

病態モデル先端医学研究センターにおける微生物学的統御に関する指針

施行 平成 21 (2009).12. 1

改正 令和 4(2022). 4. 1

はじめに

:動物実験とは、実験処置によって動物が示す反応を観察し、その反応を通して加えた実験処置がヒト等にどのような効果や影響をもたらすかを推測(外挿)することである。動物実験では、動物の反応に再現性がみられることが重要であるが、その再現性を得るためには、実験動物の微生物学的統御が適切になされていなければならない。そこで、本「微生物学的統御に関する指針」は、病態モデル先端医学研究センター(以下病態モデルセンターという)内の疾患モデル動物(実験動物)における「微生物モニタリング項目」と「感染した際の対応策」を明文化することによって、病態モデルセンターをできるだけ早く「再現性の高い動物実験」が行える微生物学的環境に戻すことを目的として設定する。

1. 病態モデルセンターにおける微生物モニタリング項目を下記のように取り決める。

1) 搬入動物

【目的】病態モデルセンターには、「適切に微生物学的統御がなされている動物」のみを搬入する。

- (1) 三大繁殖業者(日本チャールスリバー、日本クレア、日本 SLC)から、SPF レベルのマウス・ラットを購入する場合は、ヘルスレポート(モニタリング結果)の提出を免除する。
- (2) 三大繁殖業者以外の繁殖場からマウス・ラットを搬入する場合、事前に「1 ヶ月以内のヘルスレポート(モニタリング結果)」と「過去1年間のヘルスレポート(モニタリング結果)」を提出し、センター長の許可を得る。微生物モニタリング項目は、ICLAS モニタリングセンター(以下 ICLAS と略)の【従来セット項目】以上とする。
参考 : <https://www.iclasmonic.jp/microbiology/inspection/mouse.html>
- (3) 動物実験責任者が、(1)と(2)以外から病態モデルセンターにマウス・ラットを搬入する場合には、
 - (a) 原則、凍結胚あるいは凍結精子により搬入する。生体化は、委託業者あるいは病態モデルセンターの技術支援によって行い、これらに掛かる費用は受益者負担とする。
 - (b) マウス・ラットを生体でのみしか搬入できない場合には、「実験動物授受のための動物の健康及び飼育形態調査レポート(様式 10)」と「過去1年間のヘルスレポート(モニタリング結果)」を提出し、センター長の許可を得る。センター長から指定された検疫室等に動物を搬入後、SPF へのクリーナップを行う。これらに掛かる費用は受益者負担とする。
- (4) マウス・ラット以外の小動物の微生物モニタリングは、上記(1)-(2)に準ずる。
- (5) モルモット・ウサギなどの中動物等の微生物モニタリングは、上記(1)-(2)に準ずる。
- (6) 培養細胞を病態モデルセンターに持ち込む際には、別に定める「動物実験に使用する培養細胞の微生物モニタリングガイドライン」に従う。
- (7) 患者あるいは動物由来の組織を持ち込む際には、別に定める「動物実験に使用する組織塊(組織片)の微生物モニタリングガイドライン」に従う。

* 藤田医科大学に搬入したマウス・ラットは、感染事故発生時あるいは自然災害等に備え、研究責任者および動物実験責任者が、凍結胚あるいは凍結精子にて保存する。これらに掛かる費用は受益者負担とする。

参考 : <http://www.fujita-hu.ac.jp/CAMHD/CAMHD/support.html>

2) 定期的微生物モニタリング

【目的】微生物学的統御が維持されていることを確認する。

(1) SPF 飼育室

使用基準: 自家繁殖による継代・維持を行うマウス・ラット、免疫不全マウス・ラット、手術等特殊な処置を行うマウス・ラットとする。

微生物モニタリング: 3ヶ月に一度とし、年に1回以上項目 A(従来セット)について検査を実施し、それ以外は、項目 B を検査する。これらに掛かる費用は受益者負担とする(2021 年度以降)。

項目 A(従来セット項目)

