

2024年度 病原体等の取扱いに関する教育訓練 特別教育訓練

山口大学バイオセーフティ委員会

BSL-3実験室の使用について

実験室

- ・特定病原体を扱うBSL-3実験室
- ・その他の病原微生物を扱うBSL-3実験室

教育訓練の対象者

- ・BSL-3の病原体を扱う者
- ・BSL-3実験室に立ち入る者
(一時的に実験室に立ち入る者は病原体等取扱責任者が行う)
- ・BSL-3の病原体の保管庫がある管理区域に立ち入る者は、
一般教育訓練を受講

BSL-3実験室で扱う病原体

真菌

3	Blastomyces dermatitidis Coccidioides immitis (三種) Histoplasma capsulatum¹⁾ Histoplasma farciminosum Paracoccidioides brasiliensis Penicillium marneffeii
1) H. capsulatum var capsulatum と H. capsulatum var duboisii の両 variantを含む。 註：Aspergillus spp., Chaetomium spp., Fusarium spp., Myrothecium spp., Penicillium spp., の毒素産生株はBSL2扱いとする。	

細菌

Bacillus	B. anthracis (二種) B. anthracis (34F2, Davis株)	Orientia	O. tsutsugamushi
Brucella	B. spp.全菌種 B. abortus (三種) B. canis (三種) B. suis (三種) B. melitensis (三種)	Pasteurella	P. multocida (B:6, E:6, A:5, A:8, A:9)
Burkholderia	B. mallei (三種) B. pseudomallei (三種)	Rickettsia	(Spotted fever group)
Coxiella	C. burnetii (三種)		R. japonica (三種)
Francisella	F. tularensis (二種) (亜種ツラレンシス及びホルアークティカ。ただし LVS 株は除く)		R. rickettsii (三種)
	F. tularensis (亜種ツラレンシス B38 株)	Salmonella	Spotted fever group R. spp.
Mycobacterium	M. africanum M. bovis (B C Gを除く) M. tuberculosis (四種) (多剤耐性菌を除く) M. tuberculosis (三種) (多剤耐性菌に限る)		(Epidemic typhus group)
		Yersinia	R. prowazekii (三種)
			Epidemic typhus group R. spp.
			S. enterica
			serovar Paratyphi A (四種)
			serovar Typhi (四種)
			Y. pestis (二種)

BSL-3実験室で扱う病原体

3	Alphavirus	Chikungunya virus Eastern equine encephalitis virus (三種) Getah virus Mayaro virus Semliki Forest virus Venezuelan equine encephalitis virus (三種) Western equine encephalitis virus (三種)
	Betacoronavirus	Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS coronavirus) (三種)
	Coltivirus	Colorado tick fever virus
	Coronavirus	Severe acute respiratory syndrome (SARS coronavirus) (二種)
	Flavivirus	Kyasanur Forest disease virus (三種) Omsk hemorrhagic fever virus (三種) Louping ill virus Murray Valley encephalitis virus Powassan virus St. Louis encephalitis virus Tick-borne encephalitis virus (三種) West Nile virus (四種) Yellow fever virus (17D vaccine strainを除く) ¹⁾ (四種)
	Influenzavirus A	Influenza A virus (四種) (H5N1又はH7N7の強毒株、および新型インフルエンザ等感染症の病原体 (「厚生労働大臣が定める三種病原体等及び四種病原体等」 (平成19年厚生労働省告示第202号) に規定されるものを除く)
	Lyssavirus	Influenza A virus ²⁾ Rabies virus (三種) (CVS, ERA, Flury Fuenzalida S-51, Fuenzalida S-91, Kelev, LEP, Nishigahara, Paris Pasteur, PM, PV, SAD, Vnukovo-32株及びHEP, RC-HL株を除く)
	Phlebovirus	Lagos bat virus, Mokola virus 他 Rift Valley fever virus (三種) Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTS) (三種)
	Simplexvirus	Cercopithecine herpesvirus ¹⁾ (三種) (B ウイルス)
1) 診断検査のための少量培養に限る。 2) H5またはN7の強毒株		

