

## 17. バイオセーフティ管理室

室長 杉山和良

### 概要

バイオセーフティ管理室は、感染研全体にわたる病原体等の安全な取り扱いに関する管理業務および共同利用施設であるBSL3と4の実験室（指定実験室）の一元的な管理・運営を担っている。病原体等の安全管理に関わるバイオセーフティについての研究およびバイオセーフティについての教育・訓練並びにバイオセーフティについての情報収集・提供を行っている。

病原体等安全管理規程に基づく、病原体等の取り扱いと保有、移動についての手続きの点検と記録管理を行った。BSL2実験室は各部長の指揮監督のもとに管理運営を行っているが、BSL2実験室安全キャビネット定期点検プログラム等の立案や病原体等の取扱者の健康管理や血清保存等の所全体に関わる管理業務を行った。また、特定病原体(HIV)取り扱い者に対する抗体測定を行った。病原体等安全管理規程の一部改正を行い、BSL分類表にBSE prionを追加し、動物実験におけるBSLを規定し、2003年4月から実施した。

病原体取り扱い者へ感染のリスク、優良な微生物取り扱い技術、安全管理に関する規則を熟知させることは感染事故を防ぐ上に必須である。新規に病原体等を取り扱う者に対しては2ヶ月毎に、また、今年度は継続者に対してバイオセーフティ講習会を実施した。さらに、新規のBSL3実験室利用者へは利用者講習を実施した。その他、緊急時対応訓練等のバイオセーフティ教育・訓練を実施し病原体等の安全管理業務の充実をはかった。

施設整備に関しては、2003年1月24日より運用を開始した村山分室6号棟のBSL3実験室の最初の年次総合点検を11月に実施した。他の指定実験室について例年の年次点検を実施した。筑波支所では大型ケージ・アイソレーターへの取り換えにともなう管理区内実験室の改修および洗浄室の管理区域からの切り離しについての設計作業並びに準備作業を行った。

研究業務としては、安全キャビネットの給排気量の自動維持機構の検証、実験室前室機能、バイオハザード対策用の防護服の国際基準に関する研究、炭疽菌の性状、検出法および不活化法、各種消毒剤によるコロナウイルス等の不活化に関する研究およびノロウイルス代用としてネコカリシウイルスを用いた塩素抵抗性に関する研究等を行った。

第46回米国バイオセーフティ学会総会に出席し、実験室前室のフロート型ダンパーの清浄効果に関わる研究成果を発表するとともにバイオセーフティについての最新情報の収集を行った。また、本学会の期間中に開催された国際バイオセーフティワーキンググループの会議に日本からのメンバーとし

て参加し、各国共通の問題について討議した。本グループは2003年9月に各国の規制等についての資料集としてBiosafety Compendium on Regulations and Information Sourcesを取り纏めた。

国際協力業務としては、JICAタイ国国立衛生研究所機能向上プロジェクト、WHOによるシンガポールでのSARS実験室発生に関するバイオセーフティ調査、および台湾のSARS実験室発生にともなう現地調査に参加し、バイオセーフティについての指導を行った。

バイオセーフティ管理室のホームページには、病原体等取扱申請方法、バイオセーフティ講習会の年間予定、バイオセーフティ講習会のプログラム案内、病原体等安全管理規程、関連学会等の日程および日本バイオセーフティ学会活動などを掲載し情報の提供を行った。

### I. バイオセーフティ講習会

新規受講者を対象としたバイオセーフティ講習会は年間予定に従い2ヶ月に一度、6回実施した。また、外国人を対象としたバイオセーフティ講習会は随時行い、11回開催した。ウイルス第二部、宮村達男部長がバイオセーフティ委員長を務め、バイオセーフティの考え方について講演した。

新規受講者講習会に引き続き試験を導入し講習の教育効果を高めるように努めた。また、バイオセーフティの実践として、「安全キャビネットの使い方」、「汎用消毒薬の基本と使い方」についての項目を設け、安全キャビネットの正しい使用法および消毒剤の適切な使い方について引き続き指導を行った。

