

マウス肝炎ウイルス（MHV）の感染事故を経験して

○福山伸隆、上村亮三

鹿児島大学フロンティアサイエンス研究推進センター 動物実験施設

1. はじめに

2009年1月の定期微生物モニタリング検査でマウス肝炎ウイルス mouse hepatitis virus（以下 MHV）陽性のマウスが確認されたとの連絡が、検査を依頼している熊本大学生命資源研究・支援センターよりあった。直ちに感染症対策として汚染室の封鎖、感染動物の隔離、マウス利用者会議の開催、動物の再検査、飼育器材の滅菌、飼育室の洗浄、消毒等を徹底的に講じた結果、被害を最小限で食い止めることができ MHV は5月に終息した。そこで、今回発生した MHV 感染事故対策の内容と再発防止策として新しく隔離室を設置したので紹介する。

2. 感染事故の経過概要

MHV は2009年1月16日の定期微生物モニタリング検査で検出された。検査結果は ELISA（血清）、PCR 検査（糞便）のいずれも陽性と判断された飼育室が1室、ELISA 検査のみ陽性の飼育室が11室との連絡を聞いて一時施設はパニックに陥った。しかし確定診断の結果、MHV 陽性の飼育室は4階の2室のみであることが判明した。直ちに感染している飼育室を封鎖し、MHV が発生した飼育室の動物について調査したところ、同飼育室に2008年11月K大学とC大学からマウスが分与されていたことが判明した。分与前の9月の微生物モニタリング検査成績はすべて陰性であった。このことを考慮すると、分与されたマウスが感染していた可能性が高いことが考えられた。そこでマウスを使用している利用者を対象に利用者会議を開催し、汚染状況、発生原因、今後の対策と対応について検討するとともに聞き取り調査を行った。聞き取り調査の中で、MHV 陽性マウスを飼育していた利用者が他の飼育室にも出入りしていたことが分かった。文献によると MHV ウイルスは空気感染の他に人、衣類、器材を介して拡大すると言われている。そこで再検査を2月9日行ったところ新たに3飼育室から MHV 陽性のマウスが確認された。その後も2月24日、4月7日と期間を置いて再検査したが陽性マウスは検出されなかった。今回は発見が早かったことと、MHV の封じ込めが上手くいったこともあり、被害にあった飼育室は4階の5室で済んだ。（図1）しかし、再感染も考えられるので、4月21日感染していない飼育室の安全を確認するために飼育室の排気フィルターに付着したダストを採取し、MHV ウイルスの有無について PCR 検査を行った。結果、全マウス室から MHV ウイルスは検出されなかった。これらの検査結果を4月23日マウス利用者会議で報告したのち、5月11日に終息宣言を行い、5月19日よりマウスの入荷を再開した。（表1）

図1 マウス肝炎ウイルス発生場所(4F)

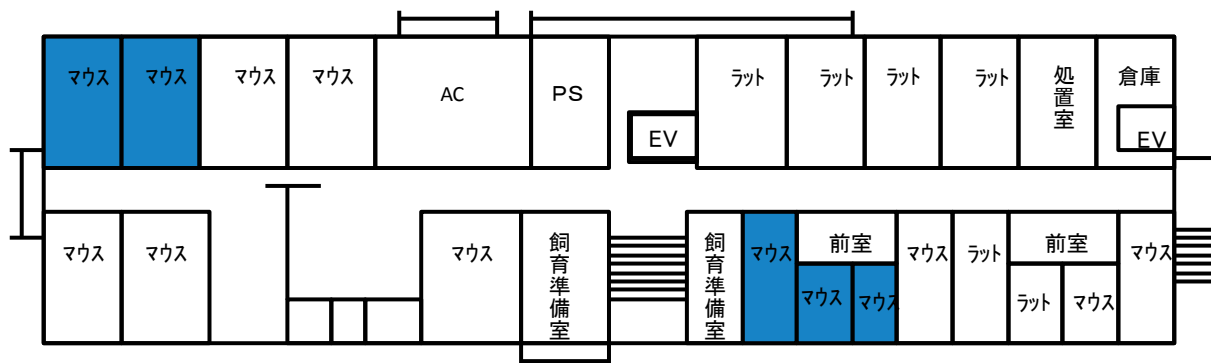


表 1 MHV発生経過と対応

2008年（平成20年）	
9月17日	定期微生物モニタリング検査（陰性）
11月11日	K大学より遺伝子組換えマウスを搬入
27日	C大学より遺伝子組換えマウスを搬入
2009年（平成21年）	
1月16日	定期微生物モニタリング検査でMHV（陽性）
19日	第1回マウス利用者会議
23日	確定診断2室（陽性）
27日	第2回マウス利用者会議
2月 9日	マウス再検査3室（陽性）
12日	第3回マウス利用者会議
24日	マウス再検査（陰性）
4月 7日	マウス再検査（陰性）
21日	各マウス飼育室排気フィルターのダスト検査（陰性）
23日	第4回マウス利用者会議
5月11日	終息宣言
19日	マウスの入荷を開始する
6月16日	定期微生物モニタリング検査（陰性）

3. MHV 感染に対する対応

MHV 感染が判明した段階でマウス利用者会議を開催し、利用者に感染動物の隔離と淘汰、実験の一時中止、繁殖の中止、マウスの入荷中止、動物の移動禁止、飼育室・フロア間の移動禁止、実験機器の移動禁止、飼育室内での予防着の着用、再検査用の実動物の提供をお願いした。（表2）ケージ交換作業についてもマニュアルを作成し、作業手順を守るよう利用者に指示した。（表3）また、マウス飼育室内から出される飼育器材については、すべてオートクレーブによる滅菌を行った。