ウイルス

Hantavirus	Hantaan virus (三種) Seoul virus (三種) Dobrava-Belgrade virus (三種) Puumala virus (三種) Andes virus (三種) Sin Nombre virus (三種) New York virus (三種) Bayou virus (三種) Black Creek Canal virus (三種) Laguna Negra virus (三種)
Henipavirus	Nipahvirus ¹⁾ (三種) Hendra virus ¹⁾ (三種)
Lentivirus	Human immunodeficiency virus 1 Human immunodeficiency virus 2

リストにないが、BSL-3相当と考えられる病原体（新規にみつけたもの等）については、根拠を示して申請

病原体等の取扱い（保管、使用等）に関する手続き

<https://ds0n.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~ken-san/gakunai/rinri/byougentai/toriatukai.html>

病原体等の適正な管理及び取り扱い等について

山口大学では、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律及び家畜伝染病予防法の規定に基づき、本法人における病原体等による感染症の発生を予防し、及びそのまん延を防止するため、「国立大学法人山口大学病原体等安全管理規則」及び「国立大学法人山口大学病原微生物安全管理要項」を制定し、本法人において取り扱う病原体等の安全管理に関し必要な事項を定めています。

- ▶ [国立大学法人山口大学病原体等安全管理規則（令和4年3月30日改正）](#)
- ▶ [国立大学法人山口大学病原微生物安全管理要項（令和3年8月1日施行）](#)
- ▶ [国立大学法人山口大学バイオセーフティ委員会規則（令和3年7月30日改正）](#)
- ▶ [山口大学における事業所内の病原体等運搬要領（令和3年8月1日施行）](#)

<管理体制>

[病原体管理等の規則の見直し（2021.8.1）](#)

本学において、病原体等を保管及び取り扱う場合には、同規則を遵守し、必要な手続きを遺漏なく行うようにして下さい。

<申請・届出等の様式> [手続きフロー](#)

【病原体等】 ※特定病原体等及び監視伝染病病原体

- [様式1 病原体等取扱実験室申請書](#)
- [様式2 病原体等取扱実験室終了届](#)
- [様式3 病原体等使用・保管申請書](#)
- [様式4 病原体等受入申請書](#)
- [様式5 病原体等分与申請書](#)
- [様式6 病原体等廃棄届](#)
- [様式7 病原体等運搬申請書](#)

【病原微生物】

- [様式1 病原微生物使用・保管届出書（BSL1、BSL2）](#)
- [様式2 病原微生物使用・保管申請書（BSL3）](#)
- [様式3 病原微生物供与申請書（BSL3）](#)
- [様式4 病原微生物使用終了報告書](#)

<関係法令・規則等>

- 特定病原体等

病原体等使用・保管申請書

国立大学法人山口大学長 殿

部局

部局長

職名・氏名

病原体等取扱責任者

研究室等名

職名・氏名

国立大学法人山口大学病原体等安全管理規則第 12 条第 1 項の規定に基づき、特定病原体等又は監視伝染病病原体の使用・保管を申請します。

記

1. 病原体等の名称	名称		分類 ¹⁾	使用する BSL
				☐ BSL-2 ☐ BSL-3
2. 使用・保管の目的				
3. 実験方法				
4. 使用する実験室等			☐ BSL-2 ☐ BSL-3	
5. 保管場所				
6. 期間（最長5年間）	年 月 日 ～ 年 月 日			
7. 病原体等を外部機関から受入れる場合	外部機関名			
	相手先機関の責任者	氏名		
		所属・職名		
		住所		
	受入れ予定日	年 月 日		

¹⁾ ①二種病原体等、②三種病原体等、③四種病原体等、④重点管理家畜伝染病病原体、⑤要管理家畜伝染病病原体、⑥届出伝染病等病原体のいずれかの番号を記載

安全責任者（自署）

病原微生物使用・保管申請書

学 長 殿

部局

部局長

職名・氏名

病原体等取扱責任者

研究室等名

職名・氏名

下記の病原微生物の使用及び保管について申請します。

記

1 病原微生物の名称			
2 病原微生物を取扱うBSL	BSL-3		
3 BSLの根拠			
4 使用・保管の目的			
5 病原微生物の使用場所			
6 病原微生物を用いる実験の方法			
7 病原微生物の保管場所			
8 病原微生物の保管の方法			
9 実験実施期間	(自) 年 月 日 / (至) 年 月 日		
10 実験終了後の病原微生物の処理	☐ 廃棄 ☐ 保管 滅菌の方法 ()		
11 病原微生物取扱責任者が受けた教育訓練の受講年月日	一般教育訓練	年 月 日	
	特別教育訓練	年 月 日	
12 その他特記事項			