参考 : <https://www.iclasmonic.jp/microbiology/inspection/mouse.html>

		マウス	ラット
培養 I	腸粘膜肥厚症菌 <i>Citrobacter rodentium</i>	■	
	ネズミコリネ菌 <i>Corynebacterium kutscheri</i>	■	■
	肺マイコプラズマ <i>Mycoplasma pulmonis</i>	■	■
	肺パスツレラ <i>Pasteurella pneumotropica</i>	■	■
	サルモネラ <i>Salmonella</i> spp.	■	■
	気管支敗血症菌 <i>Bordetella bronchiseptica</i>		■
	肺炎球菌 <i>Streptococcus pneumoniae</i>		■
血清反応 I	ティザー菌 <i>Clostridium piliforme</i> (Tyzzer 菌)	■	■
	肺マイコプラズマ <i>Mycoplasma pulmonis</i>	■	■
	センダイウイルス Sendai virus	■	■
	エクトロメリアウイルス <i>Ectromelia virus</i>	■	
	リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス LCM virus	■	
	マウス肝炎ウイルス Mouse hepatitis virus	■	
	腎症候性出血熱ウイルス Hantavirus		■
	唾液腺涙腺炎ウイルス <i>Sialodacryoadenitis virus</i> (SDAV)		■
鏡検 I	消化管内原虫	■	■
	外部寄生虫	■	■
	蟻虫	■	■

項目 B

マウス肝炎ウイルス(マウスのみ)	Mouse Hepatitis Virus: MHV
センダイウイルス	Sendai Virus, Hemagglutinating Virus of Japan: HVJ
肺マイコプラズマ	<i>Mycoplasma pulmonis</i> : Mp
ティザー菌	Tyzzer, <i>Clostridium piliforme</i>
唾液腺涙腺炎ウイルス(ラットのみ)	<i>Sialodacryoadenitis Virus</i> : SDAV

(2) コンベンショナル飼育室

使用基準:購入したマウス・ラットあるいはモルモット・ウサギおよび SPF 飼育室で繁殖したマウス・ラットを実験に供する際に利用する。

原則、自家繁殖による継代・維持を行うことはできない。

微生物モニタリング:6ヶ月に一度、項目 C を検査する。また、ラットは年に1回以上腎症候性出血熱ウイルス(Hantavirus)の検査を実施する。これらに掛かる費用は受益者負担とする(2021 年度以降)。

項目 C

マウス肝炎ウイルス(マウスのみ)	Mouse Hepatitis Virus: MHV
センダイウイルス	Sendai Virus, Hemagglutinating Virus of Japan: HVJ
肺マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis: Mp
ティザー菌	Tyzzer, Clostridium piliforme
唾液腺涙腺炎ウイルス(ラットのみ)	Sialodacryoadenitis Virus: SDAV

(3) マウス・ラット以外の小動物の微生物モニタリングは、項目 C に順ずる。

(4) モルモット・ウサギなどの中動物等の微生物モニタリングは、病態モデルセンターの指示に従う。

2. 微生物モニタリング方法を下記のように定める。

【目的】積極的に微生物モニタリングを行い、疾患モデル動物の品質を担保すると共に、感染事故を早期に発見することで被害を最小限に抑える。

1) 微生物モニタリング対象

(1) モニター動物配布日に疾患モデル動物(実験動物)を飼育している場合には、飼育動物数やその後の飼育期間に関わらず微生物モニタリング対象とする。

(2) 動物実験責任者は、病態モデルセンターが用意するモニター動物(マウスあるいはラット)を用い、飼育しているすべての動物をモニターする。

2) モニター動物の数

:以下の様に原則を定めるが、緊急時にはセンター長の指示に従う。

(1) モニター動物は、同一講座が複数のラックを使用して動物を飼育している場合は、1匹/(3ラック以内)とする。ただし、同一講座であっても異なる飼育室を利用している場合や飼育担当者が異なる場合は、各々に対してモニターを実施する。

(2) モニタリング開始2週間前に病態モデルセンターよりモニタリング実施リストが掲示されるので、動物実験責任者は確認の上、モニタリング実施期間内に動物の増減が予定される場合は病態モデルセンター動物管理室に申し出る。

動物実験責任者は病態モデルセンターに、モニター動物を収納する飼育ラックを指定する。

病態モデルセンター職員は指定された飼育ラック内に搬入する。モニター動物のケージを置く場所は、感染事故を検出しやすい最下段や排気口付近とする。

3) モニター動物飼育方法

:動物実験責任者は、モニター動物の検査によって確実に微生物を検出するために、以下の方法でモニター動物を飼育する。

- ・ケージに張り付けてあるケージカード(ラベル)は重要なので、失わないようにする。
- ・床替え時、ラック毎に「飼育している動物のすべてのケージの床敷(糞尿を含む汚れたチップ)」を少しずつモニター動物用の新しいケージに入れる。そのケージ内で、モニター動物を次の床替えまで飼育する。
- ・モニター動物は感染事故を検出しやすい最下段や排気口付近で飼育する。

