

とっとりバイオフロンティア ウイルスベクター安全取扱いマニュアル

令和3年4月2日版

公益財団法人 鳥取県産業振興機構
バイオフロンティア推進室

(令和3年4月2日初版)

1. ウイルスベクターの取扱い

(1) 基本的な注意事項

【実験前】

- ・ 開放機器を使用する場合は、機器予約を行う（オートクレーブも予約が必要）。**不活化まで全て実験者自身が行うこと。**
- ・ 実験開始時、手指消毒（手洗い＋アルコール消毒）を行う。**実験衣を着用する**（袖口を閉じ、前ボタンをかける）。作業内容によりマスク・手袋を着用する。
- ・ 履き物はつま先の開いていないものを使用する。

【実験中】

- ・ 実験中は、窓やドアを閉める。
- ・ 飛沫（エアロゾル）が生じ得る操作は安全キャビネット内で行い、開放状態の試料を安全キャビネットの外に出さない。
- ・ 開放機器を使用する場合は、**指定の安全キャビネット（0577-00、0578-00）**を使用する。クリーンベンチ（0411-00、0412-00、0413-00）やその他の安全キャビネットは使用してはならない。
- ・ **アスピレーターは使用してはならない。**
- ・ 実験中、不活化処理の必要な感染性廃棄物（ウイルスベクター実験等で使用したピペット・ディッシュ等）は**安全キャビネットの外に出さない。バイオハザード表示のある色付き廃棄袋等、他者に危険性のわかる容器等**に入れ、**安全キャビネット内で分別する。**
- ・ 遠心分離する際は、スクリーキャップのついた遠心管を用いるか、ふたつきバスケットを使用する。使用後のバスケットは消毒する。

【実験後】

- ・ 作業後、実験台や再使用予定の実験器具は、薬剤消毒（消毒剤を十分量浸したペーパータオル等を用いて清拭）する。
- ・ 不活化処理の必要な感染性廃棄物は「(3) 不活化等の処置」に示す処置を行い、廃棄する。オートクレーブは**指定のオートクレーブ（0623-00）（場所：遺伝子実験室）**を使用する。
- ・ 汚染が生じた場合は、「(4) 汚染時の漏出病原体および汚染箇所の処理」に示す処置を行い、必要に応じて管理者に報告する。
- ・ その他、「2. 廃棄物の処分と処理」に示す分別を行う。
- ・ 実験終了時には手指消毒（手洗い＋アルコール消毒）を行う。

(2) 不活化等の処置

① 薬剤消毒

0.02～1%次亜塩素酸ナトリウム (NaClO)、消毒用エタノール (EtOH) 等の使用が推奨される。

消毒対象が機材の場合： 消毒液を十分量浸したペーパータオル等を用いて消毒対象を清拭する。使用後のペーパータオルは、感染性廃棄物として扱う。
(例) 安全キャビ、ビベットマン

消毒対象が液体の場合： 推奨しない（原則としてオートクレーブ）。
(例) 培養液
十分量の消毒剤を混入し、10分以上静置する。静置後の液体は、感染性廃棄物として扱う。このとき、使用した薬剤が次亜塩素酸ナトリウムの場合は、チオ硫酸ナトリウム等を用いて十分にカルキ抜きを行ったのちに、オートクレーブ滅菌を行う。

※注意※ 多量かつ液体の次亜塩素酸ナトリウムは、オートクレーブにかけてはならない（金属が腐食したり、人体に有害な塩素ガスが発生したりするので）。

② 高圧蒸気滅菌

高圧蒸気滅菌（オートクレーブ滅菌）の条件は、121℃・20分が推奨される。



感染性廃棄物をオートクレーブ滅菌する場合は、バイオハザードマークの付いたオートクレーブバッグを使用する。

過積載は不活化不十分の原因となるので行わない。オートクレーブシール（滅菌テープ）等を貼り、十分な不活化を終えたか確認できるようにすること。

開放機器のうち、不活化用に使用できるオートクレーブは、以下の1台である（要予約）。

・ オートクレーブ (0623-00) (場所：遺伝子実験室)