安全責任者（自署）

病原体等管理の運用、責任体制

山口大学



病原体等所持者（学長）

病原体取扱主任者

山口大学バイオセーフティ委員会

委員長、病原体取扱主任者、安全責任者(部局の代表)、その他



各部局

部局等の長

部局ごとの規則、ルール等

安全責任者



山口大学病原体等
安全管理規則

病原体等ごと

病原体等取扱責任者

病原体等取扱者

実験室の立入り者

マニュアル等（実験室、
作業、記録等）



山口大学病原微生物
安全管理要項

病原微生物ごと

病原微生物取扱責任者

病原微生物取扱者

実験室の立入り者

マニュアル等（実験室、
作業、記録等）



表2 リスク群分類と、BSレベル分類の関連、主な作業方式、機器

リスク群	BSレベル	実験室の型	作業方式	安全機器
1	基本－ BSレベル1	基本教育、 研究	GMT	特に無し；開放型作業台
2	基本－ BSレベル2	一般医療，診断 検査、研究	GMT+ 保護衣、 バイオハザード標識	開放型作業台＋エアロゾ ル発生の可能性ある場 合はBSC
3	封じ込め－ BSレベル3	特殊診断検査、 研究	BSレベル2＋特別な保 護衣、入域の制限、一 定気流方向	全操作をBSC/ ないし、 その他の封じ込め機器 を用いて行う
4	高度封じ込め 実験室－ BSレベル4	特殊病原体施設	BSレベル3＋入口部は エアロック、出口に シャワー、特別な廃棄 物処理	クラスⅢ BSC または陽圧 スーツ＋クラスⅡ BSC, (壁に固定した) 両面オートクレーブ； 給排気は濾過

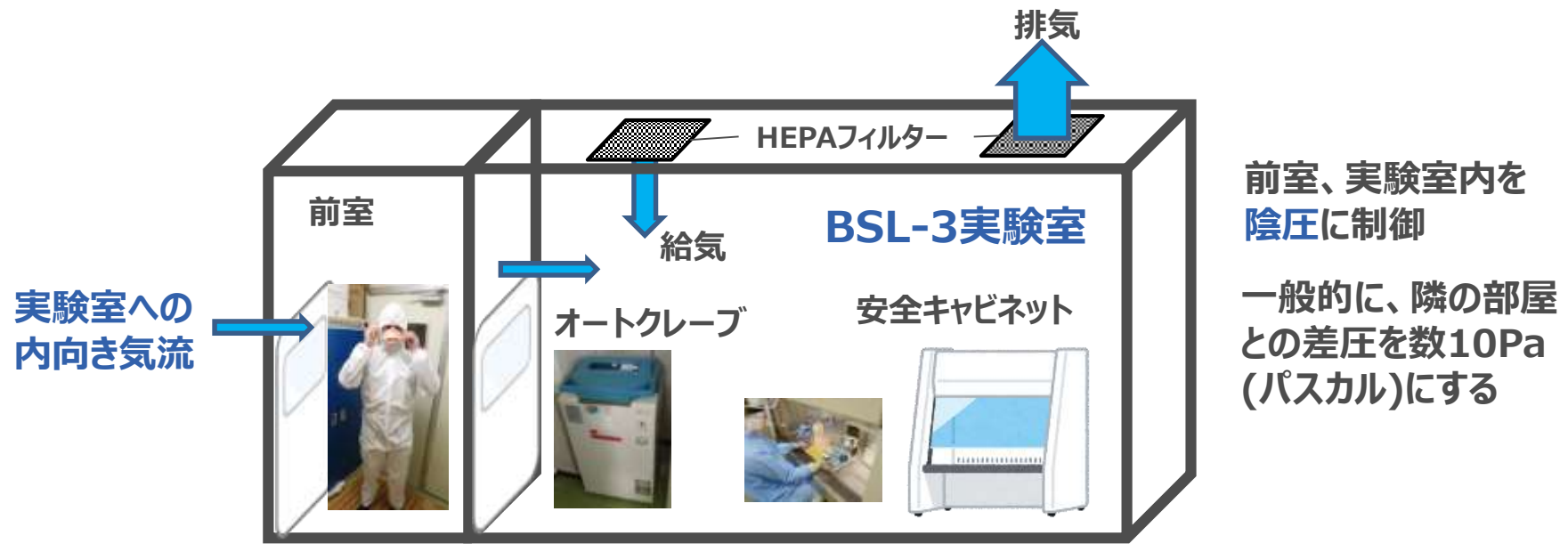
略語：BSC, 生物学的安全キャビネット；GMT, 基準微生物実験技術（本指針第Ⅳ部参照）