外国人研修生対象として、感染研エイズ国際研修、ポリオ国際研修およびハンセン病国際研修時にバイオセーフティについての講義を行った。

バイオセーフティ管理室

1. バイオセーフティ講習会受講者数

1) 平成15年度 継続・新規・臨時講習会

実施年月日	継続	新規	臨時
平成15年4月 4日		74	
5月 7日	357		
5月 8日	226		
5月 19日	36		
6月 3日	1		
6月 4日		49	
7月 4日			1
8月 5日		47	
9月 16日			1
10月 6日		45	
12月 2日		23	
平成16年2月 4日		29	
計	620	267	2

ティ管理室併任の向井鎌三郎室長が2003年10月31日で併任解除となり11月1日からは新たに明里宏文主任研究官がバイオセーフティ管理室併任となり管理・運営を担当した。引き続き、各庁舎指定実験室の日常の管理・運営、施設管理技術者との作業調整と監督、施設の定期総合点検の計画立案と実施および指定実験室利用者に対する講習等の教育指導等を行った。

指定実験室の利用登録者と指定実験室利用者講習受講者を表に示した。

1. 平成15年度 指定実験室 (BSL3) 登録者数

庁舎名	登録者数
戸山庁舎	116
村山分室	46
筑波医学実験用霊長類センター	48
計	210

2) 平成15年度 外国人対象講習会

実施日	受講者数
平成15年 4月 2日	1
4月 9日	2
4月 17日	1
5月 9日	5
6月 10日	2
6月 18日	1
9月 5日	1
10月 24日	2
11月 5日	1
12月 11日	1
平成16年 3月 15日	1
計	18

2. 平成15年度 利用者講習会月別受講者数

※ 回数 (講習会実施回数) 人数 (受講者数)

庁舎名 実施月	戸山		村山		筑波	
	回数	人数	回数	人数	回数	人数
4月	0	0	1	1	2	5
5月	1	5	1	2	1	2
6月	2	8	5	20	1	2
7月	2	5	4	8	1	5
8月	1	1	4	5	0	0
9月	4	11	3	14	0	0
10月	2	4	4	4	1	1
11月	1	2	0	0	0	0
12月	2	6	2	2	0	0
1月	1	2	1	1	0	0
2月	1	3	4	9	1	1
3月	1	2	1	6	0	0
計	18	49	30	72	7	16

上記の他に臨時利用者講習会実施

避難訓練 (12月) 2回 60名

II. 指定実験室の管理・運営および利用状況

BSL3と4の実験室 (指定実験室) の一元的な管理・運営を行った。戸山庁舎においては杉山、高木弘隆研究員および藤井弘毅、千葉裕子非常勤職員が担当した。村山分室においては篠原克明主任研究官および山口安子、甲原照子、佐藤真弓非常勤職員が担当した。筑波支所においてはバイオセーフ

### Ⅲ. バイオセーフティ教育と情報提供

バイオセーフティ教育の一環として、行政機関（平成15年健康危機管理保健所長等研修会、東京都特別区保健所衛生検査技師会等）、大学、独立行政法人、民間機関その他でバイオセーフティに関わる業務関係者を対象とした講義を行った。感染研が受け入れている保健医療科学院および国際協力事業団(JICA)から（エイズ、ポリオ、ハンセン病）の研修生に対し、バイオセーフティについての講義を行った。結核研究所における外国人研修時にバイオセーフティについての講義も引き続き行った。

外部機関から病原体等安全管理規程についての問い合わせや分与依頼、病原体のバイオセーフティレベル分けや実験施設・設備、BSL3の管理運営法およびバイオセーフティ委員会等についての問い合わせが引き続き多数寄せられ、これらの問い合わせについて資料提供並びに情報提供を行った。また、施設見学の受け入れと、これら見学者に対してバイオセーフティについての解説も多数行った。

病原体等の取り扱いにおける安全管理運営、安全装置および実験施設設計等のバイオセーフティに関する学術研究の推進並びにバイオセーフティの普及を図り、バイオセーフティの向上発展に寄与することを目的として、2002年1月19日に設立された日本バイオセーフティ学会に参加し、2003年11月に行われた総会・学術集会の運営にたずさわった。

### Ⅳ. 国際協力

#### 1. JICA タイ国国立衛生研究所機能向上プロジェクト

研究所機能向上の一環としてバイオセーフティ体制の強化のために査察と改善指導を行った。2000年に、NIHのバイオセーフティについて現地調査を実施し問題点を指摘してきた。先の指導項目の達成度、また新たな問題点等について調査を行った。安全装置、安全管理体制の整備、教育・訓練、BSL3実験室の日常の管理運営法および設備の維持管理について等の技術的項目について指導を行いバイオセーフティ体制の確立をはかった。

