

(f) 試験成績に影響しない場合は、手術前及び／又は手術直後に適切な抗菌剤を使用する。

#### 参考資料等

1. CDC: Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection (手術部位感染防止ガイドライン), 1999. Infect Cont Hosp Epidemiol 1999;20:247-278 (<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/SSI.pdf>)
2. 品川長夫, 術後感染防止のための抗菌薬選択, Jpn J Antibiotics, 57-1, 11-32, 2004
3. 品川長夫, 周術期抗菌薬投与の基本的考え方ーガイドライン作成への提言ー, 日化療会誌 49 (S-B), 71-89, 2001
4. 特定外来生物へのマイクロチップ埋込み技術マニュアル (環境省) (<http://www.env.go.jp/nature/intro/4document/microchip/index.html>)
5. ISO10993 (医療機器の生物学的評価方法)

#### 【平成 21 年度】

##### A. 研究目的

細菌共存環境がげっ歯類特有の異物好発がん性の誘因であることを検証し、検体の物理的形状に依存せず、化学的活性のみに依存する発がん性試験系の構築の可能性を検討することを目的とし、以下を行う。実験動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する情報を得るために、海外（カナダ）の 2 つの GLP 適合施設を訪問し情報収集する。また、当該施設におけるマイクロチップ等による異物発癌の経験等についても情報収集する。さらに、来年度に予定している海外の GLP 適合施設にお

けるアンケート調査に用いるアンケート調査票作成に関する情報収集等を行う。加えて、異物発癌、感染と慢性炎症による発癌に関する情報を文献調査により得る。

##### B. 研究方法

1. OECD GLP を遵守して試験を実施しているカナダの 2 つの安全性試験受託施設を訪問し、手術等に関する説明を受け、さらに施設見学並びに手術を伴う試験を実地に見学し、情報を収集した。
2. 本邦の GLP 適合施設に対して昨年度実施した「動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、術野の無菌性等）並びに術後感染制御等に関するアンケート調査」を海外の GLP 適合施設に対して実施するために必要な情報を収集した。
3. 動物の個体識別に使用されているマイクロチップによるげっ歯類の異物発がんに関して、文献調査並びに今回実地調査を行った施設において情報を収集した。
4. 来年度実施予定の海外の GLP 適合施設に対するアンケート調査のため、昨年度の日本の GLP 適合施設に対するアンケート調査票をもとに新たに調査票（案）を作成した。

以上に加え、実験動物の倫理的取り扱いに関する規制における手術等に関する規定に関する情報、並びに昨年度に引き続きげっ歯類の異物発がん、感染／炎症による発がんに関する情報等を文献調査により収集した。

##### C、D. 研究結果と考察

1. OECD GLP を遵守して試験を実施している安全性試験受託施設における埋設試験等の手術を伴う試験に関する実施調査と情報収集  
(1) 実地に調査を行った施設

① Charles River Laboratories

Preclinical Services

住所：Montreal 22022 Transcanadienne  
Senneville, Quebec H9X 3R3, Canada

② ITR Canada

住所：19601 Clark Graham, Baie  
d'Urfé (Montréal), Québec H9X 3T1,  
Canada

(2) 調査内容

1) 施設の概要及び調査内容の概略

① Charles River Laboratories

Preclinical Services

動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、術野の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する情報収集のためになされた施設に関する説明、術技に関する説明、並びにラボツア一等は、C. Copeman 氏 (Science Director)、D. Gilbert 氏 (Director) 及び S. Besner 氏 (Manager) が担当した。

当該施設は GLP 適合の安全性試験受託施設である。当該施設は、様々な種類の infusion 試験を実施しており、この試験のためにカニューレ留置手術が行なわれる。特に infusion 試験では長期間動物を観察する機会が多いことから、感染制御

(3) 調査結果と考察

1) 動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、術野の無菌性等）並びに術後感染制御等

以下の表に、上記①及び②の施設の状況を纏めた。

が非常に重要となっている。訪問時には、医療機器の埋設試験は実施されていなかったため、infusion 試験のためのカニューレ留置手術に関する情報を主に収集した。なお、当該施設では infusion 試験以外の手術を伴う試験についても、同等のレベルで実施しているとのことであった。