BSL-3施設基準の要約

WHO Laboratory Biosafety Manual –
Third Editionより

	BS レベル			
	1	2	3	4
実験室の隔離 ^a	不要	不要	要	要
汚染除去時の実験室気密封鎖性能	不要	不要	要	要
換気：				
内側への気流	不要	望ましい	要	要
制御換気系	不要	望ましい	要	要
排気のHEPA濾過	不要	不要	要 / 不要 ^b	要
入口部二重ドア	不要	不要	要	要
エアロック	不要	不要	不要	要
エアロック+シャワー	不要	不要	不要	要
前室	不要	不要	要	—
前室+シャワー	不要	不要	要 / 不要 ^c	不要
排水処理	不要	不要	要 / 不要 ^c	要
オートクレーブ：				
現場処理	不要	望ましい	不要	要
実験室内	不要	不要	望ましい	要
両面オートクレーブ	不要	不要	望ましい	要
生物学的安全キャビネット	不要	望ましい	要	要
職員安全モニタリング設備 ^d	不要	不要	望ましい	要

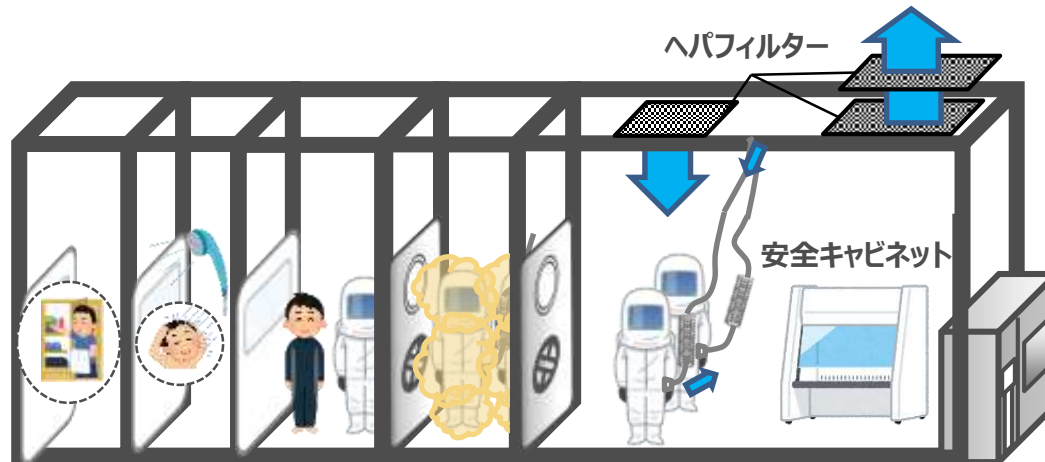
BSL-3実験室設備の概略



ちなみに

BSL-4実験室では、実験室内の陰圧制御は高度なシステムが必要

BSL-4
(スーツタイプ)