※注意※ オートクレーブ (0624-00) (場所：細胞実験室) は精製水等の滅菌用である。不活化用に使用してはならない。

(3) 汚染時の漏出病原体および汚染箇所の処理

① 実験台上・安全キャビネット内での汚染の場合

少量漏出・飛散した場合の処理方法

- ① 使い捨て手袋を着用し、脱脂綿等で漏出液を吸収させ、汚物缶（滅菌用容器）内へ入れる。
- ② 消毒用薬剤をしみ込ませた脱脂綿等で汚染箇所を清拭し、汚物缶へ入れる。
- ③ オートクレーブ滅菌後に廃棄する。
- ④ 安全キャビネット内は10分以上UV照射する。

※注意※ 消毒用薬剤として次亜塩素酸ナトリウムを用いた場合はオートクレーブしない。

安全キャビネット内で多量の病原液体が漏出・飛散した場合の処理方法

- ① 迅速に使い捨て手袋を着用し、吸水性のよいペーパーを十分に被せて漏出液を吸収させる。
- ② 汚物缶を安全キャビネット内の汚染の少ない場所に置き、二重に手袋をして、汚染物を汚物缶へ入れる。
- ③ 汚物缶をアルミ箔でふたをして、外側をアルコール等で消毒し、安全キャビネットから取り出した後、汚染された手袋とともにオートクレーブ滅菌後に廃棄する。
- ④ 安全キャビネット内を10分以上UV照射した後、器材を安全キャビネットから搬出する。
- ⑤ 飛散が広範囲にわたる場合は、推進室に報告する。

※注意※ 消毒用薬剤として次亜塩素酸ナトリウムを用いた場合はオートクレーブしない。

② 安全キャビネット外で大量に汚染が生じた場合

- ① 曝露発生を大声で実験室内の人に知らせ、退去または応援を求める。
 - ② 漏出・飛散液に吸水性のよいペーパータオル等を汚染したと思われる範囲よりも広い範囲に被せる。
 - ③ ペーパータオルの上から消毒用薬剤（消毒用アルコールまたは次亜塩素酸ナトリウム）をかけて十分に濡らしてからしばらく放置する。
 - ④ 当事者や同室内に病原体取扱い経験の豊富なものがない場合は、連絡・報告し指示を仰ぐ。
 - ⑤ 実験衣・手袋に汚染がある場合は脱いで滅菌用容器へ入れる。作業衣、スリッパにもアルコール噴霧をして仮消毒を行う。
 - ⑥ 汚染物を滅菌用容器へ入れる。汚染箇所を中心にやや広範囲を消毒液で拭き取り、新たなペーパーで乾拭きする。もう一度消毒拭き取り、乾拭きをする。
 - ⑦ 汚物、手袋、汚染された実験衣等を滅菌バッグ等に入れ、オートクレーブ滅菌後に廃棄する。
 - ⑧ 曝露の内容を、推進室に報告する。
- ※注意※ 消毒用薬剤として次亜塩素酸ナトリウムを用いた場合はオートクレーブしない。

（４） 病原体等の運搬と保管

施設内での保管（冷蔵、冷凍）

漏出や逃亡などが起こらない容器に入れる。試験管を用いる場合はしっかりと密封する。所定の場所に保管し、設備の見やすい箇所に病原体等を保管中であることを表示する。一次容器¹に内容をラベルする。

施設内での運搬

廊下やエレベーターは実験区域外にあたるので特に注意してください。

室内であっても、病原体を一次容器のまま持ち運ばない。必ず移送容器²の中に入れ、両手で運ぶか、トレー等の台車を用いて運ぶ。最も外側の容器の見やすい箇所に、取扱いに注意を要する旨を表示する。汚染時は「（４）汚染時の漏出病原体および汚染箇所の処理」に従って処理を行う。実験区域外で汚染事故が生じた場合は、たとえ少量であっても必ず推進室に報告する。

