

動物実験施設における新規清浄度評価法の検討

Examination of a New Cleanliness Evaluation Method in Laboratory Animal Facilities

細谷 純一*1
Junichi HOSOYA

阿久津 康生*2
Yasuo AKUTSU

1. はじめに

動物実験において、正確な実験結果を得るためには、微生物の管理がなされ、病原体の感染がないことが確認された品質の高い実験動物を用いる必要がある。一般的に微生物感染症の管理として、動物実験施設における清浄度評価が実施されている。清浄度評価には空中細菌数の測定を行うことが一般的であり、動物実験施設の落下細菌数の基準値（動物を飼育していない時の清浄域内落下細菌は9cm径シャーレ30分開放時で3個以下）も示されている。日本自動車研究所（JARI）では、大気や自動車排気の吸入毒性試験を主体とした健康影響評価を中心に実施しているため、細菌等による実験動物の呼吸器感染症には特に注意する必要がある。しかし、空中細菌には多くの変動要因があり、動物搬入後の日数、測定時刻が空中細菌数に影響を与えること、さらには、空中細菌は動物の収容密度、温度、湿度、換気回数、ケージ交換後の日数と関係があり、実際の汚染レベルを正確に把握することは難しいとされている。さらに測定に数日かかるため、リアルタイムで情報を把握できないという課題もある。そのため、より迅速、簡便なかつ精度の高い評価法の開発が望まれている。

近年、落下細菌数に代わる清浄度評価法として、アデノシン三リン酸（Adenosine Triphosphate: ATP）拭き取り検査法が注目されている。ATPは生細胞において用いられるエネルギーの保存と利用に関与しているヌクレオチド（塩基+糖+リン酸の構造をもつ化合物で核酸を構成する構造単位）であり、すべての生物がこれを利用している。従ってATPの検出は微生物が存在することの指標となる。このATPを指標とした微生物測定法は、アメリカ疾病予防管理センターが、環境表面の洗浄の有効性評価法の一つとして挙げている¹⁾。また、日本医療機器学会の「洗浄評価判定ガイドライン 2012」²⁾および「医療現場における滅菌保証のガイドライン 2015」³⁾に収載され、国内では、食品衛生分野や医療分野で広く利用されている。動物実験施設の清浄度評価においては、ATP拭き取り検査の基準値は定められていないが、上記の医療現場と同様に、作業環境を清潔に維持することが求められており、類似した作業環境と考えられる。そこで本稿では、JARIの動物実験施設においてATP拭き取り検査を実施し、その測定値を医療現場の基準値と比較することで、動物実験施設の清浄度評価においてATP拭き取り検査が有効か否かについて検討した結果を報告する。

2. 方法

2.1 ATP拭き取り検査の原理

ATPはD-ルシフェリンと酸素の存在下で、ルシフェラーゼを反応させることにより、アデノシン一リン酸（AMP）・ピロリン酸・オキシルシフェリン・二酸化炭素に分解され、この際に発光を生じる（図1）。この反応で生じる光の量はATP量と比例することから、発光量を測定することによりATPを定量することができる。ATP化学発光量（測定単位RLU: Relative Light Unit）は、細菌数と強い正の相関を持ち、細菌に含まれるATP（生体内ATP）と生物由来の汚れ（有機物）や残魏（遊離ATP）の合計ATP量を測定することになる。

*1 一般財団法人日本自動車研究所 エネルギー・環境研究部 博士（理学）

*2 一般財団法人日本自動車研究所 エネルギー・環境研究部

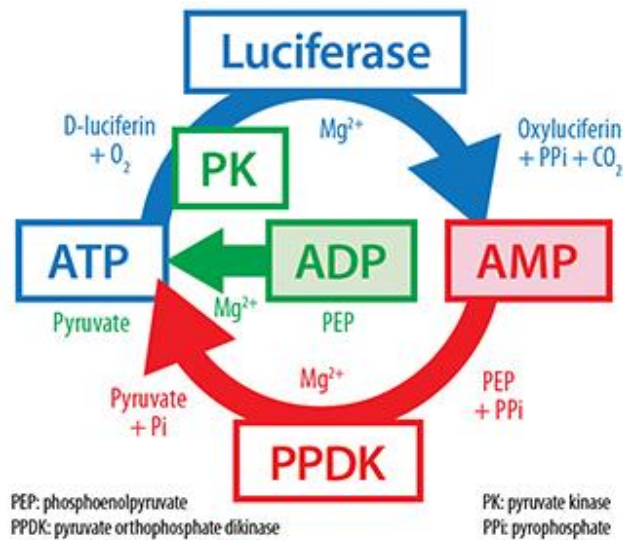


図1 ATP測定の原理 4)

