

補遺5 感染性の病原微生物等を用いる動物実験

東北大学における病原体等取扱動物実験施設 の安全設備及び運営基準

東北大学環境・安全委員会研究用微生物安全専門委員会

東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会

(2016年11月1日版)

(病原微生物の ABSL についてはこちらのリンクを参照してください。

「国立大学法人東北大学における病原微生物のBSL分類等」：

<http://www.bureau.tohoku.ac.jp/anzen/gakunai/biseibutsu/list-BSL.pdf>)

1) 適用範囲

感染性の病原微生物等（プリオンを除く）に対して適用する。

プリオンの動物実験は「東北大学におけるプリオンの感染動物実験の安全対策」として別途規定する。

2) 感染実験区域の設置

扱う病原微生物の ABSL に応じた設備を持つ動物飼育室・実験室であって、下記の2つの条件を満たしている感染実験を行う区域を「感染実験区域」とする。

- 1) 動物飼育室・実験室として、「東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会」による審査を受け、承認されていること
- 2) 感染実験を行う飼育室・実験室は「東北大学研究用微生物安全管理規程」に基づき、「微生物取扱い実験室」として申請し、設置許可を受けていること。

3) 各 ABSL における取扱い

【ABSL1】

動物飼育室・実験室の構造

1. 感染実験区域は他の実験区域と明確に区別し、節足動物及び野鼠の侵入を防止する。
2. 床、壁、天井には耐水性で、かつ消毒薬耐性の素材を用いる。
3. 動物等の習性に応じた感染実験区域からの逸走防止対策を講じる。
4. その他、一般的な動物実験施設の設備・基準を満たしていること。

安全設備

1. 動物の飼育は脱出防止装置の付いたケージもしくはそれに準じた設備内で行う。
2. 作業台、飼育装置等の設備は耐水性、耐薬品性でかつ消毒薬耐性の素材を用いる。

標準操作手順等

1. 感染実験区域内への動物実験関係者以外の立ち入りを制限する。
2. 感染実験区域内への飲食物の持込み、および喫煙を禁止する（大学構内は全面禁煙）。
3. 動物実験実施者は微生物及び動物の取扱い手技に習熟していること。
4. 施設の状況に応じた汚染防止や除染、緊急時対応を含めた標準作業手順書を作成し、動物実験実施者に周知すること
5. 動物飼育室内に手洗い装置を設け、作業後は手指の洗浄消毒を行う。
6. 作業時には専用の作業衣、履物を着用する。
7. マスク、帽子及びゴムまたはプラスチック製手袋を着用する。状況に応じてゴーグルで目を保護する。
8. 接種実験及び剖検は汚染防止ラボシートもしくはビニルシート等の上で行う。
9. 実験操作および床敷交換などの作業時のエアロゾル発生を極力防ぐ。
10. 実験終了後、あるいは病原体等が付着した場合は直ちに実験台等表面の微生物を不活性化する。
11. 使用済みケージ等汚染器材は消毒または滅菌したのち洗浄する。
12. 汚染床敷や動物由来排泄物は消毒または滅菌したのち廃棄する。
13. 動物死体は焼却する。

【ABSL2】

ABSL1 を前提に以下の項目を追加する

動物飼育室の構造

1. 感染実験区域の入り口は施錠できるようにする（動物実験施設の入り口でも可）。
2. 感染実験区域の入り口には国際バイオハザード標識を表示する。

安全設備

1. 感染実験区域内に高圧蒸気滅菌装置(121℃以上)を設置する。
2. マウス、ラットの飼育はフィルターキャップ方式のケージ、あるいは感染動物用アイソレータ内で行う。
3. 動物の処置、剖検及び高濃度のエアロゾルを発生する作業は、クラス I、II 型生物学用安全キャビネットおよび感染動物用安全キャビネット内で行う。
4. その他は **ABSL1** に準ずる。

標準操作手順

1. 感染実験区域内への入域は認可された者に限る。
2. 状況に応じ、防護服を着用する。
3. メス、注射針など鋭利なものの取扱いに注意する。
4. 滅菌を必要とする汚染物、廃棄物等は密閉容器に入れて移動する。