施設外への輸送

病原体を分与する場合には分与先に文書で情報提供を行う。バイオセーフティレベルは施設ごとに分類が異なる場合があるので、分与先との調整を十分に行う。輸送にあたっては、一次容器、二次容器³、外装容器から構成される三重包装が推奨される。

1 病原体等を入れる最初の容器（クライオチューブなど）。密閉性・防水性のものを用いる。

2 チューブ立てや蓋つきの箱など。

3 病原体の種類によって、国連規格容器（カテゴリーA）あるいは一定の基準を満たした容器（カテゴリーB）を用いる。二次容器は一次容器を保護するための耐久性があり、密閉性・防水性のものを用いる。外装容器は二次容器を外部からの影響から保護する出荷用容器である。

2. 廃棄物の処分と処理

(1) 実験室から出たゴミについて

以下のように分類・分別をして所定の場所へ出してください。

ゴミの種類	内容	廃棄場所
可燃ごみ	燃やせるごみ。	「可燃ごみ」
不燃ごみ	実験室から出たごみ。オートクレーブ済のピペット・ディッシュ等。(細胞等の付着していないもの。)	「不燃ごみ」
要滅菌廃棄物	細胞・大腸菌等が付着したピペット・ディッシュ等。 ※オートクレーブ滅菌を行いますので、必ず分別して下さい。	「要滅菌廃棄物」 (後述)
セルアナライザ専用廃棄物	血液等から抽出したサンプルの付着したセルアナライザ分析に使用したチューブ等。	「セルアナライザ専用廃棄物」
発泡スチロール	発砲スチロール	推進室にお問い合わせ下さい。
ガラスくず	空の試薬瓶等。 ※ガロン瓶・500ml以上のガラス瓶を廃棄される場合は推進室にお問い合わせください。 (ラベルはできるだけ剥がして下さい。瓶は洗浄し、廃液は廃液タンク等に分別して廃棄下さい。)	※割れたガラス等は「感染性廃棄物(ペール缶)」へ入れて下さい。
エチジウムブロマイド廃液	泳動などに使用したエチジウムブロマイド廃液。	「エチジウムブロマイド廃液」タンク (遺伝子実験室奥の流し下。)
大腸菌用廃液入れ(ハロゲン等を含まないもの)	大腸菌を含む廃液。アルコール・フェノール等で抽出した廃液等。ハロゲン等を含まないもの。	「大腸菌用廃液入れ(ハロゲン等を含まないもの)」専用タンク
大腸菌用廃液入れ(ハロゲン等を含む物)	大腸菌を含む廃液。ハロゲン等を使用し抽出した廃液等。ハロゲンを含むもの。	「大腸菌用廃液入れ(ハロゲン等を含む物)」専用タンク
廃油	ハロゲン・フェノール含有廃液	「ハロゲン廃液」タンク
有機廃液	可燃性廃液	「有機廃液(可燃性廃液)」タンク
有機廃液	難燃性廃液	「有機廃液(難燃性廃液)」タンク
感染性廃棄物(段ボール)	血液等の付着しているもの。 (注射針やガラスなど先が鋭利なものを除く)	「感染性廃棄物(段ボール)」
感染性廃棄物(ペール缶)	血液等の付着しているもので、 (注射針やガラスなど先が鋭利なものを。)	「感染性廃棄物(ペール缶)」

※実験廃液等は、現在記載の種類(ハロゲン・有機廃液(可燃性・難燃性))以外の廃液は実験者の方で関係法令に従い、適切に処理してください。その他不明な点は、推進室までお問合せください。