4) モニター動物飼育期間

:モニター動物飼育期間は原則8週間以上とする。

5) モニター動物の回収

病態モデルセンター職員が、病態モデルセンターが指定する日に回収する。ケージカード(ラベル)が失われている場合、回収しないことがある。この場合、動物実験責任者が ICLAS に検査を依頼(費用は動物実験責任者負担とする。)し、結果を病態モデルセンターに報告する。報告期限は、モニター動物回収日から2週間以内とする。

6) モニター動物飼育期間中に実験が終了する場合

- (1) 実験終了時にモニター動物をすでに4週間以上飼育していれば、事前にセンター動物管理室に連絡した上でモニター動物の血清を採取し、病態モデルセンターへ提出する。
(100 μ L の血清: 希釈しない)
- (2) 実験終了時にモニター動物を飼育して4週間経っていなければ、ラック内の塵等をケージ内に入れて4週間を経過するまでモニター動物を飼育後、血清を採取し、病態モデルセンターへ提出する。
(100 μ L の血清: 希釈しない)

3. 微生物モニタリング陽性結果の対処方法を下記のように定める。

【目的】検出された微生物の影響を最小限に止めるための対策をとる。

対処方法(手順)

- (1) 検査結果で陽性がでた飼育室を使用している研究責任者および動物実験責任者は、モニター動物がモニターしていた飼育室のすべての動物を、検査結果判明後 1 週間以内に安楽死させる。(カテゴリーE の微生物の場合、3 ヶ月をめどに小動物室等に隔離が認められる場合がある。ただし、この場合B3 階の病態モデルセンターへの再搬入は認めない。)
- * 安楽死させる場所や方法、使用中の飼育器材(ケージ等)の対処は、センター長の指示に従う。
- (2) 病態モデルセンターは、当該飼育室から動物がいなくなった時点で速やかに消毒作業を行う。費用は病態モデルセンターが負担する。

4. 感染のリスクを抑える方法

:病態モデルセンターには、SPF 動物(「人獣共通感染症」と「主要な動物から動物にうつる病気」に感染していないことが保証された動物)を搬入しているので、その状態を保つために下記の点に注意する。

- (1) 動物実験責任者及び動物実験分担者は、動物実験の再現性に影響を与える微生物に関する知識を積極的に得る。
- (2) 動物実験責任者及び動物実験分担者は、エリア別の「利用心得」を遵守する。
http://www.fujita-hu.ac.jp/CAMHD/CAMHD/sop_insidecampus/sop.html を参照する。
- (3) 動物実験責任者及び動物実験分担者は、病態モデルセンターに入室する期間、モニタリング項目に該当する微生物の宿主となりうる動物をペットとして飼育しないよう心がける(ペットは我々ヒトと同様にコ

ンベンショナル環境下で生活していることを理解する)。

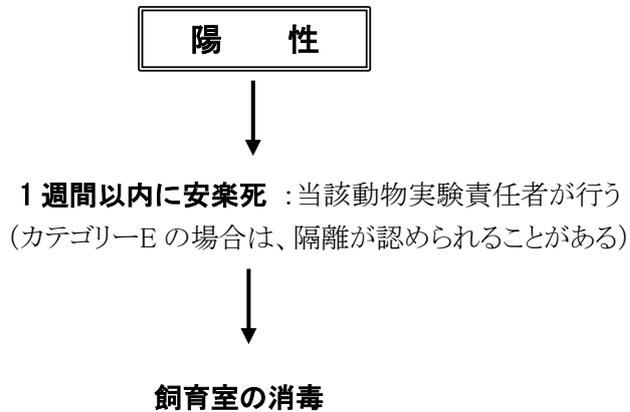
(4) 動物実験責任者及び動物実験分担者は、野生マウスやラットの感染症を媒介する可能性のある昆虫を見つけたら処分する。

5. 立ち入りの制限

(1) 飼育状況に問題があると認められた場合には、センター長が当該動物実験責任者に改善を促す。もし、改善が認められない場合は、立ち入りを制限する場合がある。

(2) 微生物モニタリングで陽性判定があった場合は、聞き取り調査を行い今後の感染防御に役立てる。飼育状況等に問題があると認められた場合には立ち入りを制限する場合がある。

病態モデル先端医学研究センターにおける微生物学的統御に関する指針の概略



微生物モニタリング検査で陽性の動物が確認された場合、感染症を封じ込めるため、1 週間以内に同飼育室すべての動物を安楽死、または隔離(カテゴリーE で小動物室が使用可能な場合)する。ただし、宿主とならないことが明らかな動物種はその限りではない(例: 宿主がマウスのみ、MHV やラットのみのSDAV)

- * 安楽死は当該動物実験責任者が行う。
- * 病態モデル先端医学研究センターには、小動物室も含まれる。
- * 消毒に掛かる費用は応談。