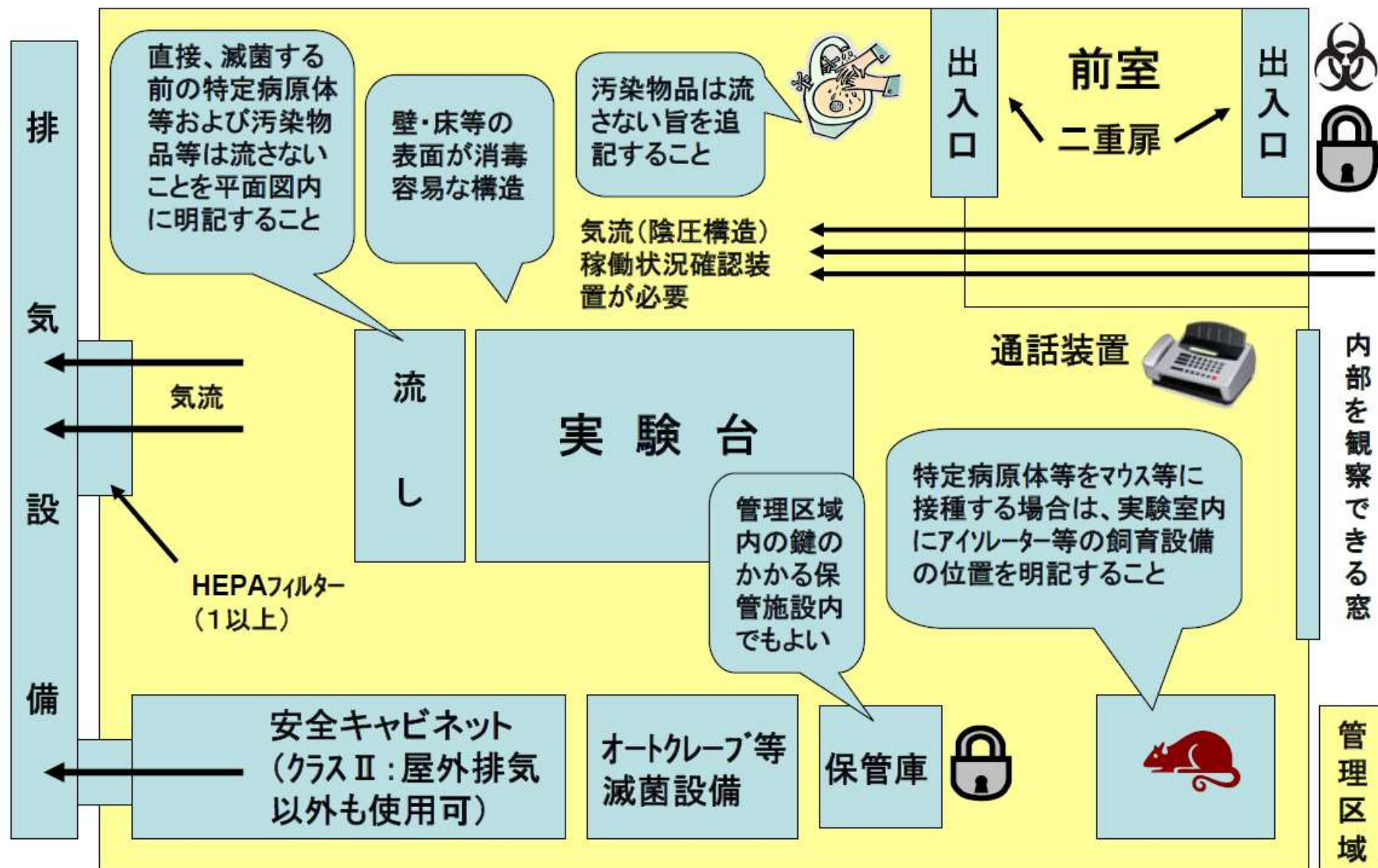
実験室の気密性が非常に高い
作業者のスーツから部屋の中に給気されている

ドアを開けた瞬間に隣の部屋との差圧は0になる

密閉式ダクト (クラスIIB) の安全キャビネットは影響が大きい
➡基本的には推奨されない

感染症法におけるBSL-3実験室の例

実験室の施設基準例示(三種病原体等で**BSL3相当**に分類されるもの)