#### 2. WHO によるシンガポールでの SARS 実験室発生に関するバイオセーフティ調査

2003年9月にシンガポールでSARS コロナウイルスによる実験室感染が発生した。WHO、米国CDCおよびシンガポール当局者からなる調査委員会のメンバーとして実験室の構造と安全管理状況および疫学調査を行った。シンガポール政府はバイオセーフティの安全管理体制、施設基準等の策定を行うよう努めることとなった。感染研としてはこれを教訓とし、規則等の定期的な見直し、講習会での具体的な対応策についての指導およびBSL2実験室の安全管理の充実等を行うようにした。

#### 3. 台湾の SARS 実験室発生にともなう現地調査

2003年12月に台湾で発生したSARS コロナウイルスによる実験室感染にともない、台湾のBSL3,4実験施設8ヶ所について立ち入り調査を台湾CDCと協力して行った。設備は標準を上回るものであったが、管理体制についてはさらに充実させる必要があり、改善のための指導を行った。

## 研究業績

### I. バイオセーフティに関する研究

#### 1. BSL3 実験室における安全キャビネットの給排気量の自動維持機構の検証

BSL3 実験室設置マルチダクト接続クラス II 安全キャビネットの給排気空気量モニター機能とコントロールシステムの性能を検証中である。現在までのところ、当該安全キャビネットは、BSL3 実験室内の圧力変動や並列接続された他の安全キャビネットの発停の影響を受けにくいことが確認されている。さらに長期間の観察を行う予定である。

[篠原克明、深見 哲、杉山和良]

#### 2. バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する研究

バイオハザード対策専用防護服の防護性能について、試験装置の開発を含め、実証試験を行っている。現存の試験方法について、国内外の規格や文献並びに海外を含めた関連学会、施設・設備などの調査を行った。さらに、現存防護服の血液透過性や浮遊微生物の透過性について検証を行ったところ、現存の試験装置や試験方法では各防護服素材の防護性能を細かく評価できないことが判明した。そこで、より精細な性能試験を行うための試験装置を新たに開発し、試作機を作製した。現在その試作機を用いて各素材のデータを収集中である。

[篠原克明、高木弘隆、杉山和良]

#### 3. 塩素系消毒剤によるカリシウイルスの抵抗性に関する研究

昨年に続き、環境中のNorovirus(Norwalk-like virus)代用としてネコカリシウイルス(FCV)を用いた塩素系消毒剤抵抗性に関する検討を行った。FCVは 弱毒ワクチン株(F-9)及び臨床分離されたもの、計 7 株を用いて  $10^6 \sim 10^7$  PFU/0.05ml に調製した。塩素系消毒薬としては次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)を用いて有効塩素 1.56~100ppm となるよう滅菌精製水にて調製した。試験方法はvirus:NaClO = 1:4 で混合し、室温で 10 分作用させた後、チオ硫酸ナトリウム含有EMEを等量加え反応を停止させた。これを段階希釈し、CRFK細胞により残存する感染力価(TCID<sub>50</sub>)を測定した。

その結果 F-9 を含む 4 株では有効塩素 100ppm にて  $2 \log_{10}$  以上減少し、2 株は  $1 \log_{10}$  程度の減少に、1 株では  $1 \log_{10}$  未満の減少となった。FCV 不活性化における有効塩素濃度依存性は 20ppm 以上ではほぼ直線的であるが、それ以下では非常に不安定であることも示唆された。また有効塩素 100ppm・10 分の作用で  $1 \log_{10}$  程度あるいはそれ未満となった 3 株については plaque 形成速度が速いといった傾向も認められている。今後さらに有効塩素濃度・作用時間のマトリクスによる塩素抵抗性を検討するとともに、これらの増殖能やそれに関わる分子生物学的解析を試みる予定である。

[高木弘隆、篠原克明、杉山和良]