② ITR Canada (19601 Clark Graham, Baie d'Urfé (Montréal), Québec H9X 3T1, Canada)

動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、術野の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する情報収集のためになされた施設に関する説明、術技に関する説明、手術の見学並びにラボツア一等は、G. Bain 氏 (Vice President)、T. Hirakawa 氏 (Liasion)、E. Cote 氏 (Clinical Veterinarian)、及び J. Younan 氏 (Director) が担当した。本施設も上記①の施設と同様に手術を伴う試験としては infusion 試験が主に実施されていた。また、訪問時には埋設試験は実施されていなかったため、infusion 試験に関する情報を主に収集した。なお、当該施設においても infusion 試験以外の手術を伴う試験についても、同等のレベルで実施しているとのことであった。

	Charles River Laboratories Preclinical Services	ITR Canada
<b>手術環境</b>		
<b>1) 手術前の動物の除毛</b>		
①手術前の除毛	・有	・有
②除毛時期	・手術直前	・手術直前
③除毛方法	・カミソリによる剃毛 ・手術室とは別の部屋又は区域で実施	・カミソリ(刈った毛が飛び散らないように吸引装置付)による剃毛 ・手術室とは別の部屋又は区域で実施
<b>2) 手術部位の消毒</b>		
①消毒剤の種類	・4% グルコン酸クロルヘキシジンによる消毒の後にポビドンヨード(イソジン)を使用。 ・消毒時間, 消毒後にどの程度時間を置くかは決めていないが, 通常は5~10分程度放置.	・手術室全室にて, 4% グルコン酸クロルヘキシジンを含ませたガーゼと水を含ませたガーゼによりごみ等を除く. その後, アルコールを含ませたガーゼで3回清拭し, さらにポビドンヨードを含ませたガーゼで3回清拭し, 同ガーゼを当てたまま手術室に被験動物を搬入. ・手術室にて切開直前にさらにポビドンヨードにて清拭
②消毒の範囲	・手術部位の2倍程度	・手術部位の2倍程度
<b>3) 手術担当者の手指の消毒</b>		
①消毒薬による手洗い	・クロルヘキシジン	・石けんのみ
②消毒薬による肘の消毒	・肘の手前まで	・肘まで
③スクラブの使用	・使用	・使用

	Charles River Laboratories Preclinical Services	ITR Canada
4)手術着, マスク, 手袋, 帽子の使用		
①手術着の着用	・手術用ジャケット着用	・手術用ガウン(緑色, 滅菌済み)着用
②帽子の着用	・着用	・着用
③マスクの着用	・着用	・滅菌済み着用
④滅菌手袋の着用	・着用	・着用 ・手術個体毎に交換
5)手術室の環境		
①専用手術室の有無	・手術による. Infusion試験では有	・専用手術室有
②手術室の環境(換気, HEPAフィルターの使用等)	・換気 15回/1時間 ・HEPAフィルター使用	・換気回数 不明 ・施設全体にHEPAフィルター様のフィルターを通す空調システムであるが, さらにHEPAフィルター使用
③手術室及び実験台等の消毒	・1試験毎に消毒(壁及び床は Quatricide Pv-1515使用)	・使用する少なくとも1日前に手術室(実験台, エアフィルター等を含む)の掃除, 洗浄及び滅菌(Quatricide使用) ・エアフィルターは試験前に交換 ・手術日の前日午後に, 実験室内の設備をアルコール清拭又はアルコール噴霧 ・各手術毎に実験台をアルコール清拭
<b>手術中及び術後の感染制御等</b>		
1)手術機器(動物に直接接触するもの)の滅菌又は消毒	・主にガス(エチレンオキシド)滅菌	・高圧蒸気滅菌
2)手術中に使用した手術機器の再使用	・同一個体の場合のみ有 ・再使用する場合は, 消毒薬(アルコール)に浸し滅菌水で洗浄後使用する,又は滅菌布上に置く.	・同一個体の場合のみ再使用することもある. ・再使用する場合は, 消毒薬(Germex)に浸し滅菌水で洗浄後使用する,又は滅菌布上に置き,再使用時に滅菌水で洗浄して使用する. 消毒薬は2又は3匹毎に交換
3)埋設材料の滅菌又は消毒	・カテーテルの場合は, 高圧蒸気滅菌が主であるが, 材質により高圧蒸気滅菌やガス滅菌を選択	・販売元により滅菌済みのカテーテルはそのまま使用する. 滅菌されていない場合は, 高圧蒸気滅菌
4)切開部位以外の部位への覆布等の使用	・覆布(surgical drape)	・滅菌覆布(surgical drape)
5)術後手術切開創の管理		
①切開創の閉じ方	・手術用接着剤を使用, 又は縫う	・縫う
②切開創の滅菌被覆剤での保護	・創を閉じた後は保護しない. ただし, 抗菌剤(ポリミキシン, ネオマイシン等)を塗布	・開口している創については滅菌水とペニシリンGを噴霧. ・手術部位を覆うことができる清潔なジャケットを着用させる ・霊長類では, 包帯又はバンドエイド使用
6)術中又は術後感染管理のための抗菌剤等の使用	・ペニシリン(手術日に注射, 手術後2日まで投与. ただし, ウサギは腸内の細菌フローラがなくなるため投与しない.)	・ペニシリンG(benzathione penicillin G及びprocain penicillin G)を手術1日前から手術後2日まで投与. (抗菌剤以外に鎮痛剤を手術前30分から2時間前に投与. 場合によっては手術後24時間投与.)
7)手術後の動物の飼育	・術後は1動物/1ケージ ・げっ歯類にはエリザベスカラーは使用しない(イヌやウサギの場合は使用することもある.)	・術後は1動物/1ケージ ・麻酔からの覚醒前は頻繁に経過観察 ・エリザベスカラーは使用しない.