表 2 MHV感染対策

1. 感染マウス飼育室の封鎖
2. 感染の原因調査
3. 利用者説明会開催（経過、原因、対策）
4. 感染マウスの淘汰・隔離
5. 実験の中止
6. 新規マウスの入荷禁止
7. 動物、実験機器の移動禁止
8. 全マウス飼育室の入室制限
9. 再検査
10. 飼育室の消毒・洗浄
11. モニターマウスによる飼育室の安全確認検査
12. 飼育室の再オープン

表 3 ケージ交換作業の手順

1. 1階更衣室で専用の実験着、帽子、マスク、手袋を着用する
2. 洗浄室よりケージ運搬用の台車を持ってくる
3. Cleanエレベーター前に行き、ハンドスプレー（70%アルコール）でスリッパの裏側を消毒する
4. Cleanエレベーターで4階または5階に上がる
5. 飼育準備室より滅菌してあるケージ、給水ビン等を台車に乗せ飼育室入口に運ぶ
6. 飼育室入口に準備してある予防着（ビニール製の割烹着）を着用する
7. 飼育室専用のスリッパに履き替える
8. 飼育室内にケージ、給水ビン・耐熱袋（使用済みケージ・給水ビンを入れる）、50lのビニール袋を搬入する
9. 飼育室内でケージ交換作業を行う（動物の取り扱いはビンセットで行う）
10. 使用済みのケージ・給水ビンを耐熱袋に入れガムテープで閉じる
11. 着用していた予防着、帽子、マスク、手袋は飼育室内で脱衣し、50lのビニール袋に入れ口を閉じる
12. 耐熱袋に入ったケージ・給水ビンと予防着等の入ったビニール袋の周りをハンドスプレー（70%アルコール）で消毒後台車に載せる
13. 飼育室内のハンドスプレー（70%アルコール）で手指、ドアノブを消毒後、ローカに出て新しい帽子、マスク、手袋を着用する。
14. Dirtyエレベーターで交換したケージ等を1階洗浄室に降ろす
15. 脱衣室で帽子、マスク、手袋、実験着を脱衣し、手指をハンドスプレー（70%アルコール）で消毒を行って退館する

4. 飼育室内の清浄化

飼育室のクリーニングは、感染マウスの淘汰後に行った。消毒剤として塩素系のエキスポアーと塩化ベンザルコニウムの2種類を使用した。作業手順はエキスポアーで噴霧消毒後2日間放置し、再度エキスポアーで噴霧消毒したのち室内を水道水で洗浄した。洗浄後の消毒には塩化ベンザルコニウムを噴霧した。飼育室内に持ち込まれた実験機器はホルマリン滅菌装置で滅菌した。クリーニング後にはモニターマウスによる微生物モニタリングを実施し安全を確認した。安全が確認された後は、MHVの再発を防ぐ目的でラットを飼育するようにした。

5. 感染事故の損害

感染事故の被害を受けた講座は8講座で、淘汰したマウスは1,100匹であった。また、講座が行った微生物クリーニング費について金額は不明だが多額の費用が掛かったと聞いている。施設においても微生物モニタリング検査費、消毒薬費、感染対策用品費に320万ほどの費用が掛かり施設の財政を圧迫させた。

6. 隔離室の設置

施設には隔離室が無かった。そのため外部の大学または研究所から動物を搬入する場合、事前に最新の微生物モニタリング検査成績書を提出してもらい、成績に異常がなければ直接飼育室に搬入していた。このような検疫体制が今回のMHV感染を招いた一つの原因と考えられたことから、大学の協力のもと施設3階フロアの一部を隔離室に改修した。隔離室は4室からなり、各飼育室にアイソレーションラックと安全キャビネットを導入した。アイソレーションラックにはマウスケースの場合16個、ラットケージは8個が収容できる。安全キャビネットは動物が感染していた場合の事を考え、ケージ交換作業をキャビネット内で行うようにした。搬入された動物は一か月間おとり動物と同居させたのち、微生物モニタリング検査を行い異常がなければ一般の飼育室へ移動する二段階導入システムを採用している。隔離室の設置は感染症対策に極めて有効と考えられる。

7. 最後に

今回のMHV感染事故で施設職員はもとより利用者も大変な労力を費やしたことにより、感染症に対する意識、考えが変わった。再度このような感染事故を起こさないように施設職員、利用者感染症の怖さを周知徹底していきたい。最後に、今回のMHV感染事故に対しご指導ご協力を頂いた熊本大学生命資源研究・支援センターの浦野 徹教授、長崎大学先導生命科学研究支援センターの大沢一貴教授に深く感謝いたします。

参考資料

- 1) 前島一淑、浦野 徹、佐藤 浩、八神健一 (1988) 実験動物における滅菌・消毒作業マニュアル、87.
- 2) 山本 博、上坂浩実、和泉宏謙、山城富美子、清水友子、吉田勝美、奥野政弘、李 成一(2005) :
富山医科薬科大学における平成14年夏に発生し15年春に終息したマウスMHV汚染の状況とその対応 実験動物技術.40(2). 93-98
- 3) 渡辺洋二 (2002) : MHV汚染からの脱出記 実験動物と環境.10(1). 03-07