

感染実験室利用マニュアル

平成24年2月15日

感染実験区域には2室があります。飼育室は動物を用いた微生物の感染実験及び化学発癌剤を用いる発癌実験を行うためのものです。感染実験は「感染動物実験における安全対策」(国立大学法人動物実験施設協議会:2001年5月25日改訂)による安全度2までの微生物が使用できます(安全度3については医学部実験動物施設をご利用ください)。この区域以外は基本的に人為的に動物に微生物接種を行う実験または隔離飼育を必要とする発癌剤などの化学物質を投与する実験(数ヶ月に渡り、化学物質を投与し発癌の効果を見るなど、ケミカルハザード対策が必要となる実験)は基本的に認めていません。なお運営の全般的なことに関しては動物実験施設運営委員会にて討議する予定です。また、動物実験全般については「東北大学における動物実験に関する指針の解説」を参照して下さい。

感染実験飼育室は立ち入り制限があります。動物微生物学分野の管理領域であり、入室できる動物(SPFおよび無菌動物のみ)と人に制限があります。共同利用が可能であり、外部から動物を入れる場合の検疫室としてBBH飼育棚を用意してあります。共同利用に際してはお互いに安心して利用できるように、各利用者が感染防御について心配りをして下さるようお願いいたします。

感染実験飼育室管理全般について

- 1 利用者の範囲及び申し込みについて
- 2 使用動物について
- 3 動物の飼育管理
- 4 動物の出納、飼育経費

感染実験飼育室利用者マニュアル

- | | |
|---------------------------------|-------------------------|
| <u>1 利用者と飼育室内の管理責任</u> | <u>10 安全キャビネットの使い方</u> |
| <u>2 日常作業手順</u> | <u>11 小型オートクレーブ操作方法</u> |
| <u>3 入室</u> | <u>12 実験中の注意点</u> |
| <u>4 動物の搬入</u> | <u>13 実験飼育室内清掃</u> |
| <u>5 ケージ等の準備</u> | <u>14 飼育室からの退室</u> |
| <u>6 ケージ交換</u> | <u>15 感染実験室からの退出</u> |
| <u>7 安全キャビネットおよび飼育棚内の清掃について</u> | <u>16 共通点検作業</u> |
| <u>8 ケージ交換後の搬出物品、廃棄物等処理について</u> | <u>17 感染実験使用終了時の注意</u> |
| <u>9 実験及びケージ交換時の注意点</u> | <u>18 異常時の対応</u> |

感染実験飼育室管理全般について

1. 利用者の範囲及び申し込みについて

- 1) 利用者は必ず、東北大学における動物実験に関する指針講習会を受講してください。
- 2) 実験計画書を提出していること。実験者全員の氏名を記載してください。
- 3) 感染域利用者は全員オリエンテーション(病原微生物取り扱い指針等については別途に動いています。外部に広げない点で遺伝子改変生物取り扱いと同様になるかと思います。)を受けること。オリエンテーションを受けていない者の入室は認めません。オリエンテーションは使用責任分野(暫定:動物微生物学分野)にて申し込み時に適宜行います。

2. 使用動物について

- 1) 動物種および収容匹数: 実験に使用できる動物は SPF 実験小動物(マウス・ラット・ウサギ)もしくは無菌小動物のみです。SPF あるいは無菌動物の納入は特定実験動物販売業者SLC、日本クレア、チャールズリバーからとし、それ以外については SPF の証明と検疫が必要となります。
- 2) 搬入: 事前に搬入申し込みをその都度行って下さい。施設への事前申し込みがないと施設側で業者から動物は受け取れません。

3. 動物の飼育管理

- 1) 感染室はP2相応です。感染実験動物(無菌動物を含む)飼育室2室(BBH 飼育棚を設置)、実験室1室(物品保管庫兼用)1室、および前室からなります。
- 2) 各飼育室の清掃、動物の飼育管理は実験者が行います。飼育室を共同利用する場合は、実験者が十分協議のうえ管理して下さい。
- 3) 飼育室前室、更衣室、エアシャワー室及び大型オートクレーブは基本的に施設および管理区域責任者が管理します。
- 4) 実験者はケージ、給水瓶、床敷、飼料等は施設で所定の場所に準備し、適宜利用して下さい。
- 5) 実験者及び施設管理者の利用・管理マニュアルは東北大学実験動物指針別に従って下さい。

4. 動物の出納、飼育経費

動物の入退舎数については、実験者がその都度所定の入退舎伝票に記入して下さい。また飼育経費は使用者負担に準じて徴収します。実験に必要な白衣等(実験用つなぎ、キャップなど)は実験者が用意してください。飼料、床敷も同様です。床敷は実験動物専用のもを使用して下さい。飼育経費が生じた場合は別途請求となります。電気・ガス・水道は電気メーターの使用実績に合わせて、月割請求となります。

