

1-11. SPF 飼育室及び実験室利用心得

最終改正 平成 23(2011). 1. 31

1. 運営

疾患モデル教育研究センター（以下、疾患モデルセンターという）内 SPF 動物飼育室（以下、SPF 飼育室という）の運営は、疾患モデル教育研究センター長（以下、センター長という）の監督下におこなわれる。センター長は、全利用者間のコンセンサスが保たれるように、実務的な日常作業を監督する飼育室責任者を指名する。飼育室責任者はセンター長の要請に応じて利用者会議を開催し、SPF 飼育室の運営が円滑に行なわれるように努める。胚操作室については、SPF 飼育室との間で動物の移動が行われるため、その管理、運営は SPF 飼育室に準ずるものとする。

2. 方針

- 1) SPF 飼育室で起こる感染事故はそのほとんどが人為的なものであること（ヒトが病原微生物を持ち込む）に鑑み、SPF 飼育室への立入りは SPF 飼育室利用登録を済ませた者に限る。SPF 飼育室利用登録には、疾患モデルセンター指定の所定の手続きを済ませた後、飼育室の使用方法に関する合意事項を熟知するため、担当者（原則として各 SPF 飼育室利用教員）の動物飼育に関する教育訓練（経験者について 2 週間以上）を受けることを義務づける。教育訓練を受けた者は飼育室責任者によって、動物飼育に関する教育訓練の確認を受け、教育修了報告書をセンター長に提出する。
- 2) SPF 飼育室の利用は、本学で作製された組換え動物あるいは本学のみが保持している組換え動物を飼育している者等で、なおかつ、本飼育室の利用規程を理解し、SPF 飼育室立入りに関する教育訓練を受けた者とする。胚操作室の利用もこれに準ずる。
- 3) SPF1 飼育室の登録を済ませた者にはカードキーの使用を認める。SPF2 飼育室の登録を済ませた者にはカードキーを支給する。カードキーの他への貸与は認めない。また不要になった時はただちに返却する。
- 4) 同一日にクリーン飼育室およびコンベンショナル飼育室での作業後に SPF 飼育室に入室することを禁ずる。やむを得ない場合にはシャワー等で体を清潔にした後、着替えを済ませてから入室すること。基本的には、クリーンもしくはコンベンショナル飼育室の作業者と SPF 飼育室の作業者は別々の者が当たることが望ましい。
- 5) 飼育室に持ち込む動物は、原則として微生物学的に各 SPF 飼育室を上回るレベルの施設で生産している業者から新規購入したものに限る。
- 6) 他研究室から譲り受けた組換え動物等は、原則として凍結保存卵の状態にした上で、SPF 動物に移植するという過程を経て搬入する。体外受精のみや帝王切開による持ち込みは原則として認めない。ただし、搬入する組換え動物等が信頼できる SPF 施設で飼育されていることが確認されており、搬入前 1 年間の微生物モニタリングの結果が陰性であるならば、センター長の判断によって搬入を認める場合もある。
- 7) SPF 飼育室から一旦外に持ち出した動物を再び SPF 飼育室に戻すことを禁ずる。ただし、胚操作室およびに適切な方法で運搬した動物に関してはこの限りではない。
- 8) SPF 飼育室と胚操作室との間で動物を移動する場合は、動物をケージごと密封できるケースに入れる。部屋に搬入する際にはケースの周りにアルコール等を噴霧して消毒する。
- 9) 新規購入動物の搬入は、クリーン・SPF 飼料倉庫内の専用棚へ納入されるので、エアージャワー室経由で飼育室に搬入する。動物輸送箱はパスボックスを経由して室外に搬出する。
- 10) SPF 飼育室利用に当たっては組換え動物取扱マニュアル、感染動物取扱マニュアルおよび有害化学物質の取扱マニュアルを遵守する。

3. SPF 飼育室の環境条件

再現性のある実験結果を得るために、実験動物の飼育環境は一定に保つことが重要であるため、以下の基準値を参考に、定期的に環境モニタリングが実施され、その結果はセンター長が管理する。

動物種	マウス、ラット、ハムスター類、モルモット
温 度	20～26℃
湿 度	40～60%
換気回数	6～15 回/時
気流速度	13～18 c m/秒
気 圧	周辺廊下よりも静圧差で 20Pa 高くする (SPF バリア区域)
塵 埃	クラス 10, 000* ¹ (動物を飼育していないバリア区域)
落下細菌	3 個以下* ² (動物を飼育していないバリア区域)
	30 個以下 (動物を飼育していない通常の区域)
臭 気	アンモニア濃度で 20ppm 以下
照 明	150～300 ルクス以下 (床上 40～85cm)
騒 音	60db 以下