5. 汚染機材、手術器具、ベンチシート、糞尿、使用後の床敷・ケージなどは滅菌後に洗浄または廃棄および焼却する。
6. その他は ABSL1 に準ずる。

【ABSL3】

ABSL2 を前提に以下の項目を追加する

動物飼育室・実験室の構造

1. 感染実験区域の入口には二重ドアまたはエアロックを設置する。（前室の設置）
2. 動物飼育室・実験室の窓は非開閉式にする。
3. 動物飼育室・実験室内は陰圧に保つ。
4. 準備室、飼育前室から動物飼育室内へ向かう一定方向気流方式の空調を行う。
5. 動物飼育室・実験室からの排気は高性能フィルタで濾過したのち放出する。（再循環禁止）
6. 非常用電源の確保や逆流防止ダンパーを設置するなど、停電時の空気の逆流防止対策を考慮する。
7. 配管貫通部を塞ぎ、感染実験区域のホルマリンガス燻蒸消毒が可能な密閉構造とする。
8. 排水は消毒薬またはオートクレーブで滅菌処理してから排出する。

安全設備

1. 動物の飼育は感染動物用安全キャビネットまたは感染動物用陰圧アイソレータ内で行う。
2. 飼育管理作業時及び接種・解剖作業時にはクラス I、II 型生物学用安全キャビネットおよび感染動物用安全キャビネット、または感染動物用陰圧アイソレータ内で行う。
3. 感染実験区域内には高圧蒸気滅菌装置(121℃以上)を設置する。
4. その他は ABSL2 に準じる。

標準操作手順等

1. 感染実験区域は研究用微生物取扱いの管理区域として承認されていること。
2. 入室者を厳重に制限する。
3. 実験に用いた動物および病原体等、処置や保管の記録をとる。
4. 動物飼育は原則として実験担当者が行う。
5. その他は ABSL2 に準じる。

【ABSL4】

本学では ABSL4 は実施できない。

東北大学におけるプリオンの感染動物実験の安全対策

東北大学環境・安全委員会研究用微生物安全専門委員会

東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会

(2016年11月1日版)

はじめに

プリオンは、滅菌消毒法や、感染動物における増殖や体内動態がプリオンの種類や感染動物種で異なることなど、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫などの通常の病原体とは異なる点が多い。現在東北大学では、「国立大学法人東北大学研究用微生物安全管理規程」を定め、病原性微生物のバイオセーフティレベル (BSL) に応じた安全管理を行っている。動物実験における ABSL 分類でも国立感染症研究所の ABSL 分類を参考に、プリオンのバイオセーフティ基準が大まかに示されているが、必ずしも明確でない部分がある。

そこで、プリオン病の動物実験を安全に行うために、プリオンの特殊な取扱いと最新の知見をもとに、プリオンの感染実験を行う際の BSL (ABSL) の誰にも分かりやすく、明確な安全基準をまとめることにした。

- 注 1) 本安全対策は当面の間、医学系研究科で現在プリオンの扱いが認められている実験施設での感染動物実験における取扱いを対象とする。
- 注 2) 本文に掲げられた組み合わせ以外での新規の実験を計画する場合は、あらかじめ所属部局の微生物安全主任者を通じ、国立大学法人東北大学環境・安全委員会研究用微生物安全専門委員会に問い合わせること。
- 注 3) 医学系研究科プリオン実験棟には大型動物を飼育できる BSL3 設備は無く、現状では本学で大動物の ABSL3 相当の実験は実施できない。
- 注 4) 共同研究等で他の研究機関の施設で実験を行う場合は、当該施設の安全管理規程などに従って実施すること。
- 注 5) 現在本学では処理の利便性からディスポケージを使用し、オートクレーブ後に医療廃棄物として処理している。

1) プリオンにおける (A)BSL の分類と基準

プリオン病は一般の病原微生物感染とは異なる点が多いことから、ここでは単純に一般的な病原微生物の ABSL に当てはめるのではなく、ABSL「相当」という呼称を用いた。

