

1-12. クリーン飼育室及び実験室利用心得

最終改正 平成 22(2010).12. 24

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)内クリーンエリアの動物飼育室(以下、クリーン飼育室という)の運営は、疾患モデルセンター長の監督下に行われる。問題が発生した場合は、利用者は、クリーンエリア全体あるいは飼育室単位で利用者会議を開催し、疾患モデルセンター長およびセンター専任教職員の助言のもとに、話し合いで解決する。

2. 方針

- 1) クリーンエリアに入室できるものは事前に登録された者とし、新たに入室を希望する者は疾患モデルセンターが指定する飼育室利用のための説明会を受講しなければならない。卒論生等の学部学生は、指導教員等と一緒に入室することを原則とする。
- 2) 利用者は作業動線を考慮し、クリーンエリアより低い環境レベルの動物室や洗浄室に出入りしたものは、原則として同日にクリーンエリアに入室しないこととする。
- 3) 飼育室単位の取り決めを認めるが、疾患モデルセンター全体あるいはクリーンエリア全体に関わるような事柄については、飼育室単位の取り決めよりも優先される。
- 4) 使用する飼育機材は、滅菌処理を原則とする(但し、一部は滅菌に準じた処理を認める)。
- 5) クリーン飼育室で飼育する動物は、遺伝子組換え動物、長期飼育動物や免疫不全動物等とする。但し、疾患モデルセンター長が妥当であると認めた実験動物も飼育することができる。
- 6) 遺伝子組換え動物を飼育する場合は遺伝子組換え動物の届出、飼育および譲渡方法を文部科学省が定める「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成16年2月19日告示97号)」と本疾患モデルセンターが定める組換え動物使用マニュアルに従うものとする。特に、動物の逃亡防止(ネズミ返し等)の設置や動物個体の永久識別法(イヤープンチ等)を行う必要性を理解するものとする。
- 7) クリーン飼育室に搬入できる実験動物は、「疾患モデル教育研究センターにおける微生物学的統御に関する指針」を考慮し、疾患モデルセンター長が許可したものに限る。
- 8) 他施設からの分与、譲渡を行う場合は、必ず飼育形態調査レポートや微生物モニタリング結果(一年間)その他必要書類を添えて事前にセンターに届け出る。最新の微生物モニタリングの結果を提出し、センター長の許可を得た後、搬入する。
- 9) 微生物モニタリング(年2回)で汚染が確認された場合は、「疾患モデル教育研究センターにおける微生物学的統御に関する指針」に従うと共に、速やかに疾患モデルセンターの助言を得る。
- 10) 処置・手術等はクリーン実験室で行う。必要に応じ、クリーン飼育室に戻ることができる。但し、飼育するラックに関しては、疾患モデルセンターの助言を得る。
- 11) 一度クリーンエリアから搬出した動物を再度同エリア内に搬入しないこととする。クリーンエリアから搬出した動物を飼育する場所については、事前に疾患モデルセンターの指示を受ける。

3. クリーン飼育室の環境条件

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と微生物学的統御

クリーン飼育室では、下記に定めた微生物モニタリング検査を年 2 回おこなう。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おこなったのち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 4 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)、肺マイコプラズマ(Mycoplasma pulmonis: Mp)、ティザー菌 (Tyzzer, Clostridium piliforme)

ラット血清 5 項目：腎症候性出血熱ウイルス(Hantavirus)、唾液腺涙腺炎ウイルス (Sialodacryoadenitis Virus: SDAV)、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)

