ける必要がある。

1. 動物用施設 - バイオセーフティー基準 1 および 2 のすべての要件を満たさなければならない。
2. 立入りを厳密に管理しなければならない。
3. 扉を 2 つ備える部屋によって控え室を形成し、施設を他の実験室および動物舎から区画しなければならない。
4. 控え室に手洗い設備およびシャワーを設けなければならない。
5. 全室に確実に連続した空気を流すため、機械換気を行わなければならない。排気は再循環させず、大気に放出する前に HEPA フィルターを通さなければならない。換気システムは、不測の逆流が生じず、動物舎のどの部分も昇圧しないように設計しなければならない。
6. 動物舎内の生物危害が収容されている場所に好都合の位置に、オートクレーブを用意しなければならない。感染性廃棄物は、施設の他の区域に移動される前にオートクレーブすること。
7. 現場で焼却炉がすぐに利用できるようにするか、関連する当局と代替の処置を整えておくこと。

8. リスクグループ 3 の微生物に感染させた動物は、隔離飼育器内のケージ、またはケージ後部に換気の排気装置を配置した部屋で飼育しなければならない。
9. 床敷きは、可能な限り粉塵がないようにすること。
10. 施設内では、実験室用防護衣を着用しなければならない。この防護衣は実験室外で着用してはならず、洗濯前に汚染除去しなければならない。
11. 窓は閉めて密閉し、耐破損性でなければならない。
12. 必要に応じて、職員に予防接種を行うこと。

動物用施設 - バイオセーフティー基準 4

動物用施設での作業は通常、高度封じ込め実験室 - バイオセーフティー基準 4 での作業に関連しており、その両方に適用されるように国のおよび現場の規則 / 規定を調和させなければならない。作業を防護服実験室内で行う場合、以下に記載する以外の、追加の作業および手順を用いなければならない（第 5 章参照）。

1. 動物用施設 - バイオセーフティー基準 1、2 および 3 のすべての要件を満たさなければならない。
2. 立入りを厳密に管理しなければならない。組織の管理者に指名された職員のみが、入室する権限を有する。
3. 一人で作業してはならない。二人作業の原則を適用しなければならない。
4. 作業者は、微生物学研究者として可能な最高レベルの教育訓練を受けており、その作業に関わる危害および必要な予防措置に精通していなければならない。
5. リスクグループ 4 の病原体に感染させた動物の飼育区域は、高度封じ込め - バイオセーフティー基準 4 の実験室用に記載し適用した、封じ込めの基準を維持しなければならない。
6. 施設にはエアロック控え室を通過して入室し、着替えおよびシャワー施設によって、控え室の清浄な側と制限された側を区画しなければならない。
7. 施設は、確実に陰圧（内側に向かう空気流）になるように設計した、HEPA フィルターを通した排気システムによって換気しなければならない。
8. 換気システムは、逆流および昇圧を防ぐように設計しなければならない。
9. 材料の受渡し用の両面オートクレーブを、清浄な側が封じ込め室の外になるように設けなければならない。

10. 職員は、入室の際に私服を脱ぎ、特別な防護衣を着用しなければならない。作業後、防護衣を脱いでオートクレープし、退出前にシャワーを浴びなければならない。
11. 材料の受渡し用に、エアロック受渡口を設けなければならない。
12. リスクグループ 4 の病原体に感染させた動物でのすべての操作は、高度封じ込め - バイオセーフティー基準 4 の条件下で行わなければならない。
13. すべての動物を、隔離飼育器で飼育しなければならない。
14. すべての床敷きおよび廃棄物は、施設から取り除く前にオートクレープしなければならない。
15. 職員の医療を管理し、必要に応じて予防接種を行わなければならない。

無脊椎動物

実験室で実験目的に用いられる無脊椎動物は、通常は病原体の保有体またはベクター、あるいは生態学的調査および環境調査の場合と同じく、食物とともに偶然摂取した病原体に感染した個体である。このような無脊椎動物には、環形動物、袋形動物、節足動物、棘皮動物、軟体動物、扁形動物、原生動物の各門の動物が含まれる。

脊椎動物と同様、動物用施設のバイオセーフティー基準は、調査中のまたは自然界に存在する病原体のリスクグループによって決定されるが、一部の節足動物、特に飛翔昆虫には以下の追加の予防措置が必要となる。

1. 感染および非感染の無脊椎動物には、別々の部屋を用意すること。
2. 部屋は、燻蒸消毒するために密閉できること。
3. 殺虫剤スプレーを、すぐに利用できるように設けること。
4. 必要に応じて無脊椎動物の活動を低下させるために、「冷却」設備を設けること。
5. 虫取り器および扉に節足動物の侵入を防ぐ網戸を備えた控え室を通して立ち入るようにすること。
6. 換気装置のすべての排気ダクトおよび開閉可能な窓は、節足動物を防ぐ網戸をはめること。
7. 流しおよび水路の廃棄物受けは乾燥させないこと。
8. 消毒剤によっては一部の無脊椎動物を殺すことができないので、すべての廃棄物はオートクレープによって汚染除去すること。