(2) 要滅菌廃棄物の分類と処理について

ゴミの種類	内容	処理する人
<p>細胞・大腸菌等が付着したピペット・ディッシュ等。</p> <p>-----</p> <p>-</p> <ul style="list-style-type: none"> ・廃液は除いてください。 ・細胞等が付着していない培地ボトル等は、液体を除いた後「不燃ごみ」に出してください。 	<p>【実験中（実験者）】 実験室内の指定のゴミ袋に入れてください。</p> <p>【実験終了後（推進室スタッフ）】 ゴミを回収後、オートクレーブ滅菌処理を実施。実験系不燃ごみとして排出します。</p> <div data-bbox="587 633 1042 898" data-label="Image"> </div> <p>(例) オートクレーブ用廃棄バッグ</p>	<p>推進室スタッフ</p>
<p>不活化処理の必要な感染性廃棄物（ウイルスベクター実験等で使用したピペット・ディッシュ等。）</p>	<p>【実験中】 バイオハザード表示のある廃棄袋等、他者に危険性のわかる容器等に入れ、分別すること。</p> <p>【実験終了後】 直ちに不活化処理を実施し、拡散防止に努めること。オートクレーブシール等、不活化終了が確認できるようにすること。</p> <div data-bbox="587 1402 890 1671" data-label="Image"> </div> <p>(例) バイオハザードマーク付オートクレーブバッグ</p>	<p>実験者</p> <p>※実験開始から不活化処理までを責任を持って実施していただくようお願いします。</p>

3. よくあるお問い合わせ

ご質問	回答
<p>Q. ごみ箱（要滅菌廃棄物用）がいっぱいです。どうしたらいいでしょうか。</p> 	<p>A. 基本的には推進室スタッフが廃棄物の回収をさせていただいておりますが、短期間に廃棄物が多く発生する場合は、以下のようにお願いします。</p> <p>実験室内に予備のゴミ袋（オートクレープ用廃棄バッグ）を設置しております。</p> <p>（設置場所：実験室内の作業用台車）</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ゴミ箱からバッグごと廃棄物を取り出し、ワイヤータイ（バッグと一緒に設置しています。）で留めてください。 <p>（実験室のゴミ箱付近に固めて置いておいてください。）</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. 新しいオートクレープ用廃棄バッグをゴミ箱に取り付け、使用してください。 <p>また、オートクレープ処理をする際に、ピペット（高さのあるもの）とそれ以外のゴミに分けていただくと、処理時間の効率がよく、大変助かります。</p>
<p>Q. 一度に大量に作業をするのでゴミ箱（要滅菌廃棄物用）が小さいです。もっと大きいものにできませんか。</p>	<p>A. 回収後に処理をするオートクレープの容量に合わせたサイズのバッグを設置させていただいておりますのでご了承ください。</p>
<p>（安全キャビネット・クリーンベンチ付属の）アスピレーター廃液の処理について</p>	
<p>Q. 廃液がいっぱいになりそうです。どうしたらいいでしょうか。</p> 	<p>A. 実験室内に廃液回収用タンクを設置しております。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. チューブ内を消毒用エタノールで洗浄する。 （ポンプを動かしながら消毒用アルコールのスプレーボトルをチューブ内に噴霧し、洗浄） 2. フタを外し、廃液瓶の中の廃液を回収用タンクに移します。 3. 水道水で1～2回瓶の中を洗浄し、廃液を回収用タンクに移します。 ※ 廃液が垂れないように、瓶の口をペーパー等で拭いてください。 4. フタを元に戻して、使用してください。 <p>※少量の液体を続けてアスピレートする場合、泡が発生しやすくなり、フィルターのかみまりの原因となる場合がありますのでご注意ください。</p>

<参考資料>

バイオセーフティの原理と実際／みみずく舎、バイオメディカルサイエンス研究会

国立感染症研究所 病原体等安全管理規定／国立感染症研究所

実験室バイオセーフティ指針－第3版（2004／翻訳版）／WHO（邦訳：国立感染症研究所）

感染性物質の輸送規則に関するガイダンス（2013・2014）／WHO（邦訳：国立感染症研究所）

<お問い合わせ先>

バイオフィロンティア推進室

0859-37-5131／tbf@toriton.or.jp

遺伝子組換え実験・ウイルスベクター実験に関するお問い合わせ →中西

機器利用に関するお問い合わせ →福浦