#### 4. 各種界面活性剤によるコロナウイルスの不活性化に関する研究

昨年度 SARS コロナウイルス(SARS-CoV)の感染防止対策の一環として、各種消毒剤による不活性化効果を検討したが、不特定多数が利用する宿泊施設や公共施設などにおいて、その実践は困難なケースが多いことも明らかになった。そこで通常清掃や洗浄などの用途に使用されている界面活性剤原料に着目し、それらによるブタ伝染性胃腸炎ウイルス(TGEV)及び SARS-CoV を用いた不活性化効果を検討した。界面活性剤の市販品原料として直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 Na (LAS-Na)、天然型アルキルエーテル硫酸エステル Na (AES-Na)、脂肪酸アルカノールアミド (FAA)、ラウリン酸 K (Lau-K)、市販無添加石けん (Soap) 及び塩化ベンザルコニウム (BZC) を用い、ウイルス:界面活性剤 = 1:1 で混合、2 分間の作用による不活性化効果を見た。

また、これまで界面活性剤は細胞毒性の回避は大量希釈のみが有効な手段であり、ウイルスの高力価-不活性化の評価が困難であったが、今回、界面活性剤除去用ビーズを用いることでウイルス力価を損なうことなく細胞毒性を軽減することが可能となった。

その結果TGEVではLAS-Na 0.06%以上、Lau-K 0.5%以上、Soap 0.25%以上そしてBZC 0.025%以上で約  $6 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>の減少が認められた。またSARS-CoVではLAS-Na 0.1%以上、Lau-0.5%以上、Soap 0.5%以上そしてBZC 0.02%以上で  $5 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>の減少が認められた。またAES-NaとFAAについては、各々単独では不活性化効果は弱い、ある比率で混合することにより、不活性化効果が増強される傾向がみられた。これらから市販家庭用洗剤や石けん、逆性石けんによるコロナウイルス不活性化に有効性がみられ、感染防止対策にも十分活用できると考える。

[高木弘隆、篠原克明、杉山和良(バイオセーフティ管理室)  
\*原料協力:(財)日本石鹼洗剤工業会]

#### 5. コロナウイルス I 型及び II 型に対する抗体測定システムの開発に関する研究

SARS-CoV 研究において、抗血清作成や血清サンプル中抗体価測定は非常に重要であり、特に抗体特異性については交差反応などを知る上で、既存のコロナウイルスを抗原とした ELISA などによる確認が簡便かつ重要である。今回、SARS-CoV がコロナウイルス I 型 (CoV-1) と血清学的に交差しやすいことを踏まえ、既存 CoV-1 を抗原とした抗 CoV-1 IgG ELISA キットの開発を行った。

CoV-1 抗原はブタ伝染性胃腸炎ウイルス(TGEV) 弱毒ワクチン株 h-5 を用い、無血清下ブタ精巣細胞(ST) により増殖させた後、ホルマリン固定・限外濾過を行い、粗精製 CoV-1 抗原を得た。これを 96well-microplate にコーティングし、各種抗血清による特異性及び非特異反応、プレート保存性などを検討した。コロナウイルス I 型及び II 型に対する市販ポリクローナル抗血清については I 型のみと反応し、抗 SARS-CoV ウサギ血清(ウイルス I 部より供与)では強い交差反応が認められた。ST 細胞より調製した MOCK サンプルとの比較による非特異反応は殆どみられなかった。またプレート 4℃乾燥状態で 2 ヶ月は使用可能であった。現在 HCoV I 型(229E)及び HCoV II 型(OC43)を抗原とした ELISA システムの検討を行っている。  
[高木弘隆、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、森川茂(ウイルス I 部)、板村繁之(ウイルス III 部) ]

#### 6. 母乳中抗コロナウイルス IgA 測定と CoV-1 中和能に関する研究

コロナウイルスは一般的に軽度の風邪様症状を呈し、冬期に流行があるとされている。また培養は非常に難しく、その感染実態を把握するためには血清学的検査による。本ウイルスは乳幼児に感染した場合、肺炎等重症化する場合があります。特に授乳における移行 IgA は重要なものとなる。今回、東京大学発達医学教室所有の母乳(出産後9日以内)239 検体について CoV-1 に対する IgA 検出を ELISA にて実施するとともに、その中和能について TGEV を用いた中和試験を試みた。

