

感染実験飼育室利用マニュアル

この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3までの微生物が使用できます。この区域以外はどのレベルであっても人為的に動物に微生物または発癌剤などの化学物質を投与す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感染・特殊実験動物小委員会を設け、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。

感染実験飼育室も他の飼育室と同様に共同利用して頂く場所です。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

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

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) 利用者は全員、東北大学における動物実験に関する指針講習会を受講のこと。
- 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のこと。
- 3) 感染域利用者は全員オリエンテーションを受けて下さい。オリエンテーションを受けていない人は入室出来ません。オリエンテーションは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）のみです。1 ケージ当たりの収容数はマウス 5 匹、ラット 3 匹までです。
- 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 P3 までの飼育室 2 室（BBH 飼育棚と安全キャビネットを設置）、P2 までの飼育室 1 室（セーフテイラックと安全キャビネットを設置）、発癌剤投与実験室 3 室（それぞれセーフテイラックを設置）、物品保管庫 2 室、および前室（廊下）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、各飼育室の責任者を決め協議の上、管理して下さい。
- 3) 物品庫、飼育室前室、更衣室、シャワー室及び大型オートクレーブは施設が管理します。
- 4) ケージ、給水瓶、床敷、飼料等は施設で所定の場所に準備しますので、適宜利用して下さい。
- 5) 実験者及び施設管理者の利用・管理マニュアルは別に定めているので、それに従って下さい。

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。また飼育経費は施設飼育経費に準じて徴収します。

感染実験飼育室利用者マニュアル

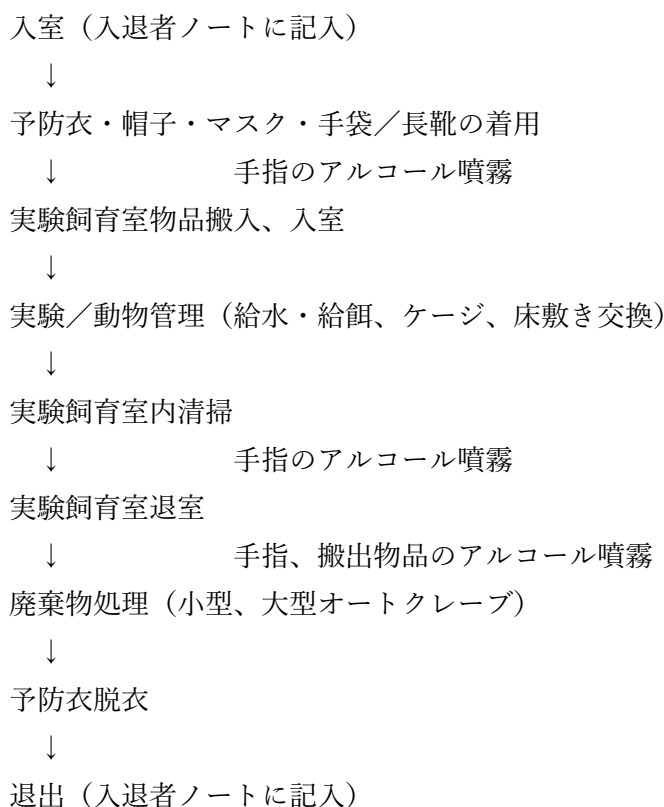
このマニュアルはこの飼育室の利用者のためのものです。熟読の上、安全な実験を行うようにして下さい。

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、利用者にやって頂きます。複数の実験グループがいる部屋は、協議の上、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1階更衣室にて衣類の交換（ズボン・上着）を行い、備え付けシャボネット石鹼水による手洗いを行って下さい。
- 2) 4階感染実験飼育室入口から入室し、備え付けの入退者ノートに記入して下さい。
- 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：感染域パスルームに供給するので、速やかに飼育棚に利用者が搬入して下さい。
- 2) 購入動物：施設職員が正面玄関で受取り、SPF動物受入れ室まで搬入します。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（下記ケージの準備項参照）。空の輸送箱はゴミ袋に入れ、感染域から退出する際外側をアルコール噴霧後し、1階SPF動物受入れ室へ戻して下さい。

