

フローサイトメトリーオペレーター保護のためのエアロゾル化蛍光微粒子の定量化 Flow Cytometry, CEA-DSV-iRCM, Fontenay-aux-Roses (フランス)



Context

フローサイトメトリーセルソーティングは、液滴の静電帯電により、異種のサンプルから特定の細胞型を精製する際に広く使用されている。セルソーティング中に発生するバイオハザードな試料成分（例えば HIV など）を含む可能性のあるエアロゾルからオペレーターを守るため、Class II バイオロジカルセイフティキャビネット (BSC) には通常、セルソーティング機器が備え付けられている。蛍光微粒子の高濃縮懸濁液を Becton-Dickinson InFux セルソーターにより、BSC を作動させながら、或いは作動せずに、通常モードと故障モードで実行することにより、この保護対策の有効性評価を行った。故障モードでは”ノズル”の（部分的）閉塞により、多量のエアロゾルが発生。コリオリス μ エアサンプラーを使い、フローサイトメトリー解析 (BD SORP-LSRII) により捕集サンプル中に存在する蛍光微粒子を計測した。



Material

- コリオリス μ エアサンプラー、滅菌済サンプルカップ、捕集液 (H₂O/0.005% トリトン X100)
- Baker Class II BSC 内に Becton-Dickinson InFux セルソーター ; PolySciences YG 蛍光ビーズ (2 μ m)
- Becton-Dickinson SORP-LSRII アナライザー



Protocol

実験はすべて BSL2 ラボ環境にて実施。一連の実験サンプリングの開始前と終了時のラボ環境をサンプリング (毎分 300L で 3,000L)。実験サンプルは代表的な “オペレーター露出ゾーン” である BSC オペレーター固定位置で捕集 (毎分 250L で 1,000L) (図 1)。
捕集液を遠心分離により濃縮後、Becton-Dickinson SORP-LSRII アナライザーで解析。蛍光マイクロビーズは 3 重にカウントし、各サンプル量の最低 25% を解析。



Results

BSC を作動してテストした全の試験条件で、ラボ環境へのエアロゾル化蛍光微粒子分散は検出不可、或いはバックグラウンドレベル (以下) に減少 (1)。しかしながら、BSC が作動していない場合 (2)、特に故障モード (3) で相当量がラボ環境に遊離。このエアロゾル化粒子は、一般的ラボ環境 (after) に於いても故障モードシナリオ終了後に検出 (4) (図 2)。

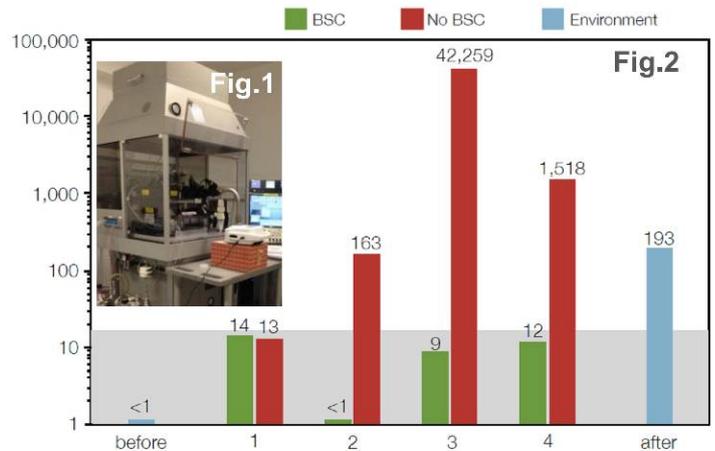
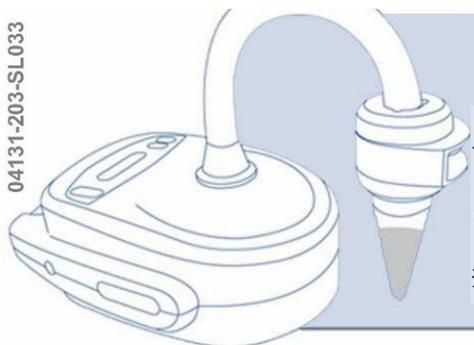


図 2 : BSC プロテクション有り或いは無しの異なる操作条件下での “オペレーターセイフティゾーン” 内のビーズ濃度 (1 m³あたりのビーズ)。ビーズが検出されなかった場合の値は “<1” と表示。1 m³あたり 15 ビーズ以下は 3 ビーズ以下のカウントとし “バックグラウンド” (グレイエリア) と見なす。 ” オペレーターセイフティゾーン “から約 2m 離れた一般的ラボ環境から一連の実験測定の前後にサンプリングを実施

捕集条件は、(1) 作動蛍光マイクロビーズなし ; (2) 作動蛍光マイクロビーズを毎秒 50,000 で捕集チューブに振り分け (“ソート”) ; (3) 故障モードで毎秒 50,000 で作動の蛍光マイクロビーズ ; (4) 作動マイクロビーズなし、故障モード停止 30 秒後。これらの条件で作動 BSC が有る時と無い時で実験。

04131-203-SL033



Conclusion

この予備調査結果は、BSC 内でジェットエアフローサイトメトリーセルソーターを作動することにより、オペレーターへの安全性提供に効果があることを明確に示している。

コリオリス μ エアサンプリングは、フローサイトメトリー蛍光マイクロビーズカウントとの連動により狭い閉鎖空間の環境を極めて高感度に迅速 (5 分以内) に定量的に検査できる方法である。