

## 動物実験センター利用手順

### 各区域共通の手順

#### 1. はじめに

動物実験を行う者は関係する法律や愛媛大学動物実験規則などを守り、社会から批判を受けないように注意し、社会的に許容される実験を最小限の数の動物を用いて、適切に行うように常に心がけること。また、動物実験センター（以下「センター」という）を利用するに当たっては、センター内を清浄に保ち、動物実験の遂行に影響を及ぼすような実験動物の病原微生物感染を防ぐように心がけること。

#### 2. 利用者登録の申請

- ①センターを利用する者（以下「利用者」という）は、原則として利用開始前に愛媛大学動物実験委員会主催の「教育訓練」及び、動物実験部門専門委員会主催の「利用者講習会」を受講する。教育訓練及び利用者講習会の開催日は、学術支援センター重信ステーション事務室（TEL: 960-5460）から通知される。
- ②利用者は、教育訓練及び利用者講習会受講後、管理室に「動物実験センター利用登録申請書」を提出し、静脈パターンを登録する。
- ③登録者は、年度ごとに登録の継続申請を行うこと。一度登録が抹消された者は、再度センターを利用する場合、教育訓練及び利用者講習会を再度受講しなければならない。

#### 3. 動物実験計画の申請

- ①利用者は、動物実験を始めるに当たり、予め「動物実験計画書」を医学部研究協力課に提出し、学長（動物実験委員会）の承認を受ける。
- ②遺伝子組換え実験を行う場合は、遺伝子組換え実験安全委員会の承認書の写しを添付する。
- ③微生物管理マニュアル別表1に定められているレベル2以上の微生物を用いた動物実験を行う場合は、バイオセーフティ委員会への届出書の写しを添付する。また、特定病原体を用いる場合は、事前に研究科長の承認を受け承認書の写しを添付する。
- ④発がん物質等危険物質を用いた動物実験を行う場合は、「発がん物質等危険物質使用実験申請書」を動物実験計画書と併せて動物実験委員会に提出すること。

#### 4. 動物を購入（寄付）してセンターに搬入する際の申請

- ①利用者は、動物を購入して（または寄付を受けて）センターに搬入する際、原則として動物搬入予定日の1週間前（遅くとも搬入予定週の月曜正午）までに、「動物実験センター利用申請書・許可書・明細書」を管理室に提出し、センター利用許可書に許可印をもらう。センター利用申請書・許可書・明細書には必ず動物実験計画の承認番号を、搬入を希望する飼育室がわかる場合にはその室番号を記載する。
- ②物品購入伝票にセンター利用許可書を添えて、調達第一チームへ動物購入（または寄付の受け入れを

申請する。

## 5. 動物の搬入

- ①センターで飼育可能な動物は、マウス、ラット、ハムスター、スナネズミ、ツパイ、モルモット、ウサギ、マーモセット、ブタ、イヌ、ヤギ、ヒツジ、ニワトリである。
- ②センターにマウス・ラットを購入・寄付・分与により搬入する際は「動物実験センターマウス及びラットの搬入要領」及び「SPF 基準」に従う。
- ③スナネズミ・ハムスターは繁殖業者の規定した SPF 基準を満たす個体のみ搬入できる。
- ④モルモット・ウサギは、業者の規定するクリーン動物、ヘルシー動物以上の微生物学的品質の個体のみ搬入できる。
- ⑤上記以外の動物は、健康な動物のみ搬入できる。
- ⑥遺伝子組換え動物（以下「Tg 動物」という）の搬入時には、情報提供を受けた者が動物の受け取りに立ち会う。
- ⑦所定のケージカード（または相当のタグ）に必要事項を記入し、動物のケージに取り付ける（飼育管理の項参照）。

