

とっとりバイオフロンティア 微生物実験安全マニュアル

令和5年8月31日初版

【目次】

(1)	当マニュアルの対象	1
(2)	実験開始前の情報提供のお願い	1
(3)	当施設へ持ち込めない微生物	2
(4)	微生物を持ち込めない区画	2
(5)	主な注意事項	2
(6)	機器別の注意事項(2階開放機器)	3
(7)	微生物実験で出たゴミの分別方法	4
(8)	不活化等の処置	5
(9)	汚染時の漏出病原体および汚染箇所の処理	6
(10)	運搬・輸送時の注意事項	7
(11)	お問い合わせ先	7
	【よくある質問】	7

(1) 当マニュアルの対象

当マニュアルは、遺伝子組換えでない微生物について、とっとりバイオフロンティア(以下、「当施設」)へ持ち込み・使用・保管(以下、「取扱い」)する際の注意事項を定めたものです。ここでの微生物とは、「実験に用いる細菌・菌類・ウイルス、原生動物」を指します。遺伝子組換え微生物実験については、「とっとりバイオフロンティア遺伝子組換え実験安全管理規則」および「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」を[参照してください](#)。

(2) 実験開始前の情報提供のお願い

当施設では、利用者やスタッフの安全確保のため、使用する微生物の情報提供をお願いしています。
当施設での微生物取扱いを開始する前に、以下について当施設管理室までご連絡ください。

【 ご連絡先: tbf@toriton.or.jp 】

- ① ご連絡先(氏名、電話番号、メールアドレス)
- ② 今後取扱いを予定している微生物の名称
- ③ 今後使用を予定している開放機器
- ④ 実施予定期間

一度ご連絡いただければ、以降の情報提供は不要です(内容に変更・追加が生じた場合はご連絡ください)。
なお実験がすべて終了し、もう当該微生物を取扱わないこととなりましたら、その旨ご連絡ください。

(3) 当施設へ持ち込めない微生物

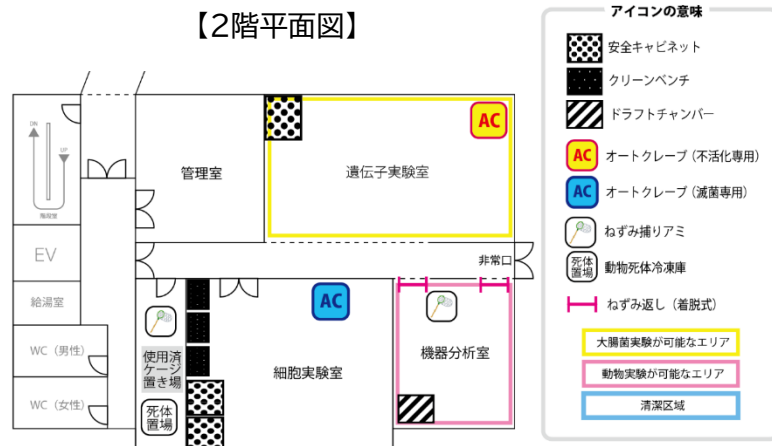
以下のいずれかに該当する微生物(細菌、ウイルス等)は、当施設へ持ち込むことができません。

- ① 日本細菌学会 BSL 分類における BSL3あるいは BSL4に該当する。
- ② 感染症法における第一種病原体～第四種病原体に該当する。

(4) 微生物を持ち込めない区画

当施設で微生物を取扱ってよい場所は、原則、2階**遺伝子実験室(右図「大腸菌実験が可能なエリア」)**のみです。したがって、2階機器分析室や2階細胞実験室へは持ち込むことはできません。ただし例外として、機器分析室の「超低温フリーザー」「薬品冷蔵庫」「薬用保冷库」「バイオメディカルフリーザー」は微生物の保管ができます。