*1 米国航空宇宙局の分類によるクラス分け

*2 9cm シャーレ 30 分解放 「ガイドライン—実験動物施設の建築及び設備」 日本建築学会編（アドスリー）1996

4. 微生物モニタリング検査と微生物統御

SPF 飼育室では、下記に定めた微生物モニタリング検査を年 4 回に行なう。微生物モニタリングは、モニター動物を配布して 2 ヶ月以上通常の飼育を行なった後、血清等の検体を採取し、検査をおこなう。その結果は疾患モデルセンター長が管理する。

【微生物モニタリング検査項目】

マウス血清 6 項目：マウス肝炎ウイルス (Mouse Hepatitis Virus: MHV)、センダイウイルス (Sendai Virus, Hemagglutinating Virus of Japan: HVJ)、肺炎マイコプラズマ (Mycoplasma pulmonis: Mp)、ティザー菌 (Tyzzel, Clostridium piliforme)、エレクトロメリアウイルス (Ectromelia virus)、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic choriomeningitis virus: LCMV)

SPF 飼育室における微生物学的統御は、ひとつの飼育室でのみで保たれるものではないので、全利用者の理解と統一した作業行程等の協力が重要である。また、感染事故を想定し、本学で作製した組換え動物等の貴重な動物種についてはあらかじめ凍結保存卵を作製したり、分散飼育したりするなどの予防策を講じておくことが望ましい。感染事故を起こさないためにも、動物を常に健康な状態に保ち不必要な動物を飼育しない等の飼育の基本を守ることが不可欠である。

5. SPF1 飼育室への立入り等

1) 入退室

- (1) 電磁ロックドア手前にあるロッカーにそこまで着用していた白衣等の外衣を入れ、消毒液にて手指を消毒する。
- (2) 電磁ロックドアをカードキーで開錠し、更衣室へ入室する。
- (3) 更衣室にて疾患モデルセンター指定のスリッパを脱ぎ、専用の白衣、マスク、手袋、着用後、消毒用アルコールを全身に噴霧する。
- (4) 専用のスリッパに履き替え、エアーシャワー室に入り、エアーシャワーを 30 秒間（アナウンスが終了するまで）浴びる。なお、エアーシャワー室には一人ずつ入室すること。また、エアーシャワーの両扉が一度に開くことがないように気をつける。

- (5) 退出の際にはエアーシャワー室を通過して更衣室に出る。
- (6) 専用白衣を所定の位置に返却し、マスク、手袋、は外のゴミ箱へ捨てる。

2) ケージ交換作業

ケージなどの飼育機材および床敷はオートクレーブ等で滅菌したものをを用い、飲用水はフィルター濾過等で滅菌したものをを用いる。また、飼料は放射線滅菌したものをを用いる。ケージ交換は基本的に週に1回以上、飼育室全てのケージについて行う。

手順は以下の通りとする。

- (1) 前室でケージに床敷を詰め、飼育室へ搬入する。
- (2) 使用中の給水ビンを取り外し、運搬用のカゴに詰める。
- (3) 消毒液にてラックおよびケージのフタを拭き、新しいケージにマウスを移す。その際、マウスの行動、被毛の色、つや、汚れ、脱毛や外傷の有無、眼、鼻、口、尾、肛門周囲などの汚れの有無、体重などを確認し健康状態を把握する。また、マウス移動の際は逃亡しないよう十分に注意を払う。
- (4) 全てのケージが交換し終わった後に飼育室の床に落ちた床敷を片付け、消毒液に浸したモップで拭く。
- (5) 新しい給水ビンにフィルター濾過された水を補充し、給水栓を閉める。
- (6) 給水ビン、飼料の補充を行う。
使用後のケージ、給水ビン等はパスボックスから搬出し、クリーン・SPF 洗浄室に搬入する。汚れた床敷は床敷キャビネットを使用して廃棄する。ケージ、給水瓶等は、洗浄後所定の位置で乾燥させる。

洗浄後のケージ、給水ビンは、指定の時間帯にオートクレーブ滅菌にかける。

3) その他

- (1) 本飼育室内に実験器具等の機器を搬入する場合には、可能な限りオートクレーブ滅菌を実施する。オートクレーブで滅菌できないものは、アルコール等の消毒薬を噴霧、清拭して搬入する。
- (2) 動物の屍体は黒いビニール袋に入れ、所定の屍体用冷凍庫に安置する。また、安楽死にエーテルを使用した場合は、エーテルを完全に除去してから安置する。