9. 飛ぶ / 這う / 跳ぶ節足動物の幼虫および成虫の数の管理をすること。
10. マダニおよびダニの容器は、油を入れた受け皿に立てること。
11. 感染または潜在的に感染した飛翔昆虫は、二重ネットのケージに入れなければならない。
12. 感染または潜在的に感染した節足動物は、生物学的安全キャビネットまたは隔離飼育器内で取り扱わなければならない。
13. 感染または潜在的に感染した節足動物は、冷却トレイ上で操作してもよい。

さらなる情報は、参考文献 1、6~9 を参照すること。

第3部 優良な微生物取扱い

10 実験室における安全な取扱い（一部抜粋）

プリオンを含む可能性がある材料における予防措置

プリオン（または「遅発性ウイルス」と呼ばれる）は、一部の伝播性海綿状脳症（TSE 類）、特に、ヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病（CJD、新規の変異型も含む）、ゲルストマン・シュトロイスラー・シャインカー症候群、致死性家族性不眠症およびクールー、ヒツジおよびヤギのスクレイピー、ウシの牛海綿状脳症（BSE）ならびにシカ、オオシカおよびミンクの他の伝播性脳症を起こす。CJD はヒトに伝染したが、これらの病原体による実験室での感染が確認された事例はない。それでもやはり、感染または潜在的に感染したヒトまたは動物由来の材料を取り扱う際には、常に特定の予防措置をとることが賢明である。

TSE 類に関連する材料を扱う研究におけるバイオセーフティー基準の選択は研究する試料によって決まり、国の当局と相談して決めるべきである。プリオンは、中枢神経系組織内での濃度が最も高い。動物研究は、脾臓、胸腺、リンパ節および肺内でも高濃度のプリオンが見つかる可能性を示唆している。

プリオンに被曝した後の確実な汚染除去方法はないので、可能な限り使い捨て器具を使用し、また安全キャビネットの作業面に防護カバーを用いて使用後は廃棄することを強調することが重要である。

主な予防措置は、汚染材料の摂取および実験室作業員の皮膚の刺し傷を避けることである。これらの病原体は実験室での通常の消毒および滅菌によって殺すことができないので、以下の追加の予防措置をとるべきである。

1. 専用の装置、すなわち他の実験室と共用しない装置の使用が強く勧められる。
2. 使い捨ての実験室用防護衣（上衣および前掛け）および手袋（病理学研究者はゴム手袋の間に鋼鉄製の網手袋）を着用しなければならない。
3. 処理して乾燥廃棄物として廃棄できる、使い捨てのプラスチック器具の使用が強く勧められる。
4. 汚染除去上の問題のため、組織プロセッサは使用しないこと。代わりに、ジャーおよびピーカーを使用すること。
5. すべての操作は安全キャビネット内で行わなければならない。

6. エアゾールの発生、不測の摂取、皮膚の切り傷および刺し傷を避けるために細心の注意を払うこと。
7. ホルマリン固定した組織は、ホルマリンに長時間つけたとしても、感染性をまだ有している
と見なすこと。
8. 使い捨ての手袋、上衣、前掛けを含む実験台の廃棄物は、オートクレーブして焼却すること。
9. 鋼鉄製の網手袋などの使い捨てでない器具は、回収して汚染除去すること。
10. プリオンで汚染した感染性廃液は、2mol/l の水酸化ナトリウム溶液（最終濃度）で 1 時間
処理してからオートクレーブすること。
11. パラホルムアルデヒド燻蒸方法ではプリオンの力価は減少せず、またプリオンは紫外線照射
に耐性である。しかし、存在する可能性のある他の病原体病原体を不活性化するために、
キャビネットを標準の方法（すなわちホルムアルデヒド・ガス）によって汚染除去しなけれ
ばならない。
12. プリオンで汚染した安全キャビネットおよび他の表面は、2mol/l の水酸化ナトリウム溶液
を 1 時間繰り返し塗り、その後水で洗うことで汚染除去することができる。高効率集塵
（HEPA）フィルターは、定期的にオートクレーブして焼却すること。
13. 器具は、2mol/l の水酸化ナトリウム溶液に 1 時間つけ、よく水洗してからオートクレーブ
すること。
14. オートクレーブできない器具は、2mol/l の水酸化ナトリウム溶液を 1 時間繰り返し塗るこ
とで清浄にすることができる。残留水酸化ナトリウムを取り除くために、適切に洗浄するこ
とが必要である。

非従来型病原体の取り扱いに関するさらなる情報は、参考文献 12、22 および 23 を参照すること。

は参考文献 49～51 を参照されたい。