ELISA による陽性判定を吸光度 0.2 以上かつ MOCK 吸光度の 2 倍以上としたところ、5 検体(2.1%)が陽性となった。また MOCK 吸光度 2 倍以上の吸光度値を示す検体 14 検体と陰性検体 18 検体を各々 1:40 希釈での TGEV 中和試験を行ったところ相関性は認められないものの、ほとんどの陰性検体中につい中和能が認められた。IgA とは別の感染中和物質の存在と母乳による感染防止の重要性が示唆され、今後、継続してこの解析を進めてゆく予定である。

[高木弘隆、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、寺尾義孝、牛島廣治(東京大学) ]

## 発表業績一覧

### I. 誌上发表

#### 1. 欧文発表

1) Kaizu M, Ami Y, Nakasone T, Sasaki Y, Izumi Y, Sato H, Takahashi E, Sakai K, Shinohara K, Nakanishi K, Honda M. : Higher levels of IL-18 circulate during primary infection of monkeys with a pathogenic SHIV than with a nonpathogenic SHIV.

Virology, 313 (1) : 8-12, 2003.

2) Shinohara, K., Ohtani M., Sato H., Nakamura S., Takagi H., Sugiyama K. Cleanliness effect of new float-type barometric damper in changing room of BSL3 laboratory. Applied Biosafety, 8 (4), 184, 2003.

#### 2. 和文発表、雑誌解説

- 1) 杉山和良: 実験動物施設におけるバイオセキュリティ. 実験動物と環境 11(2), 105-109, 2003
- 2) 杉山和良: バイオハザード病原体. ファルマシア Vol.40, No.3, 220-224, 2004
- 3) 杉山和良: バイオセーフティの考え方と実践. 静電気学会誌 Vol.28, No.3, 160-163, 2004
- 4) 篠原克明: 感染症とその施設、設備について. 建築設備と配管工事. Vol.42. No.2. 1-7.2004.2月.
- 5) 高木弘隆: (特集解説) 室内環境とウイルス. 静電気学会誌, 28(3), 160-163, 2004

### II. 学会発表

#### 1. 国際学会

1) Shinohara, K., Ohtani M., Sato H., Nakamura S., Takagi H., Sugiyama K. Cleanliness effect of new float-type barometric damper in changing room of BSL3 laboratory. 46th Annual Biological Safety Conference, October 12-15, 2003, Philadelphia, USA.

#### 2. 国内学会

- 1) 杉山和良: 実験動物施設におけるバイオセキュリティ. 第 28 回日本実験動物環境研究会シンポジウム、2003 年 5 月、埼玉
- 2) 杉山和良: シンガポールでの SARS 実験室感染について. 第 3 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2003 年 11 月、東京
- 3) 杉山和良: 病院、検査センター等検査室が具備すべきバイオセーフティ上の構造設備. 第 15 回日本臨床微生物学会、2004 年 1 月、筑波
- 4) 篠原克明、高橋栄治、高木弘隆、杉山和良、三木秀樹、青山隆芳: 屋外設置ユニット式バイオハザード対策用実験室空調の運転経過. 第 21 回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会、2003 年 4 月、東京
- 5) 佐藤英樹、中村慎二、大谷光幸、篠原克明: フロート式差圧調整ダンパによる室圧制御と空気気流性状の検討. 第 21 回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会、2003 年 4 月、東京
- 6) 篠原克明、山中祐二、大久保孝雄、小暮一俊、木場裕介、北林厚生、小野恵一、本間圭一、高橋栄治、高木弘隆、杉山和良: 生物学用安全キャビネットの排気安定化について. 日本防菌防黴学会 第 30 回年次大会、2003 年 5 月、大阪

- 7) 三浦智行、コズレフユーリ、阪井弘治、篠原克明、高橋栄治、鈴木元、伊吹謙太郎、速水正憲:サル/ヒト免疫不全キメラウイルス感染性クローンにおける塩基置換と病原性との関連。日本ウイルス学会 第 51 回学術集会・総会、2003 年 10 月、京都
- 8) 篠原克明:バイオハザード対策設備における防護服について。第一回日本防護服研究会学術総会、2004 年 2 月、東京
- 9) 高木弘隆、篠原克明、杉山和良:汎用洗剤中の各種界面活性剤によるウイルス不活性化効果について。第 31 回日本防菌防黴学会年次大会、2004 年 5 月、東京