プリオンを用いた動物実験における各 ABSL 相当の措置と、取扱う際の宿主動物、プリオン株と実験内容の組み合わせとの関係を表 1 に示した。

表1 プリオンの動物実験に於ける ABSL の分類と基準

	宿主動物	プリオン株	実験内容
ABSL1 相当	ウシ	・ウシ海綿状脳症由来 プリオン	接種（脳内、腹腔内、血管内、経口） 後 29 日目以降の飼育のみ （外科的処置や剖検は ABSL3 相当）
ABSL2 相当	マウス、ラット、 ハムスター	・スクレイピー由来プ リオン	全ての動物実験（自然発生例の場合は ABSL3 相当）
ABSL3 相当	マウス、ラット、 ハムスター	・ヒトプリオン病由来 プリオン	全ての実験操作
	サル	・シカ慢性消耗性疾患 由来プリオン	
	ヒツジ、ヤギ ^(注1)	・ウシ海綿状脳症由来 プリオン ・ミンク海綿状脳症由 来プリオン	上記以外の全ての操作 ^(注2) （接種、外科的処置や剖検、接種後 28 日目までの飼育）
	ウシ		

注1) ヒツジ・ヤギはスクレイピーでの水平感染、BSE での血液感染が証明されていることから ABSL1 相当でそれらを宿主として実験することは出来ない。

注2) ウシへの脳内接種では糞尿にプリオンは検出されないことが予想できるが、接種プリオンが血中に混入する可能性が高いことから ABSL3 相当とした。

2) 各 ABSL 相当におけるプリオンの取扱い

a) ABSL1 相当プリオン

動物飼育室の構造

1. 感染実験区は他の区域と区別し、昆虫およびげっ歯類の侵入を防止する。
2. 床、壁には耐熱性でかつ消毒薬耐性の素材を用いる。
3. その他は非感染実験室の構造に準じる。

安全設備

1. 実験動物の飼育は脱出防止装置のついた施設・装置で行う。

標準操作手順

1. 感染実験区域内への飲食物の持ち込みを禁止する。（喫煙も不可）
2. 管理区域に手洗い装置を設け、作業後は手指の洗浄消毒を行う。
3. 動物実験室内では、マスク、帽子、ゴーグル、ゴムまたはプラスチック製の手袋、専用の作業衣、長靴を着用する。

4. 床敷交換等の作業時にエアロゾル発生を極力防ぐ。
5. 汚染機材は除染した後洗浄する。
6. 動物死体など、焼却可能な廃棄物は焼却処分する。
7. 汚染防止や除染、緊急時の対応を含めたマニュアルを作成する。
8. 動物実験関係者以外の立ち入りを制限する。

b) ABSL2 相当プリオン

動物飼育室の構造

1. プリオン専用の動物実験室（処置、飼育）とする。
2. その他、ABSL1 相当プリオンに準じる。

安全設備

1. 感染実験区域内に高圧蒸気滅菌器（133℃以上）を設置する。
2. マウス・ラットの飼育は陰圧式の飼育ラックで行う。
3. 動物の処置・剖検、および高濃度のエアロゾルを発生する作業は、クラス I、II 型生物学用安全キャビネット内で行う。
4. 小動物以外の動物への接種または剖検は、汚染防止のラボシートもしくはビニールシート上で行う。
5. その他、ABSL1 相当プリオンに準じる。

標準操作手順

1. 動物死体は焼却する。
2. 汚染機材、手術器具、ベンチシートなど汚染の可能性のあるものは、滅菌もしくは除染の後、廃棄もしくは焼却する。経口投与などプリオンが体外に排出される処置に用いたケージ等飼育機材も同様な対応を行う。
3. その他、ABSL1 相当プリオンに準じる。

c) ABSL3 相当プリオン

動物飼育室の構造

1. 動物飼育室の窓は非開閉式にする。
2. 飼育ラックは陰圧に保ち、動物実験室は陰圧であることが望ましい。
3. 動物飼育装置、安全キャビネットからの排気は高性能フィルターで濾過する。
4. 動物飼育室の入り口にはエアロックまたは二重ドアを設置する。
5. その他、ABSL2 相当プリオンに準じる。

安全設備

1. 感染実験区域内に高圧蒸気滅菌装置（140℃以上）を設置する。

2. 動物の飼育は陰圧式飼育ラックもしくは感染動物用アイソレータ内で行う。
3. 床敷交換は陰圧式の床敷処理キャビネット内で行う。
4. その他、**ABSL2** 相当プリオンに準じる。

標準操作手順

1. 動物飼育は原則として実験担当者が行う。
2. 実験に供した動物および使用した材料（プリオン）、採取した材料について、処置、保管等の詳細な記録を取る。
3. その他、**ABSL2** 相当プリオンに準じる。