3階および1階の貸出区画での取扱いについては、各入居者と個別に協議し、別途定めます。



(5) 主な注意事項

実験前、実験中、実験後の主な注意事項について下記に示します。

特に注意が必要な点については、蛍光黄色で示しています。

【実験前】

- ・ 開放機器オートクレーブを使用して不活化処理をする場合は、**必ず実験前に予約**してください。
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台です。
： 1016-01(場所:遺伝子実験室)
- ・ 履き物はつま先の開いていないものを使用してください。
- ・ 手指消毒(手洗い+アルコール消毒)をし、実験衣を着用(袖口を閉じ、前ボタンをかける)してください。
作業内容によりマスク・手袋を着用してください。

【実験中】

- ・ 実験中は、窓やドアを閉めてください
- ・ 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、フタを開けた状態の試料を安全キャビネットの外に出さないでください。
- ・ 開放機器を使用する場合は、「(6)2階開放機器の機器別注意事項」に沿って実施してください。
安全キャビネットは、以下のものが使用できます。
➢ 0576-00(場所:遺伝子実験室)
- ・ クリーンベンチや、指定外の安全キャビネットは使用しないでください。
- ・ **アスピレーターは使用できません**。廃液ボトルを各自持ち込んでください。
- ・ 実験中、不活化処理に必要なゴミ(微生物実験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ずに、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してください。

- ・ 遠心分離する際は、スクリューキャップのついた遠心管を用いてください。
- ・ 汚染が生じた場合は、「(9)汚染時の漏出病原体および汚染箇所の処理」に沿って対処してください。

【実験後】

- ・ 実験台や実験器具は、薬剤消毒(0.02～1%次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)や消毒用エタノール(EtOH)を十分量浸したペーパータオル等を用いて清拭)してください。
- ・ ゴミは「(7)微生物実験で出たゴミの分別方法」に沿って分別し、必要に応じて「(8)不活化等の処置」をしてください。
- ・ 実験終了時には手指消毒(手洗い+アルコール消毒)を行ってください。

(6) 機器別の注意事項(2階開放機器)

一般的なご利用方法に加えて、注意してほしい点は以下の通りです。

下記にない機器の利用を希望される場合は、管理室に事前にご相談ください。

安全キャビネット	使用後は薬剤消毒を行ってください。
オートクレーブ	一般的な注意事項に沿ってご使用ください。 「(7)不活化等の処置」も参考にしてください。
大型遠心分離機 小型冷却遠心機	遠心管はスクリューキャップ式のものにしてください。
微量サンプル計測設備	生菌を含むサンプルでは使用できません。 精製抽出液のDNAやRNA、タンパク質の測定にご利用ください。
乾熱滅菌乾燥機	一般的な注意事項に沿ってご使用ください。
冷却大型振とう培養器 冷却小型振とう培養器	サンプルが庫内で絶対にこぼれないよう、スクリューキャップの使用や二重梱包等を行ってください。使用後は庫内を薬剤消毒してください。
大腸菌培養用インキュベーター	使用後は庫内を薬剤消毒してください。
超低温フリーザー 薬用冷蔵ショーケース 薬用保冷庫 薬品冷蔵庫 バイオメディカルフリーザー	保管容器はスクリューキャップ式のものにしてください。容器には内容を記入してください。 下記ラベルのある場所に保管してください。使用したい保管機器にラベルがない場合は、推進室にご相談ください。 微生物等保管場所

(7) 微生物実験で出たゴミの分別方法

ゴミの内容	廃棄場所
燃やせるゴミ (※微生物の付着していないもの)	「可燃ゴミ」入れへ。
実験室から出たゴミ。オートクレーブ済のピペット・ディッシュ等 (※微生物の付着していないもの)	「不燃ゴミ」入れへ。
微生物等が付着したチップ・ディッシュ等	液体を除去して、 実験者自身が不活化処理。 その後、適切に分別廃棄。 ※ただし、バイオハザードマーク付きのものを袋ごと捨てる場合は、「感染性廃棄物(段ボール)」へ入れてください。実験系不燃ゴミや可燃ゴミとしては収集できません。
微生物等を含む廃液	実験者自身が不活化処理。 その後、流しへ廃棄。 ※ハロゲンを含むものは、不活化処理後に、「ハロゲン廃液」タンクに回収。