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。
- 3) 物品保管庫は滅菌された物品等が保管されているため、飼育室へ入った後では再入室はしないで下さい。
- 4) 保管庫から飼育室までケージ等を運ぶ時は専用の台車を使って下さい。その際、専用台車は飼育室には入れず、搬出物品だけを搬入して下さい。専用台車はアルコール噴霧した後、畳んでもとの位置に戻して下さい。滅菌物をオートクレーブ室まで搬入する時も同様です。

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入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して下さい。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で拭き取って下さい。
- 5) セイフティラックでの飼育の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。1 袋にはマウスケージで最大 10 ケージを収納して下さい。ラット用ケージは 5 ケージとします。

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まとめて行って下さい。一度使っ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下さい。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。

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。エアーが極力入らないようにオートクレーブバック（S サイズ）に入れ、飼育実験室内小型オートクレーブで滅菌（使用方法参照）後ビニール袋等に入れ、飼育室出口で外側をアルコール噴霧してから感染実験室外へ持ち出し、3 階パスルールの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。空のケージはオートクレーブ室に用意してあります。
- 5) 給水ビン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側で行いますが、臨時に滅菌が必要な場合は施設に相談して下さい。

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、必ず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。オートクレーブバックは使用済み予防衣用滅菌缶に入れて下さい。

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 10 cm 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せん。
- 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。
- 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って下さい。

11 小型オートクレーブ操作方法

- 1) 排水バルブが確実に閉じているか確認して下さい。
- 2) 蓋を開いて缶内に給水して下さい。給水量は最高量 3.0 L くらいです。備え付けの飼育用蒸留水をオートクレーブバッグ (S サイズ) に入れ、排水分量を給水して下さい。塩素分を多く含んだ水は缶体を腐食させさびの発生原因になるので使用しないで下さい。
- 3) 給水タンクに給水して下さい。給水量は約 7.5 L、最低消費水位は 4~4.5 L です。使用中に点検し、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。蓋の締付け度合はパッキンが缶体のパッキン当りに当たってからハンドルを約 1/2 回転程 (180°) 回して締付けて下さい。
- 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°C 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、報知ブザーが約 30 秒鳴り続けます。
- 11) 排気バルブを開け、缶内の蒸気を排出して下さい。滅菌圧力計の針が下がり始めます。培地等を滅菌した場合は排気バルブを少し開けてゆっくりと時間をかけて缶内の圧力を下げて。急激に減圧しますと突沸による吹きこぼれや破瓶することがありますので特に注意して下さい。
- 12) 滅菌圧力計が 0 kgf/cm² 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 0 kgf/cm² になりましたら蓋を開け滅菌物を取り出して下さい。
- 13) 使用後 (121°C 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ください。排水はオートクレーブバッグに流し込み、無菌室流しに捨てて下さい。

12 実験中の注意点

- 1) 引っ掻き、噛まれたりされないようにするための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ム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なるべくその場で飼育実験室内の小型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。

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滅菌缶の中に入れて下さい。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 S サイズのオートクレーブバックに入れてから滅菌間の中に入れて下さい。
- 2) マスクや帽子は滅菌缶横のオートクレーブバックに入れて下さい。

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
- ・実験室内共通廃棄用オートクレーブバックの廃棄

2) P1 実験室

一ヵ月に一回飼育棚のブロアー左のプレフィルターを点検して下さい。汚れがひどい場合は代えのプレフィルターは保管庫に用意してあります。交換後のプレフィルターはオートクレーブバックに入れ、滅菌して下さい。

3) P2 実験室

BBHユニットのブロアー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

1) P1 実験室

施設職員担当者に実験終了の連絡をすること。

2) P2 実験室

使用済のBBHボックスの扉に滅菌テープを張って、施設職員担当者に実験終了の連絡をすること。