6. SPF2 飼育室への立入り等

1) 入退室

- (1) オートクレーブ室にあるハンガーに、そこまで着用していた白衣等の外衣を掛ける。
- (2) 紫外線滅菌水作製装置のスイッチを入れる。
- (3) オートクレーブ室に備え付けてある噴霧型消毒装置で手指の消毒をおこなう。
- (4) カードキーを用いて、更衣室のロックを解錠する。扉の前で疾患モデルセンター指定のサンダルを脱ぎ、更衣室に入る。
- (5) 更衣室で専用のサンダルに履き替え、専用の白衣に着替える。さらにマスク、キャップ、オーバーシューズもしくは専用の長靴を装着し、最後に手袋をつける。オーバーシューズの上からサンダルを履き、エアーシャワー(約10秒)を浴び、前室に入室する。なお、エアーシャワー室には一人ずつ入室する。
- (6) 作業終了後、前室の消灯を確認し、再びエアーシャワー室を通過して更衣室に出る。マスク、キャップ、手袋を指定のごみ箱に捨て、オーバーシューズ、白衣を元の位置に戻す。
- (7) 更衣室を出る際にサンダルを履き替え、更衣室の消灯を確認し、オートクレーブ室を通り抜けて退室する。
- (8) 紫外線滅菌水作製装置のスイッチを切る。

2) ケージ交換作業

- (1) ケージ、給水ビンは洗浄しオートクレーブ滅菌をした後に前室に搬入する。ケージ交換に供するまでは前室の棚に保管しておく。
- (2) 床敷、餌は滅菌済みのものを使用する。餌は放射線滅菌のものが望ましい。床敷、餌、マウス等オートクレーブ滅菌できないものは、作業者とともにエアシャワー室を通って前室に搬入する。
- (3) 前室で床敷をケージに詰める。
- (4) 滅菌済みの給水ビンに滅菌水作製装置から採水した水を入れる。給水ビンは専用ケージに入れ、各飼育室に搬入する。
- (5) 飼育室でケージ交換作業をおこなう。新しいケージに一匹ずつマウスを移す。その際、マウスの行動、被毛の色、つや、汚れ、脱毛や外傷の有無、眼、鼻、口、尾、肛門周囲などの汚れの有無、体重などを確認することで健康状態を把握する。また、マウス移動の際は逃亡しないよう十分に注意を払う。使用済みの給水ビン、汚れた床敷、マウスの屍体等をパスボックスに入れる。必要に応じてインターホンを用いて共同作業者を呼び出し、パスボックスからの搬出をおこなう。これら各飼育室で出た汚物、屍体は決して前室に持ち出さない。汚物を搬出した後、パスボックス内をアルコール噴霧で消毒しておく。パスボックスの飼育室側の扉は、汚物を搬出する際に開ける以外は常に閉じて鍵をかけておく。
- (6) ケージ交換作業終了後、飼育室の床を箒で清掃した後、消毒薬を用いて消毒する。
- (7) 前室を清掃後、床を消毒する。
- (8) 再び SPF に戻すことのない動物はパスボックス経由で搬出する。
- (9) 胚移植用の仮親動物等、SPF に戻す必要のある動物の搬出は、動物を密封できる専用ケースにケージごと入れ、周りをアルコール等で噴霧消毒し、作業者とともにエアシャワー室を経由して持ち出す。
- (10) 使用後のケージ、給水ビン等はパスボックスから搬出し、クリーン・SPF 洗浄室に搬入する。汚れた床敷は床敷キャビネットを使用して廃棄する。ケージ、給水瓶等は洗浄後、所定の位置で乾燥させる。オートクレーブ滅菌終了後は、前室内の指定の棚に保管する。

3) その他

- (1) オートクレーブ室、更衣室の清掃は利用者が交代でおこなう。
- (2) 飼育室の照明はタイマーによって自動的にオンオフされている。消灯時間中に一時的に点灯して室内で作業した場合、再び設定を元に戻すことを忘れてはならない。また、作業終了後必ず消灯しておく。（飼育室の扉が透明ガラスになっているため、前室の明かりが飼育室内に漏れるのを防ぐため）
- (3) 動物の屍体は黒いビニール袋に入れ、所定の屍体用冷凍庫に安置する。また、安楽死にエーテルを使用した場合は、エーテルを完全に除去してから安置する。

7. 胚操作室への立入り等

- (1) SPF 以外の飼育室への入室後の胚操作室への入室は基本的には行わない。
- (2) 着用していた白衣を前室の紫外線滅菌ロッカーに入れタイマーをセットした後、専用の白衣に着替える。
- (3) 手指をアルコールで消毒する。
- (4) 入室後、専用のスリッパに履き替える。
- (5) 室内は整理整頓を心がけ、清潔を保つようにする。