病原体等安全管理規則における施設の位置，構造及び設備の基準

対象病原体等のBSL		BSL-3
位置(地崩れ，浸水のおそれの少ない場所)		○
耐火構造又は不燃材料(建築基準法)		○
管理区域(例)		「実験室」， 前室(検除く。)， 保管庫， 滅菌設備等
保管施設(庫)		「実験室」 内・管理区 域内
	施錠等の設備・器具	○
	通行制限等措置	○

鍵	○
専用の前室	○(検除く。)
インターロック又は準ずる二重扉	○(検除く。)

壁・床・天井等の耐水・気密，消毒	○
壁・床等の消毒	○
通話又は警報装置	○
窓等措置	○(検除く。)
安全キャビネット	○(クラスⅡ以上)

給気設備	○
HEPA	○
稼働状況確認の装置	○

排気設備	○
HEPA	○(1以上)
再循環防止の措置	○
差圧管理できる構造	○
稼働状況確認の装置	○
排水設備	○
感染動物の飼育設備	実験室内
滅菌設備	実験室内又は取扱施設内(検に限る。)

点検・基準維持	年1回以上
---------	-------

実験室での基本的な作業

-BSL-3実験室での作業例-

安全管理マニュアル

403 室 404 室
BSL-3 実験室 安全管理マニュアル

2023 年 8 月 7 日

実験室管理者：下田 宙
安全責任者（共同獣医学部）：清水 隆
取扱い主任者（全学）：早坂 大輔

作業員について (Authorized person)

- ・実験室の使用は、教育訓練受講者に限る。教育訓練は山口大学バイオセーフティ委員会が毎年度実施する一般教育訓練、特別教育訓練の受講記録があること。また、初めて入室する者は実験室管理者または実験室管理者の指定する者の現地教育訓練を受講すること。
- ・機器の点検、修理等で一時的に立ち入るものは、実験室管理者または実験室管理者の指定する者の臨時教育訓練を受け、指示に従って入室すること。
- ・実験室内での作業は、作業責任者の指示に従うこと。(You have to observe the rule.)
- ・実験室に立ち入るものは、許可を得たものに限り、入室すること。(Only authorized person can enter.)
- ・病原体を取扱う者は、毎年度、教育訓練を受け、教育内容に従って実験を行うこと。(You have to participate in annual training course for BSL3.)
- ・病原体を取扱う者は、各々の病原体の使用届にて使用者登録が済んでいること。

入室について

- ・差圧計を確認し、異常がないことを確認する。
- ・入室記録に記入する。
- ・入室時には、防護服、マスク、グローブ、ブーツ(長靴)を着用すること (Wear laboratory protective clothing, mask, disposable gloves and boots, when entering laboratory rooms).
- ・退室時には、ブーツを消毒薬槽に浸し、防護服表面に消毒薬をスプレーすること (Dunk boots into disinfectant tank and spray disinfectant on the surface of laboratory protective clothing).

病原体取扱いについて (Handling the pathogens)

- ・病原体を使用する際には、白衣、手袋を着用すること。(Wear white lab coat and disposable gloves when working with infectious virus.)
- ・病原体の使用は、安全キャビネット内で行うこと。(Use a safety cabinet.)
- ・作業前に、作業場所の近くに消毒薬 (70%エタノール、1,000 ppm 次亜塩素酸など) を備えること。
- ・実験終了後、病原体や病原体の付着したものは、適切な滅菌処理を行うこと。(Sterilize (autoclave) materials after use.)
- ・実験終了後は手洗いをすること。(Wash your hands after doing experiment.)

安全キャビネットについて (Safety Cabinet)

- ・安全キャビネットは、正常に作動していることを確認してから使用すること。(Check that the safety cabinet works properly.)
- ・安全キャビネット内には最小限のものをおき、空気の流れを遮らないようにすること。(Place minimum number of equipment in the cabinet. Don't leave any stuff on the air inlet.)