## 6. 入退室及び作業動線

- ①センター内は微生物学的な清浄度に基づいて、高度 SPF (3F)、一般 SPF (3F)、一般 SPF (2F,1F)、コンベンショナル区域に分けられている。最も清浄度が高いのが高度 SPF 区域、最も清浄度が低いのがコンベンショナル区域である。一度清浄度が低い区域に入った後は、その区域より清浄度が高い区域に入ってはならない。また各区域内においては、定められた経路を通して作業すること。
- ②各階入り口で、上着や白衣はロッカーに入れ、入館準備室に入室後シューカバーを履き、手指の消毒を行う。高度 SPF 区域へ入る者は滅菌済みツナギに、それ以外の者はディスポーザブルガウンに着替え、マスク及びキャップを付ける。動物の処置に必要な手術道具や機器・装置などは、入館準備室へ入室前に消毒し、パスボックスに入れ、着替えた後に内側から取り出す。機器・装置などを持ち込み、センター内に置いておくことを希望する場合は、事前にセンター職員に相談し、了解を得ること。
- ③センター内にはネズミ返しを取り付けてあるので、入退館のときには注意する。原則的にネズミ返しを取り外してはならない。但し、台車の出し入れなどやむを得ないときは、Tg 動物が逸走していないことを十分確認した上で取り外し、その後、速やかに取り付ける。
- ④退室時には、着衣、マスク、キャップ、グローブ、シューカバーはそれぞれ指定の容器に入れる。
- ⑤清浄器材保管室の台車を用い滅菌済みケージを持ち出し、使用済みケージはその台車をそのまま使用し、指定された動線にしたがってケージ返却室まで運搬する。
- ⑥飼育室に入室する前に滅菌済みケージ置き場から必要数のケージや蓋を運ぶ。余ったケージや蓋は元に戻さずに飼育室に置いておき、次回に使用する。
- ⑦一日のうちで、複数の飼育室に入室する必要がある場合は、入室する室の順番について、センター職員の指示に従う。
- ⑧講座などで独自の飼養保管施設を保有している場合、センター利用者は講座独自の飼養保管施設での動物の飼育管理に極力関わらないようにする。同日中に両方の飼育管理がどうしても必要な場合には、

センターを利用した後に講座の動物の飼育管理を行う。

## 7. 飼育管理

- ①動物に触れる前に、必ずグローブを着用し備え付けの消毒液で手指の消毒を行う。
- ②動物が逸走しないように気を付けると共に逸走した場合は、備え付けの捕獲網などを用いて必ず捕獲すること。逸走した動物を捕獲できないときはセンター職員などに助けを求める。
- ③一般飼育（センターで用意した飼料と水を用いて飼育し、繁殖しない場合）の動物の管理はセンター職員が行う。上記以外の動物の管理は利用者が行う。
- ④ケージカードの色については以下の通りとする。
  - 白色：一般飼育の動物のケージ
  - 青色：有害化学物質投与実験中の動物のケージ
  - 黄色：Tg 動物のケージ
  - 赤色：上記以外で利用者が飼育する動物のケージケージカードには、講座名欄、利用者氏名欄、備考欄（主に系統名などを記入する）など動物の管理に必要な情報を記入する欄があるので、必ず記入する。
- ⑤マウスのケージ交換の際は、ピンセットを用いて動物を移動する。この際、使用済みケージ内にマウスが残っていないか十分確認する。Tg 動物のケージ交換の際には特に気をつける。
- ⑥ピンセットは、消毒液でケージ毎に消毒する。
- ⑦マウスは極小ケージは1匹、小ケージ及びCARD ケージは5匹まで、大ケージは10匹まで飼育可とする。ラットは大ケージで2匹まで飼育可とする。但し、繁殖など必要な場合は、3匹まで飼育可とする。
  - ハムスター、スナネズミは大ケージで3匹まで飼育可とする。
- ⑧離乳は生後3-4週で行う。但し、生育の遅い場合は様子を見て行う。
- ⑨利用者は、各区域指定の場所に置いてある滅菌済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶など）を使用する。
  - ケージ、給水ビンは約2週間毎に、蓋は約1ヶ月毎に交換する。
- ⑩使用済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶など）を所定の場所へ運ぶ。
- ⑪自動給水装置を使用して飼育する場合は、給水ノズルからチューブがはずれかかかっていないかどうか、また給水ノズルに異常（水が止まらない、水が出ないなど）がないかをケージ交換時に確認すると共に、給水ノズルを確実にケージの蓋に取り付ける。
- ⑫ケージ交換作業の後など飼育室を汚した場合は、清掃・消毒し、飼育室を清潔に保つ。
- ⑬異常な状態の動物を見つけた場合には、直ちにセンター職員に連絡する。
- ⑭動物は指定された飼育室から無断で他の飼育室へ移動してはならない。移動する必要があるときは、センター職員と相談の上、その指示に従って移動させる。
- ⑮Tg 動物を飼育する場合には「動物実験センタートランスジェニック動物取扱要領」に従う。
- ⑯学会などで長期不在の場合は、利用者は予め動物の飼育管理をセンター職員に依頼することもできる。