5. クリーン飼育室への立ち入り等

1) 飼育室への入退室

- (1) 廊下用のスリッパを脱ぎ、クリーンエリア前室(更衣室)で専用のスリッパに履き替える。
- (2) クリーンエリア前室(更衣室)のロッカーにあるクリーンエリア専用白衣に着替え、アルコールで手指を消毒し、手袋、マスク、帽子等を着用する。
- (3) エアシャワールームの中に入ってドアを閉める。エアーが出ている間は、ホコリを落とすように努める。エアーシャワーが完全に停止してからドアを開けてクリーンエリアへ入室する(無理に開けてドアを曲げないように気をつける。)
- (4) 飼育室入室の際は入口で飼育室専用スリッパに履き替える。
- (5) 作業終了後は、エアシャワールームを通り前室へ戻り、手袋、マスクなどを前室に設置してあるゴミ箱に捨て、クリーンエリア専用白衣をロッカーに戻したのち、スリッパを履き替えて退室する。エアシャワールームを通る時、ドアは片方しか開かない仕組みになっているので、無理に開けてドアを曲げないように気をつける。

* エアシャワールーム内の警告灯(赤)が点灯したら、直ちに疾患モデルセンター教職員に知らせる。

2) ケージ交換作業

交換方法

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用い、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) 清浄倉庫にて給水ビンに新鮮な水を詰める。この際に水漏れ等がないかを確認する。

＊ 原則として、飼育室に入室後、清浄倉庫に入る必要がないように準備するように努める。

- (2) 飼育室内でケージに床敷を詰める。ケージ交換は飼育室専用作業台上で行う。原則としてケージ等は直接床に置かない。
- (3) 床敷交換時には、ケージ本体の捻れ、ひび割れや穴等とフタの網の欠線、捻れやフックの歪み等がないか注意する。
- (4) 新しいケージに動物を移し、動物が逃亡する隙間がないように注意しセットする。
- (5) 使用済みケージに幼弱動物等が隠れていないか確認する。同時にケージカードに記載されている動物の数と、新しいケージに移した動物の数が合うことを確認する。床に動物が逃亡した場合は、必ず捕獲し原則としてケージに戻さず殺処分する。
- (6) ケージ交換時にはラックを消毒薬で拭き、清潔を保つ。
- (7) 免疫不全動物等を飼育する場合は、フィルターキャップをかぶせるなど感染症に特に注意し、消毒、滅菌等、通常の飼育作業の際にも細心の注意を払う。
- (8) 新鮮な水が詰まった給水ビンケージにセットし、水漏れのチェックを行う。
- (9) 飼料を適量補充する。
- (10) ラックの扉を閉めた後飼育室の床に落ちたゴミを掃き、オートモップ(ピューラックス等)を用いて床を清掃する。(床敷、飼料、糞は使用済みのケージに入れ、原則としてゴミ箱に捨てない)。
- (11) 飼育室を退室する前に、もう一度給水ビンの水漏れ、餌の入れ忘れ、動物の逃亡の有無を確認する。
- (12) 使用済みのケージ、給水ビン等はパスボックスから搬出し、汚染廊下を經由して洗浄室に運び、洗浄室にて洗浄後、所定の場所で乾燥させる。
- (13) 動物輸送箱、飼料袋、床敷の箱などもパスボックスから搬出し、汚染廊下を經由し所定の場所に置く。
- (14) 死亡した動物は黒ビニール袋に入れ、パスボックスから搬出する。
- (15) 再搬入予定のない動物はパスボックスから搬出する。その際紫外線ランプに直接当てないように工夫する。