感染実験飼育室利用者マニュアル

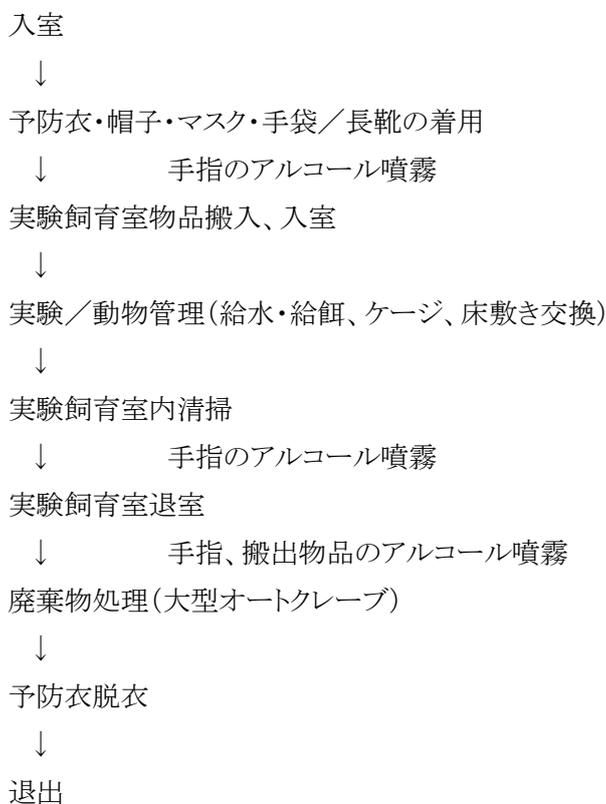
このマニュアルはこの飼育室の利用者のためのものです。熟読の上、安全な実験を行うようにして下さい。

1. 利用者と飼育室内の管理責任

感染実験飼育室の使用は、登録した実験者のみが利用できます。飼育室内の管理は、利用者に行って頂きます。複数の実験グループがいる部屋は、協議の上、区域担当分野主任（責任者）を決めて下さい。特に実験飼育室内の清掃・消毒（共通点検作業）は、共通の仕事ですので交替ですよう話し合ってください。

2. 日常作業手順

作業手順は一般に次のように考えられますが、各研究者は入室前に予め作業手順を想定して下さい。



3. 入室

- 1) 必要に応じて衣類の交換（ズボン・上着）を行い、手洗い・消毒を行ってください。
- 2) 感染実験飼育室入口から入室して下さい。
- 3) 感染域前室にて予防衣・帽子・マスク・手袋を着用して下さい。

- 4) 70%アルコールによる手指の噴霧消毒を行って下さい。
- 5) 履物を備え付けの長靴に交換して下さい。

4. 動物の搬入

- 1) 施設生産動物：コンベンショナル領域での飼育動物は搬入できません。
- 2) 購入動物：実験者もしくは施設担当者が入り口で受取り、前室まで搬入します。利用者は輸送箱外側をアルコール噴霧してから感染実験域に搬入し、飼育室前室にてケージ内に動物を移して下さい。空の輸送箱は感染域から退出する際外側をアルコール噴霧後し、実験者で廃棄物処理をしてください。

5. ケージ等の準備

- 1) 物品保管庫、各飼育室、オートクレーブ室へ入室退出時には必ず手指を各部屋備え付けの70%アルコールを噴霧して下さい。物品についても同様です。また、常にハンドスプレーの量を確認し、足りなければ補充して下さい。
- 2) ケージとその他の必要な物品を物品保管室から飼育室に運び込む際、差圧を保つためドアの開閉回数と開放時間を最小限にして下さい。

6. ケージ交換

- 1) ケージ交換は必ず安全キャビネット内で行って下さい。
- 2) 安全キャビネットのガードカバーを開け FAN スイッチを ON にします。電源を入れ、送風を行い、殺菌灯と蛍光灯の切替えを行って下さい。
- 3) ケージ交換に使用するケージは予め安全キャビネット内に置いておいて下さい。
- 4) BBH ラックでの飼育の場合は、ボックスごと安全キャビネットにいれてからケージを取り出し、安全キャビネット内にて交換することをおすすめします。ケージ交換時は必ず BBH ボックス内側の汚れをアルコール等で拭き取って下さい。
- 5) セイフティラックでの飼育は現在行えません。将来使用する場合はフィルターキャップを被せたまま安全キャビネットに移動させ、キャビネット内でケージ交換を行って下さい。
- 6) ケージ交換が終わったら、搬出物品の入ったオートクレーブバックの口を軽く2～3回折って滅菌テープで止めて下さい。使用済みケージ数が多い時は、ケージ、蓋、給水ビンごとにまとめ、別々のオートクレーブバックに入れて下さい。