## 8. 動物実験の実施.

①動物実験を行う際は、麻酔などにより動物の苦痛を出来るだけ軽減するように努める。やむを得ない理由がある場合を除き、エーテルやペントバルビタール単剤の使用は推奨されない。

### 【麻酔法の例】

#### マウス

- 塩酸ケタミン 80 mg/kg + 塩酸キシラジン 16 mg/kg 腹腔内投与
- ミダゾラム 4 mg/kg + 塩酸メドミジン 0.3 mg/kg + ブトルファノール 5 mg/kg 腹腔内投与
- イソフルラン吸入

#### ラット

- 塩酸ケタミン 90 mg/kg + 塩酸キシラジン 10 mg/kg 腹腔内投与
- ミダゾラム 2 mg/kg + 塩酸メドミジン 0.15 mg/kg + ブトルファノール 2.5 mg/kg 腹腔内投与
- イソフルラン吸入

#### ハムスター

- 塩酸ケタミン 35 mg/kg + 塩酸キシラジン 5 mg/kg 腹腔内投与
- イソフルラン吸入

#### ウサギ

- 塩酸ケタミン 35 mg/kg + 塩酸キシラジン 5 mg/kg 筋肉内投与
- イソフルラン吸入

#### スナネズミ

- 塩酸ケタミン 100 mg/kg + 塩酸キシラジン 16 mg/kg 腹腔内投与
- イソフルラン吸入

#### モルモット

- アトロピン 0.05 mg/kg 投与後 → 塩酸ケタミン 40 mg/kg + 塩酸キシラジン 5 mg/kg 腹腔内投与
- イソフルラン吸入

(参考) 東北大学動物実験センター規定:

<http://www.clar.med.tohoku.ac.jp/data/kitei/11th/hoi711th.pdf9>

## 9. 処置室などの使用

①動物の処置は、原則としてセンター各階所定の処置室内で行う。但し、必要に応じて飼育室内で簡単な処置を行うことができる。

②処置室を使用する際は、機器予約システムから必ず予約をする。

③処置室を使用した後は、整理整頓し、清潔に保たなければならない。

④処置室・実験室に備え付けてある共同利用機器・装置を使用するときは、機器予約システムから必ず予約をする。また、装置使用上の注意事項や感染防止のための注意事項などを守る。不明な点は担当者に尋ねるなどして、勝手に操作してはならない。

⑤共同利用機器・装置を使用した場合は、必要事項を機器予約システムに入力する。

- ⑥ X線照射装置及び軟X線撮影装置を使用する者は、X線装置取扱者の教育訓練を受講すること。
- ⑦ X線照射装置を使用するときは、鍵を管理室で借り、使用後は直ちに鍵を返却する。
- ⑧ 実験装置・機器を破損させた場合や故障などの異常を発見した場合は、直ちにセンター職員に連絡する。

#### 10. 動物の搬出

- ① 動物をセンター外に持ち出す際には、動物が逸走しないように、また人目につかないようにするためケージを備え付けのビニール袋、輸送箱または段ボール箱などに入れる。
- ② 動物をセンター外に持ち出す際には、逸走しないように特に気を付ける。逸走したときには必ず捕獲する。
- ③ 原則としてマウス、ラットをセンター外に持ち出した後は、再びセンター内に持ち込むことは出来ない。
- ④ 動物をセンター内で逃がしたときは、速やかにセンター職員に連絡する。
- ⑤ Tg 動物をセンター外に運搬する際は、逃がさないように特に気をつける。万一 Tg 動物を逃がしたときは、速やかにセンター実験動物管理者(センター専任教員)、センター管理者(動物実験部門部門長)、研究協力課などに連絡する。
- ⑥ Tg 動物をセンター外に逃がしてしまった場合、学長をはじめ多くの研究者・職員などに多大な迷惑をかけることを十分に理解した上で実験にのぞむ。