- ・病原体の付着したものは(チップ、ピペットなど)はオートクレープバッグに捨てること。(Put waste plastic pipettes, chips and tubes into an autoclave bag.)
- ・病原体に汚染された廃液は、廃液タンクに捨てること。(Discard contaminated liquid into the waste tank.)
- ・病原体をこぼしてしまった場合は、消毒薬で消毒し、ペーパータオルで拭き取る。(If you spill infectious agents, spray ethanol and then wipe them off with cotton or tissue paper.)
- ・作業後、使用したものは消毒薬で清拭してからキャビネット外に出すこと。(After use, spray 70% ethanol to equipment and wipe with cotton or tissue paper. Don't keep inside the safety cabinet.)
- ・作業後、ガスの元栓は閉めること。UV ランプを点灯すること。(Keep minimum stuff inside safety cabinet and keep UV. Don't forget to close the stop cock of gas.)

滅菌処理、廃棄物について (Waste disposal)

- ・オートクレープ装置は、使用前に水量(タンク、排水ボトル等)を確認すること。(Confirm the correct water level of autoclave machine before use.)
- ・オートクレープ処理は、ケミカルインジケーターにより滅菌物が滅菌処理されていることを確認すること。(Check indicator tape.)
- ・ゴミは分別して捨てること。(Discard autoclaved stuff separately as burnable, plastic, or aluminum foil.)
- ・感染性物質を不活化処理なしで流しに捨てないこと。(Don't contaminated samples into the sink.)

病原体管理について (Pathogens stock)

- ・病原体は定められた保管庫に保管し、施錠すること。(Place them in the assigned location. Lock the door of freezer.)
- ・病原体使用保管の記録をとること。(Submit your pathogen list to PI.)

その他 (Remarks)

- ・実験室内は整理整頓に努めること。(Keep the lab cleanliness and tidiness.)
- ・使用後は掃除をすること。

緊急時対応 (Emergency)

- ・事故が発生したときは直ちに、実験室管理者、作業責任者、安全責任者等に連絡して適切な対応をすること。(If you have an accident during pathogen experiment, inform the staff immediately and follow his/her instructions.)
- ・夜間、休日の際は緊急連絡網に従って連絡をし、指示を仰ぐこと。
- ・地震発生時は実験を中止し、揺れが納まったら、感染性サンプルを安全な場所へ確保し避難すること。(In a state of emergency (fire, earthquake, etc), keep infectious samples in the safety place or soak them with disinfectant solution.)
- ・火災発生時は、感染性サンプルを安全な場所へ確保し避難すること。
- ・退避は通常の退路で行い定められた避難場所に避難すること。(Evacuate immediately through the normal way.)

BSL-3実験室使用の手順（例）

入室にあたって、室内差圧、内向き気流（陰圧）を確認

入室（安全キャビネット使用）の予約を確認

予約がなければ使用できるが、使用記録の役割も兼ねるので記入する

持ち込む物品、サンプル等をパスボックスに入れる

認証されたカードキーや鍵を用いて開錠し、入室する

カードキーは認証された本人のみが使用、**貸借りは厳禁**
鍵の場合は、鍵を管理しているものから記帳して借りる



入り口で靴を脱ぐ

ドアはインターロック



入退室の日（時）、氏名、所属、部屋、使用病原体名、室内差圧を記帳



Date	In	Out	Family name	First name	Department	Room	Pathogens	pressure	Remark
2020 / 12 / 22	9: 00	10:30	〇〇	△△	□□研究室	310	○×ウイルス	- 20Pa	オートクレープエラー
2020 / 12 / 23	14: 00	15:15	〇〇	△△	□□研究室	310	○×virus	- 20Pa	
202 / /	:	:						- Pa	

防護服の着用

病原体を使用しなくても入室の際には必ず着用すること

防護服、マスクは破損、汚染がないか確認すること

必要に応じてキャップを着用



マスク（N95マスク）を着用



防護服を着用

長靴を使用しない場合、足カバーを着用



防護服の着用

グローブの着用（病原体使用時は2重）
袖をおおう



必要に応じて腕カバー



長靴もしくは
足カバー＋サンダル



前かけ、フェイスガードを着用
（病原体使用時必須）



肌の露出をしない

実験の準備

クラスII タイプの安全キャビネット
スイッチを入れ作動を確認
(15分間ほど実験前運転)



使用前に消毒薬を準備



マイクロケムプラス



消毒薬は
病原体に有効なもの、
オートクレーブができるものを用いること

次亜塩素酸ナトリウムなどは使用しないこと
(さびの原因となる)



