

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 5 年 8 月 31 日版
(令和 3 年 4 月 2 日初版)

【目次】

(1) 当マニュアルの対象	1
(2) 主な注意事項	1
(3) ウイルスベクター取扱い実験で出たゴミの分別方法	2
(4) 不活化等の処理	2
(5) 汚染時の漏出病原体および汚染箇所の処理	3
(6) 保管・運搬・輸送時の注意事項	4
(7) お問い合わせ先	4
【よくある質問】	エラー! ブックマークが定義されていません。

(1) 当マニュアルの対象

当マニュアルは、遺伝子組換え実験のうち特にウイルスベクターを用いる実験について、注意事項を定めたものです。なお、遺伝子組換えでない微生物の取扱いについては「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」を、遺伝子組換え実験全般については「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」を[参照してください](#)。

(2) 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、**開放状態の試料を安全キャビネットの外に出さない**ようにしてください。
- 安全キャビネットは、以下のものが使用できます。
➤ ウイルスベクター取扱い実験 :0577-00、0578-00(場所:細胞実験室)
- 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、不活化処理の必要なゴミ(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、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、「(5)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「(3)ウイルスベクター取扱い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「(4)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。

(3) ウイルスベクター取扱い実験で出たゴミの分別方法

ゴミの内容	廃棄場所
燃やせるごみ (※細胞やウイルスの付着していないもの)	「可燃ごみ」入れへ。
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 (※細胞やウイルスの付着していないもの)	「不燃ごみ」入れへ。
細胞等が付着したピペット・ディッシュ等	「要滅菌廃棄物」入れへ。
ウイルスが付着したチップ・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。実験系不燃ごみや可燃ごみとしては収集できません。
ウイルスを含む廃液	実験者自身が不活化処理。 その後、流しへ廃棄。 ※ハロゲン含有するものは、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。

(4) 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(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。

(5) 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 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。

(6) 保管・運搬・輸送時の注意事項

施設内での保管(冷蔵、冷凍)

保管容器はスクリュキャップ式のものにするか、パラフィルムなどでしっかりと密閉してください。容器には内容を記入してください。「遺伝子組換え生物等保管場所」というラベルのある場所に保管してください。開放機器の場合で、使用したい保管機器に上記ラベルがない場合は、管理室にご相談ください。

施設内での運搬

室内であっても、ウイルス等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「(5)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

ウイルス等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。

(7) お問い合わせ先

バイオフィロンティア推進室

0859-37-5131 / tbfb@toriton.or.jp

微生物実験・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 → 濱口

機器利用に関するお問い合わせ → 福浦

<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. 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。 	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、予備のゴミ袋(オートクレープ用廃棄バッグ)を、実験室内の作業用台車に設置しておりますので、以下のようにお願いします。 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。 2. 留めたゴミ袋は、実験室のゴミ箱付近に固めて置いておいてください。 3. 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てください。 なお、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、オートクレープ処理をする際に効率がよく、大変助かります。
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。	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。
(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	
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。 	A. 実験室内に廃液回収用タンクを設置しております。 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。 ※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、フィルターの詰まりの原因となる場合がありますのでご注意ください。