#### 11. 動物及びケージの増減届

- ① 動物匹数が増加(繁殖・離乳)したときは、その匹数を必ず動物増減管理システムに入力する。
- ② 動物匹数が減少(センター内で実験に使用して安楽死、処分、淘汰、センター外へ持ち出し)したとき、または動物が死亡(自然死、事故死)したときには、その匹数を必ず動物増減管理システムに入力する。
- ③ ケージを使用、返却したときは、その個数を必ず動物増減管理システムに入力する。
- ④ 動物をセンター内の他の飼育室へ移動するときは、事前にその匹数及びケージ数を必ず担当職員に連絡する。

#### 12 センター外に持ち出したケージの返却

- ① センター外に持ち出したケージは、洗浄、乾燥した後、1階ケージ返却室に返却する。

#### 13. 動物実験終了後の処置及び動物死体の処理

- ① 実験に使用した後の動物は、速やかに安楽死させる。エーテルの使用は推奨されない。
- ② 安楽死の操作は、人目に付かないように行う。
- ③ センター内で安楽死させた動物の死体は黒いビニール袋に入れ、各階の冷凍庫で一時保管する。
- ④ センターから持ち出した後に安楽死させた動物死体は、センター内へ持ち込んで서는ならない。このような動物死体は、各講座の動物用冷凍庫で一時保管の後、指定された日時に廃棄実験動物搬出用保管庫に運ぶ。
- ⑤ 利用者は実験に使用した Tg 動物の個体数を記録し、5年間保管する。

#### 14. 動物死亡の通知及び保存

①利用者が学会などで不在の場合は、予め飼育中の動物の死体の処理をセンター職員に依頼できる。

#### 15. 飼育室の空調・照明

①各飼育室は  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  に空調されているので、入出時の扉の開放は最小限にする。

②各飼育室の照明は、原則として午前 7 時と午後 7 時にタイマー制御により自動で点消灯される。利用者は、勝手に点消灯時刻を変更してはならない。

回避できない理由があり消灯時間中に入室するために照明を点灯させた場合は、退室時に必ず消灯すること。

③室温・照明について異常に気づいたときは、センター職員に連絡する。照明の異常に気づいた場合、独自の判断でタイマーを操作してはならない。

#### 16 災害・事故発生時の処置

① 地震や火災など重大な災害が発生した場合、「愛媛大学動物実験センター災害時対応マニュアル」に従い、人身の安全確保の措置を執るとともに、実験動物の逸走防止、逸走した実験動物の捕獲に努める。

②緊急事態発生時は、随時、部門長に対応措置内容及び対応結果などについて報告し、指示を仰ぐ。

③針刺しや動物に咬まれるなどしてアナフィラキシーを発症した場合、ただちに救急部 (TEL: 5722) などに連絡する。時間外の場合は、病院当直室 (TEL: 5210) などに連絡する。

## 区域別手順

### 1. 高度 SPF 区域（3 階）

- ①高度 SPF 区域の利用は、免疫不全動物などを清浄環境下で飼育する必要がある場合に限る。（ヌードマウス移植実験・X線照射動物・術後動物の観察など）
- ②複数の実験者が同一期間、同室を利用する場合、予め当事者間で利用方法の調整を行う。
- ③利用者が飼育管理を行う。
- ④実験動物は、原則としてクリーンラックなどの特殊飼育装置内でのみ飼育する。
- ⑤区域内の滅菌済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶、飲料水用タンク、飼料など）を使用する。
- ⑥使用済みケージ、蓋、給水瓶はケージ返却室（341 号室）へ運ぶ。動物死体は、ケージ返却室の冷凍庫で一時保管する。
- ⑦利用者は動物の飼育を終了した後、クリーンラックなどの飼育装置内を清掃し、消毒液にて内面をふきとる。
- ⑧処置は、原則としてクリーン動物処置室（309 号室）内で行う。但し、必要に応じて飼育室内で簡単な処置を行うことができる。