10%SDS

実験の実施



カバーを敷く

安全キャビネット内に入れる器具
などは最小限にとどめる

病原体の取扱いは、SOPに従う

病原体の入った液体を扱う際は、泡
を立てないなど気をつける

汚染したチップ、ピペットなどは、消
毒薬に入れる（いちどリンスする）

火は原則使用しない



溢流時（こぼした場合）の対応

ベンチのそばに、有効な消毒薬（マイクロケムプラス、10%SDS、70%エタノールなど）を準備しておくこと

病原体をこぼしてしまった場合、ペーパータオルで覆い、消毒薬をかける。
10分以上放置後、ペーパータオルを回収、消毒薬で速やかに拭き取る



実験後の処置

器具は、使用後、消毒薬（70%アルコール等）で清拭してから、安全キャビネット内に残さず、所定の場所に戻す

タイマーで自動的にUVランプが消える



UVランプを点灯
（数分～数十分で
効果があるので、つ
けっぱなしにする必
要はない）



汚染物等を滅菌缶にいれる 消毒薬容器はアルミホイル等でふたをする



滅菌

BSL-3実験室の廃棄物はオートクレーブ滅菌後に搬出

水量を確認



インジケーターをいれること



インジケーターは121℃以上で15分以上
が確実に確認出来るものが望ましい

オートクレーブ滅菌の記録をとること

BSL-3 実験室 (403) オートクレーブ滅菌記録
病原体の種類: 二種病原体
滅菌条件: 121℃、20 分間

年	月	日	滅菌者 (氏名)	病原体名	滅菌物	備考
202	/	/				
202	/	/				
202	/	/				
202	/	/				
202	/	/				
202	/	/				
202	/	/				

蒸気滅菌であることに留意 ➡ 滅菌条件は蒸気が触れる部分
➡ 動物死体等は温度、時間を考慮

オートクレーブ不可の物品や不活化処理に用いたプレート、チューブ等は、
表面を確実に消毒してから搬出

清掃

はきそうじ



ふきそうじ



特に安全キャビネットのまわり

モップに消毒薬の準備



退室

退室前に保管庫の鍵を確認すること



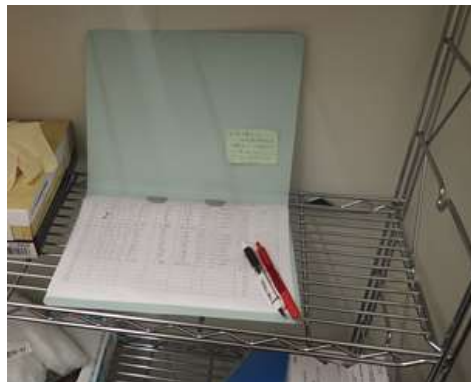
退室時、防護服の表面をアルコールスプレーなどで消毒



オートクレーブ完了後の廃棄物は、
滅菌インジケーターを確認後、
パスボックスを介して搬出



入退室記録に退出時刻
を忘れずに記入



退室後は手を洗う



非常時の対応

非常事態や緊急事態（人災、天災、汚染事故、施設異常、実験者の体調不良、不審者侵入など）に備え、

緊急時・非常時**対応マニュアル**を作成し、対応の準備をしておくこと

緊急連絡網を作成し、**実験室に掲示**しておくこと

アクシデントがあった場合には、

パニックにならず

実験を中止し、病原体を安全な場所へ確保し

周囲の者へ伝え

作業責任者、安全責任者へ報告

状況に応じて、速やかに避難する

大規模な地震、火事発生時は、速やかに実験を中止し退避する

その際、病原体を密閉容器に入れ保管庫にいれる、または、消毒薬等で不活化する、などの処理を行い、安全を確保した後に避難する

まとめ

病原体取扱い、実験室利用に際し、自身、周囲の者、動物、環境への感染が起こった場合の重大性をしっかりと認識すること

病原体の取扱いには、正しいバイオセーフティ、バイオセキュリティを知り、実践すること

規則・ルールは守ること

問題が発生したら決して隠さずスタッフに知らせること