7. 安全キャビネットおよび飼育棚内の清掃について

- 1) 安全キャビネットはチップなどの除去をキャビネット備え付けの70%アルコールを噴霧してからペーパーで一箇所にとめて行って下さい。一度使用したペーパーは飼育室の廃棄袋に捨てて下さい。
- 2) 仕上げに70%アルコールをキムタオルに染みこませ奥から手前方向に2度拭きして下さい。

一面使用毎に裏面を使用して下さい。

- 3) セイフティラックについても汚れのひどい棚面はもちろん、排気口や棚裏面などもアルコールで拭き取ってください。また、セイフティラックの中戸の素材がアクリル製のためアルコールを使用すると亀裂を生じさせるので、乾拭きまたは備え付けのアルコールを含んでいない消毒薬で拭いて下さい。
- * 消毒薬については対応する微生物の種類やクリーン化のレベルに応じて使用して下さい。

8. ケージ交換後の搬出物品、廃棄物等処理について

- 1) 飼育・実験で生じた廃棄物は燃やせる素材(紙、ビニール類)と燃やせない素材(ガラス、金属類)とに分けてオートクレーブバックに入れて下さい。
- 2) 実験終了後の動物及び動物死体は利用者が責任をもって処分して下さい。エアークレーブが極力入らないようにオートクレーブバックに入れ、オートクレーブで滅菌して下さい。非感染性となった死体は死体専用フリーザーに入れて下さい。
- 3) 使用済みケージ等を入れたオートクレーブバックは外部をアルコールで噴霧消毒後飼育室から搬出し、オートクレーブ室に搬入して下さい。
- 4) オートクレーブ内缶にオートクレーブバックが接すると溶けてしまうので、汚れを防ぐために、空のケージにオートクレーブバックを入れてからオートクレーブの中へ入れて下さい。
- 5) 給水ビンには破損する恐れがあるので、一番上に置いて下さい。
- 6) オートクレーブ内へのケージの入れ方が悪いと次の作業者の迷惑になるので、オートクレーブ内で倒れないように気をつけて搬入して下さい。
- 7) オートクレーブの運転は施設あるいは実験担当者側で行います。

9. 実験及びケージ交換時の注意点

- 1) 病原体の取扱い、動物への処置、ケージ交換など、感染源になりうる操作は、利用者の安全のため及び他動物への感染を防ぐために、運転下の安全キャビネット内で行って下さい。
- 2) 飼育室の床に病原体や動物の排泄物をこぼした場合、その箇所に消毒薬を噴霧して少し時間をおいてから処理して下さい。
- 3) 予防衣が明らかに汚染された場合は、退出手順に従い飼育室を退出し前室で予防衣を脱ぎオートクレーブバックに入れ、新しいものと交換して下さい。

10. 安全キャビネットの使い方

- 1) ランプスイッチを押し、照明を付け、ブザースイッチを ON にして下さい。
- 2) ガードカバーを開け FAN スwitch を ON にします。シャッターを10cm 程開けると約1分で排気 NO サインが消灯し、排気 OK サインが点灯します。同時に警報が停止します。
- 3) 送風開始後約10分間(作業室内クリーンアップ時間)経過して作業を初めて下さい。
- 4) シャッターは20cm 以下の高さで使用して下さい。

- 5) バーナーの小炎はライターで点火して下さい。主炎はフットスイッチにて点火できます。
- 6) ピペットは操作パネルのスイッチにて ON/OFF して下さい。
- 7) 作業が終了しましたら、5分程空運転してからシャッターを閉め、FAN スwitchを OFF にして下さい。
- 8) 殺菌灯を点灯し、ブザースイッチを OFF にして下さい。殺菌灯は10分前後点灯して下さい
- 9) ファン異常の場合はピーという音で警告します。警告音がしたら直ちに作業を中断して前面シャッターを閉じ漏電ブレーカーを切して下さい。