### 2. 一般 SPF 区域（3 階）

- ①3 階の清浄器材保管室（304 号室）の滅菌済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶など）を使用する。飼料は各飼育室内のものを使用する。
- ②使用済みケージ、蓋、給水瓶はケージ返却室（341 号室）へ運ぶ。動物死体はケージ返却室（341 号室）の冷凍庫で一時保管する。

### 3. 胚操作室（345 号室）

- ①胚操作室で利用可能な動物種はマウスのみである。その他の種の動物の使用を希望する場合は、センター職員に相談し、その指示に従う。
- ②胚操作室利用者は、原則として利用 1 週間前までにセンター職員に相談し、調整する。
- ③胚操作室内に持ち込める動物は、センターの SPF 基準を満たす動物に限る。
- ④原則として、胚操作室内に持ち込める生体材料は、同胚操作室で凍結保存された胚・精子に限る。ただし、これ以外の胚・精子及びその他の生体材料（精巣、精巣上体、精管、卵巣、卵管など）の持ち込みを希望する場合は、センター職員に相談し、その指示に従う。
- ⑤胚操作室内の実験器材のうち液体窒素・冷光源替えランプの補充はセンター職員が行う。これ以外に必要なものは利用者が用意する。
- ⑥胚操作室使用期間中の室内の管理は、原則として各利用者が行い、室内を整理整頓し清潔に保つこと。

#### 4. 一般 SPF 区域（2 階・1 階各飼育室・処置室）

- ①2 階の清浄器材保管室の滅菌済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶など）を使用する。飼料、飲料水用タンクなどは各飼育室内のものを使用する。
- ②実験室内の装置を使った実験に供する動物は利用者が飼育管理を行う。
- ③P2A・in vivo 飼育室では、飼育室内の滅菌済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶、飲料水用タンクなど）を使用する。
- ④使用済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶、飲料水用タンクなど）は 2 階ケージ返却室（241 号室）に運ぶ。  
動物死体は、ケージ返却室の冷凍庫で一時保管する。
- ⑤センターの他の階から 1 階へ動物を移動する場合エレベーターを使用する。
- ⑥P2A クラスの遺伝子組換え動物実験を行うときは、事前にセンター職員に連絡しその指示に従う。
- ⑦P2A クラスの遺伝子組換え動物実験を行うときは、248 号室で飼育した動物を 1・2 階各実験室での実験に供することができる。その際、飼育に使用した飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶、給水用タンクなど）は 248 号室内オートクレーブ前室まで運ぶ。動物死体はオートクレーブ前室の冷凍庫に一時保管する。但し、PCR などを用いて、ベクターとして使ったウイルスが動物から排出されていないことが確認された場合は、この限りではない。
- ⑧P2A クラスの遺伝子組換え動物実験を行うときは、飼育室と実験室に「組換え動物等飼育中（P2A）」と表示する。
- ⑨2 階一般 SPF 区域で X 線を照射した動物を飼育したい場合は、予め担当職員に相談すること。

#### 5. コンベンショナル区域（感染実験室）

- ①感染実験室に入る際は、前室にて感染実験室専用のガウン（ピンク色）、キャップ（ピンク色）、マスクに取替え、履物を履き替え、手指を消毒する。
- ②感染実験に用いることができる動物は、マウス、ラット、ハムスター、スナネズミ、モルモット、ウサギ、ツパイである。
- ③感染実験に用いることができる微生物は、BSL1 及び BSL2 の微生物のみである。
- ④利用者は、使用する病原微生物名などを「動物実験センター利用申請書」に記載する。
- ⑤複数の実験者が同一期間内に同室にて感染実験などを行う場合は、予め当事者間で利用方法の調整を行う。
- ⑥利用者が飼育管理を行う。
- ⑦飼育室内の滅菌済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶、飲料水用タンクなど）を使用する。
- ⑧使用済み飼育用具（ケージ、蓋、給水瓶、飲料水用タンクなど）は、感染室内の滅菌準備室に運ぶ。動物死体は、滅菌準備室の冷凍庫に保管する。
- ⑨室内での実験操作は、安全キャビネット内で行い、操作終了後は清掃消毒しておく。
- ⑩原則として動物を感染室外に持ち出してはならない。
- ⑪やむを得ず感染動物を室外に持ち出す場合は、病原体が蔓延しないようにするため、ケージをビニール袋で包み、さらに動物が逸走しないようにするためケージを段ボール箱などに入れる。