3) アイソラックおよびクリーンラックのフィルター交換

汚れ具合により1ヶ月に1度の割合で、プレフィルターの交換を行う。

このフィルターの交換は、事前に同室の他講座に連絡し、飼育作業等と重ならないようにする。

交換方法

- (1) ラックの電源をOFFにする。
 - (2) ラック上部のプレフィルター(枠付き)を引き出し、滅菌済みプレフィルター(枠付き)をセットする。
 - (3) ラックの電源を入れる。
 - (4) ボールペンの先などで漏電チェックボタンを押し、ラックの電源が OFF になることを確認する。
 - (5) ラックの電源を入れる。
 - (6) 使用済みのプレフィルター(枠付き)はパスボックスから搬出する。
 - (7) 交換年月日を各自ラックに貼り付けたメモ用紙に記載する。
 - (8) 他の講座にフィルター交換作業が済んだことを知らせる。
- ＊ プレフィルターの交換不足により、早期にHEPAフィルターの交換の必要があった場合、交換費用をお願いすることがありますので、ご注意下さい。
- ＊ 使用済みプレフィルターの洗浄と消毒方法
- ① プレフィルターは枠からはずさず、掃除機でホコリを取り、水道水中でやさしく押し洗いし、乾燥させる
 - ② オートクレーブ滅菌をおこなう。

4) 従来飼育ラックのフィルター交換

汚れ具合により3～6ヶ月に1度の割合で、ラックのフィルター交換を行う。
このフィルターの交換は、事前に同室の他講座に連絡し、飼育作業等と重ならないようにする。

交換方法

- (1) あらかじめ消毒した作業台等の上でフィルターを適当な大きさに切る(フィルターは二重にした方がよい)
- (2) ラックの電源をOFFにする。
- (3) 汚れたフィルターを取り除く。
- (4) ラックの汚れを取り除き、消毒薬等で清拭する。
- (5) フィルターを張る
- (6) ラックの電源を入れる。
- (7) 交換年月日を新しいフィルターに記入する。
- (8) 汚れたフィルターは一般ごみとして出す。
- (9) 他の講座にフィルター交換作業が済んだことを知らせる。

5) クリーン実験室の使用について

- (1) 飼育室からクリーン実験室へ動物を移動させる際は、動物の入ったケージを清潔なエコンアーク等で覆い、感染防止に務める。
- (2) クリーン実験室使用後は実験台を消毒し、床の清掃をおこなう。

6) 蒸気オートクレーブの滅菌作業について

- (1) 蒸気オートクレーブは講習を受けた教職員が操作する。
- (2) 蒸気オートクレーブの誤操作は重大事故につながる場合があるので、事前に使用方法を熟知し、異常を感じた場合は速やかに使用を中止し、疾患モデルセンター教職員に通知する。
- (3) 滅菌済み被滅菌物は、クリーンエリア内の所定の場所に保管する。
- (4) 事情により予定された日程で滅菌を行うことができない場合は、利用者間の話し合いで調整を行う。
- (5) オートクレーブ当番の担当者は搬入・搬入の時間を厳守すること。

6. その他

- 1) 飼育室で使用する白衣はクリーン飼育室専用とし、他のクリーン飼育室レベルより低い環境で着用する白衣と区別する。ディスプレイザブルでない白衣を着用する場合は、各自で定期的(1週間に1回を推奨)に洗濯を行う。
- 2) 飼育室内に実験器具等の機器を搬入する場合には、アルコール噴霧等の消毒を行う。
- 3) 飼育室内の清掃は各講座が責任を持って行い、特に共同利用場所(流し台、パスボックス、清浄廊下および汚染廊下)は清潔を保つように努める。
- 4) 飼育室のゴミはパスボックスから搬出する。
- 5) 飼育室の照明はタイマーによって自動調整されている。停電等があった場合は、各位で調節する。原則として点灯時間内(8:00～20:00)に作業を行うこととする。やむを得ず消灯時間中に一時点灯を行った場合は、必ず設定を元に戻す。
- 6) 清浄廊下(飼育室前)、汚染廊下は作業終了後消灯に努める。
- 7) ケージ洗浄中に動物を発見した場合は、必ず殺処分する。
- 8) ラックの転倒防止のため、ラックのストッパーはかけない(地震発生時、ストッパーがかかっていると転倒しやすい)。
- 9) 業中に手袋が破れた場合はエアーシャワー後の前室に戻って新しい手袋に交換する。
- 10) 実験室の動物の死体は、退室時にエアーシャワーから搬出することを認める。

* 不明な点はセンターの教職員に尋ねてください。