2.2 JARI 動物実験施設内の清浄度評価

ATP の測定は、ルミテスターSmartおよびルシパックA3 (共にキッコーマンバイオケミファ製) を用いて実施した。JARI内の動物実験施設が稼働している5週間の間、動物を飼育し、飼育ケージの交換などの作業を行う部屋の作業台とドアノブの2か所について、週1回、ATP 拭き取り検査 (図2) を実施し、測定値として表示された相対発光量 (RLU) を記録した。



図2 実際のATP拭き取り検査の様子

3. 結果と考察

測定結果を表1に示す。1週目の清掃前に関しては、約1年間稼働していなかった動物実験施設の空調を稼働させた直後であり、特に作業台の数値は195 RLUと高かった。その後、専用の薬剤 (次亜塩素酸ナトリウムを主成分とした薬品) による清掃を毎日実施することで、5週目には、作業台は23 RLU、ドアノブは12 RLUまで数値が低下した。なお、本検討期間中、ATP 拭き取り検査と同時に、落下細菌数の試験を実施し、基準値内であることを確認した。

表1 JARI動物実験施設内で測定したATP値 (RLU)

	作業台		ドアノブ	
	清掃前	清掃後	清掃前	清掃後
1週目	195	36	44	24
2週目	89	36	34	19
3週目	52	25	28	20
4週目	25	22	17	10
5週目	37	23	19	12

上述したように、動物実験施設における清浄度評価において、ATP 拭き取り検査の基準値は定められていない。しかしながら、動物実験施設に比較的作業環境に近い医療分野では、表2のような基準値が定められている。動物実験施設と医療分野の清浄度を同じに考えることは出来ないが、どちらの現場においても、使用する器具を滅菌・消毒することで作業環境を清潔に維持していることから、この基準値が一つの参考値として考えることができる。表2によると、医療場所・医療器具の多くの基準値が200 RLU以下であり、特に人体に触れたり、挿入したりする器具については100 RLU以下に設定されていることが分かる。これらの基準を考慮すると、動物実験施設においては、最低でも100 RLU以下に維持されることが望ましいと考えられる。上述したように、今回のJARI動物実験施設内では、最終的に10～30 RLUで維持出来たことから、医療現場と同等以上の清浄度を維持できており、動物実験施設の清浄度評価におけるATP 拭き取り検査が有効である可能性が示唆された。

表2 医療分野の清浄度評価で使用されるATP値 (RLU) ^{2), 3)}

検査場所・器具等	管理基準値 (RLU)
ナースステーション	
血圧計ポンプ	500
ワゴン	200
電話機	200
聴診器	200
パソコン (キーボード, マウス)	200
冷蔵庫取っ手	200
病棟	
オーバーテーブル	500
ドアノブ	200
ベッド柵	200
ナースコールボタン	200
各種スイッチ	200
医療機器	
鋼製小物	100
消化器内視鏡	100
透析装置カブラ	100

4. まとめ

動物実験施設の清浄度をATP 拭き取り検査により評価した。結果、JARIの動物実験施設内のATP 測定値が医療分野で取り入れられているATP 測定値の基準値以下であることから、動物実験施設の清浄度評価においてATP 拭き取り検査が有効である可能性が示唆された。しかしながら、本評価法は細菌だけでなく、すべての生物のATP を評価しているため、動物実験施設の清浄度評価においては、従来の落下細菌数の評価と併用した形で活用していくことが望ましいと考えられる。今後JARIの健康影響研究においては、従来の動物曝露実験に代わり、培養細胞を用いた曝露実験が主流となることが予想される。そのため、これまで以上に装置や器具の清浄度管理に気を付ける必要がある。本評価法は、動物実験施設の清浄度評価以外にも、そのような実験環境の清浄度担保にも活用できる可能性があるため、今後も継続してデータを蓄積していく予定である。

参考文献

- 1) Guh A, Carling P, the Environmental Evaluation Workgroup. CDC Environmental Checklist for Monitoring Terminal Cleaning. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. 2010.
<http://www.cdc.gov/HAI/toolkits/Environmental-Cleaning-Checklist-10-6-2010.pdf>. (2010)
- 2) 日本医療機器学会 滅菌技士認定委員会. 洗浄評価判定の指針を調査・作成するための検討 WG. 洗浄評価判定ガイドライン 2012 年. 一般社団法人日本医療機器学会, p.1-14 (2012)
- 3) 日本医療機器学会. 医療現場における滅菌保証のガイドライン 2015. 一般社団法人日本医療機器学会 (2015)
- 4) 月刊 HACCP 2016 年 6 月号 p.55-61 (2016)