注:手術室の設備は, ほぼヒトと同等であった.

2) 異物発がんの経験の有無及び経験のある場合にはその内容等

上記両施設とも 異物発がんに関する経験はなかった。

3) マイクロチップの使用の有無、並びにマイクロチップによる発がんの経験の有無及び経験等

上記両施設とも、手術を行なう動物へのマイクロチップの使用はないとの回答であった。

昨年度の本邦のアンケート調査では、非GLP 下で実施される薬理試験及び薬物動態試験の結果により収集された SPF 下でのげっ歯類の手術環境については、以下のとおりであった。

- ①手術部位の皮膚の前処置（消毒）に SPF 環境及びコンベンショナル環境ともに 70%エタノールが 56~57%程度用いられていた。なお、ヒトの場合で殆どがポピドンヨード又はクロルヘキシジン（ヒビテン）が用いられている。その理由はその効果がアルコールより高いこととされており、アルコール単独の消毒では手術部位の皮膚の前処置が不十分である可能性が考えられる。
- ②切開部位以外の部位からの感染をさけるために切開部位以外の部位を覆布で覆うことは殆ど行なわれていない。
- ③手術機器、特に動物に直接接触するピンセット、ハサミやメス等についてはヒトでは滅菌されたものが使用されているが、マウスやラット等のげっ歯類では SPF 環境の場合においても滅菌（乾熱滅菌、高圧蒸気滅菌及びガス滅菌）は 72%、消毒（アルコール、ヒビテン等）は 28%であった。また、これらの手術機器は同一動物での再使用のみならず、

同一実験中で他の動物にも再使用されていることから、これらの手術機器による感染等の可能性が考えられる。

- ④術後の創傷の管理としてげっ歯類では通常は抗菌剤の投与はせず、また、切開創を被覆剤で保護しない。つまり、傷口からの感染の防御が不十分な可能性が高い。
- ⑤動物自身が舂める又は別の個体に舂められる等して、傷口からの細菌（口内細菌や皮膚常在菌等）感染が起きる可能性について検討するために必要な長期飼育の動物に関する情報が不足しているが、本アンケート調査の回答によれば多くの場合は 1 動物が 1 ケージに飼育されていたため、他の動物により傷をなめられる可能性は低いと考えられる。ただし、その場合でもエリザベスカラーをしていない場合が殆どであり、手術後の保定器具により身動きできない場合及び創傷の位置が動物自身でなめることができない場合を除き、動物自身になめることによる傷口からの感染の可能性は否定できない。