- ⑫感染室から医学部本館などへ持ち出した後に安楽死させた動物の死体は、滅菌後、指定された日時に廃棄実験動物搬出用保管庫に運ぶ。
- ⑬「感染動物実験における安全対策（国動協）」に定められている事項を守って実験を行う。
- ⑭退室する際は、手指を消毒し、前室に感染実験室専用の予防衣（ピンク色）、キャップ（ピンク色）、マスクを前室内の指定の容れ物に入れる。

#### 7. コンベンショナル区域（ウサギ・モルモット・マーモセット・ツパイ）

- ①飼育室に入る際は、コンベンショナル専用のガウン（黄色）、キャップ（ピンク色）、マスクを着用する。
- ②モルモットとウサギのケージを飼育装置に取り付けるときには、給水ノズルがケージ内に入るように、確実に奥へ押しつける。
- ③処置室を使用した後は、床を洗浄し整理整頓した後、退室する。

#### 8. コンベンショナル区域（中動物飼育室）

- ①中動物飼育室で飼育できる動物種は原則としてブタのみである。この他の中動物（ヤギ、ヒツジ、ニワトリなど）を使用したい場合には、事前にセンター職員に相談し、その指示に従うこと。
- ②動物の搬入はセンター職員が行う。利用者は必要に応じて、搬入された動物の性別、体重などを確認する。
- ③飼育室入り口で、上着や白衣をロッカーに入れ、指定のガウンに着替え（手術着で入室する者は着替えなくても良い）、マスクを付け、手指の消毒を行う。
- ④退室時には、着衣、マスクはそれぞれ指定の容れ物に入れる。
- ⑤一般飼育（センターで用意した飼料、水で飼育）の場合、飼育管理はセンター職員が行う。特殊飼育（特別な飼料、水で飼育）の場合、飼育管理は利用者が行う。
- ⑥飼育室を汚した場合は、掃く、拭く、水で流すなどして、飼育室を清潔に保つ。
- ⑦異常な状態の動物を見つけた場合には、直ぐにセンター職員に連絡する。
- ⑧手術前に絶食などを希望する場合は、事前にセンター職員に連絡する。
- ⑨動物実験を行う際は、麻酔などにより動物の苦痛を出来るだけ軽減するように努める。

ブタの麻酔法については、以下の参考図書を参照のこと。

（参考図書）バイオメディカルリサーチマニュアル VII 麻酔と実験終了後の処置

倉林 譲 編著 養賢堂 1994

（参考図書）実験動物学 技術編

田嶋嘉雄 編 朝倉書店 1977

（参考図書）ブタ・ミニブタ実験マニュアル

アドスリー 2017

- ⑩動物を実験に使用して安楽死させたときには、その匹数を必ず動物増減管理システムに入力する。
- ⑪実験に使用した後の動物は、速やかに安楽死させる。
- ⑫安楽死の操作は、周囲に配慮して行う。
- ⑬センター内もしくは愛媛大学医学部附属低侵襲手術トレーニング施設内で安楽死させた動物の死体は、センター1階の冷凍庫で一時保管する。

附則

1. この利用手順は平成 24 年 6 月 25 日から施行する。
2. 利用の手引き及び利用マニュアルは廃止する。

附則

1. この利用手順は平成 27 年 4 月 1 日から施行する。

附則

1. この利用手順は令和元年 10 月 1 日から施行する。

附則

1. この利用手順は令和 2 年 7 月 1 日から施行する。