11. オートクレーブ操作方法（一般的使用法を記載しています。）

- 1) 排水バルブが確実に閉じているか確認して下さい。
- 2) 蓋を開いて給水して下さい。備え付けの飼育用蒸留水（もしくは水道水）を給水して下さい—どちらを使うかは機種によって異なります。井戸水は腐食やさびの発生原因になるので使用しないで下さい。
- 3) 給水タンクに給水状態を確認、点検し、満水以上にならないように時々排水して下さい。
- 4) 被滅菌物を収納します。
- 5) 蓋を閉じ締付けハンドルで蓋を締付けて下さい。
- 6) 排気バルブを閉じて下さい。
- 7) 安全ブレーカーが「入」になっていることを確認し電源スイッチを入れて下さい。「電源」表示灯が点滅しパネルに実温が表示されます。
- 8) 滅菌プログラムを設定します。被滅菌物に応じて温度／時間を設定します。詳細設定方法はプログラム設定説明を参照して下さい。初期設定は121度20分です。
- 9) 始動スイッチを押します。「運転」表示灯が点滅し、実温表示がだんだん上昇します。自動運転：缶内で 蒸気発生がはじまり、設定温度に達すると「滅菌」表示灯が点滅し、タイマーが減算表示します。
- 10) 完了：滅菌タイマーが『0』になりますと「完了」表示灯が点滅します。
- 11) 滅菌圧力計が0kgfになったことを確認して下さい。滅菌物は温度が高くなっています。滅菌圧力計が0kgf になりましたら、蓋を開け滅菌物を取り出して下さい。
- 12) 使用后（121度20分以上滅菌運転後）排水バルブを開け缶内の汚れた水を排水して下さい。

12. 実験中の注意点

- 1) 保定器を持ち込むときは、持ち込み物品についての注意事項を参照して下さい。また、万が一、引っ掻き咬傷事故のあった場合はすぐに水道水で洗い流して、消毒を行って下さい。
- 2) 解剖（感染動物からの採取など）
 - ・ 必ず毛をヨードホルなどの消毒薬で十分ぬらした後に行うこと。
 - ・ 死体や血液の処理時は乾綿やペーパータオルなどで血液を吸収させオートクレーブバックに

入れ、袋は緩く開けたまま高圧滅菌して下さい。きつく結んだまま滅菌すると袋が破損して体液が漏れ出ます。

- ・ 解剖用具など病原体に汚染したと考えられるものは3)に準じるかオートクレーブで滅菌後、搬出して下さい。

3) 接種材料、採材臓器、感染動物の持ち込み・持ち出し方

感染実験飼育室には検査機器等を設備している検査室的な役割を果たす部屋は準備されていません。このため、接種材料、採材臓器、感染動物を持ち出す場合には最大限の注意を払って下さい。例えば、二重に密閉できる容器(たとえばディスポーザブルで開封のできる密閉容器に入れ、さらに袋で覆う)に入れ、アルコール噴霧した後、搬入搬出して下さい。

13. 実験飼育室内清掃

床は専用の用具で薬液をペーパーに染みこませて丁寧に拭いてください。使用済みペーパーは飼育室備え付けのオートクレーブバックに入れて下さい。モップでの水ふきは汚染を広げることになりますので、ハイリスクの清掃は行わないようにしてください。

14. 飼育室からの退室

- 1) 手袋を飼育室内で脱いで飼育室の備え付けオートクレーブバックに捨てて下さい。飼育室の備え付けオートクレーブバックがいっぱいになっている場合は、新しいオートクレーブバックに交換してください。
- 2) 飼育室側に備え付けてある70%アルコールで飼育室からの搬出物品と手指、ドアノブのアルコール噴霧を行って下さい。

15. 感染実験室からの退出

- 1) 更衣室出入口で予防衣を脱いで下さい。但し、微生物に汚染されたと思われる時や血液等の汚れのひどい時はオートクレーブバックに入れて滅菌を行って下さい。
- 2) マスクや帽子についてもオートクレーブバックに入れて滅菌して下さい。

16. 共通点検作業

- 1) 点検事項
 - ・ 実験室内のアルコール量の点検、補充
 - ・ 安全キャビネットの殺菌灯、蛍光灯、グローランプの点検、交換(蛍光灯等は保管庫に用意してあります。)
 - ・ 消毒薬による室内清掃
 - ・ 実験室内廃棄用オートクレーブバックの廃棄
- 2) P2飼育室
 - ・ BBH ユニットのブローアユニットのメーターの点検

17. 感染実験使用終了時の注意

管理区域担当分野主任に連絡してください。

使用済の BBH ボックスの扉に滅菌テープ等を張って、管理区域担当分野主任に実験終了の連絡をすること。

18. 異常時の対応（災害時の対応マニュアルを参考にすること）

上記の手順に従って作業中、何らかの異常が生じた場合は次の手順に従うこと。

- 1) 第 1 項で決めた責任者に速やかに連絡する。
- 2) オリエンテーションで示された応急処置を行なう。
- 3) 責任者は速やかに状況を把握し、対応する。