その他のゴミは、「[2階実験室ゴミ分別早見表](#)」に従って分別・廃棄してください。

不明な点は、推進室までお問合せください。

<ご注意>

開放機器室にある以下のゴミ箱は、名称に「滅菌」「感染」とついていますが微生物実験用のものではありません。微生物が付着したゴミは、必ず上述のやり方で廃棄してください。

「要滅菌廃棄物」 : 培養細胞が付着したチップ等を捨てるゴミ箱です
バイオフィロンティアスタッフが滅菌処理をします
「感染性廃棄物(段ボール)」 : 血液付着ゴミを捨てるゴミ箱です
「感染性廃棄物(ペール缶)」 : 血液付着ゴミ(鋭利なもの)を捨てるゴミ箱です

(8) 不活化等の処置

① 薬剤消毒

推奨：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
自らが取扱う病原体等の特性に応じて、適切な薬剤を選択してください。

消毒対象が機材の場合 (例)安キャビ、ピペットマン	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、「病原体等取扱い実験で使用したチップ・ディッシュ等」と同様に扱う。
消毒対象が液体の場合 (例)培養液	推奨しない(原則としてオートクレーブ)。 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ないでください。
(金属の腐食や、人体に有害な塩素ガスの発生が起こる場合があります)

② 高圧蒸気滅菌(オートクレーブ滅菌)

推奨する条件：121℃・20分

オートクレーブ滅菌をする場合は、バイオハザードマークの付いたオートクレーブバッグ(右写真のようなもの)を使用してください。十分な不活化を終えたか確認できるように、滅菌テープ等のケミカルインジケータを使用してください。過積載は不活化不十分の原因となるので行わないでください。



※注意※

- ・ 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台です(要予約)：オートクレーブ(1016-01)(場所:遺伝子実験室)
- ・ オートクレーブ(1016-02)(場所:細胞実験室)は精製水等の滅菌用です。不活化目的では絶対に使用しないでください。

(9) 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、ペーパータオル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ペーパータオル等で汚染箇所を清拭し、汚物缶へ入れる。
- ③ ペーパータオルは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体液が漏出・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 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。
- ⑤ 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。
- ⑥ 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。
- ⑦ 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。

(10) 運搬・輸送時の注意事項

施設内での運搬

室内であっても、微生物を一次容器のまま持ち運ぶのは避け、必ず移送容器の中に入れ、両手で運ぶか、トレー等の台車を用いて運んでください。汚染時は「(8)汚染時の漏出病原体および汚染箇所の処理」に従って処理してください。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。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推進室に報告が必要です。

施設外への輸送

微生物を分与する場合には分与先に文書で情報提供を行ってください。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必要があります。輸送にあたっては、一次容器、二次容器、外装容器から構成される三重包装が推奨されます。

(11) 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

<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)

【よくある質問】

ご質問	回答
Q. 大腸菌組換え実験は どういう扱いになります か？	A.大腸菌を用いた組換え実験は、「遺伝子組換え実験」に該当するので、遺伝子組換え実験の申請が必要です。詳しくは、「とっとりバイオフィロンティア 遺伝子組換え実験安全管理規則」を参照してください。 なお、遺伝子組換え実験に該当する微生物実験の場合は、遺伝子組換え実験計画の申請のみを行い、微生物の情報提供は原則不要です。
Q.死菌を含むサンプルに ついてはどういう扱いに なりますか？	A.十分な不活化等が行われ、生菌が含まれないことが明らかなサンプルであれば、細胞実験室や機器分析室でも取扱いできます。判断が難しい場合は管理室にご相談ください。