一方、本年度の施設については、infusion 試験のためのカニューレを留置する手術を見学した結果、昨年度の本邦試験施設のアンケート調査結果とは、以下の点が異なっていた。なお、これらの事項は昨年度の本邦におけるアンケート調査の結果から、GLP 施設等における SPF マウスやラットの手術に関して、ヒトの術後感染の制御の観点から注意が必要と考えられた点であった。

- ① 手術前の動物の手術部位の消毒（清拭）に際して、1 剤ではなく 2 又は 3 剤を使用していた。

\*Charles River 社：グルコン酸クロルヘキシジンを使用後、イソジンを使

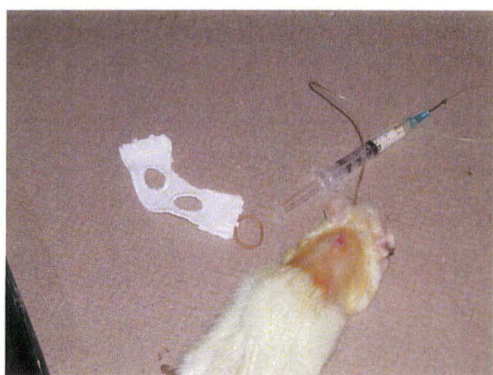
用

\*ITR 社 : グルコン酸クロルヘキシジンを使用後、アルコールを使用し、さらにイソジンを使用

用いられた消毒薬は、それぞれ特徴が異なることから、これらを組み合わせて用いることにより、高い消毒効果が期待できると考えられる。

- ① 手術中に使用した滅菌手術機器（動物に直接接触れるもの）の再使用に関して、他の動物への使用はなく、同一動物に使用する際にも消毒が必ず行なわれていた。
- ② 切開部位以外の部位からの感染等を防ぐため切開部位以外を覆布で覆っていた。
- ③ 術中又は術後感染管理のために抗菌剤が使用されていた。また、術後はすべて1動物が1ケージに飼育されていた。
- ④ ITR 社においては、手術後に滅菌済みのジャケットを動物に装着させることにより

傷口からの感染を防いでいた。



以上の結果から、調査対象となった施設においては、手術室や手術時の無菌性並びに術後の創傷管理等がヒトの手術とほぼ同等のレベルであると考えられた。また、調査対象施設においては、手術室の出入り等

についてもヒトと同等に管理されていた。

このため、当該施設では細菌感染による異物発がんの可能性は低いと考えられる。

#### 文献調査について

本年度は、昨年度に引き続きげっ歯類の異物発がん、感染／炎症による発がんに関する情報等を収集したが、特に注目すべき情報はなかった。

実験動物の倫理的取り扱いに関する規制（AAALAC ; Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International、CCAC ; Canadian Council on Animal Care 等による施設認証）においても手術等に関する規定があり、欧米では AAALAC 等の認証を受けないと実験動物を使用することができない状況である。このため、当該情報についても入手した。回復が必要な手術の際の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染 制御等に関する記載は、以下のとおりであった。

① 無菌的に手術を行なうために必要な設備

- a) 手術に供する動物を準備するエリア
- b) ヒトが手術の準備をするエリア
- c) 手術室
- d) 術後の動物の回復用のエリア
- e) 手術をサポートするエリア（手術に関する用具が機器の供給、洗浄、滅菌等）

② 手術室の環境等

- a) 通常の施設から離れていること。
- b) ヒトの導線が交わらないこと。
- c) 設備や床、内壁等が容易に洗浄又は清浄にできること。
- d) 周囲の施設に比べて陽圧であること。
- e) 空気を循環させないこと。

f) 流入する空気は、適切はフィルターを用いる等して、清浄なものとする  
こと。

### ③ 手術前の準備

- a) 手術担当者は、無菌的な手術の術技を含めて手術に関して十分訓練されていること。
- b) 適切なプロトコールを作成し、術者とそれ以外のスタッフの連携がスムーズに行くようにすること。
- c) 術前の動物処置、術技（麻酔を含む）、術後のケアに関して、獣医師に相談すること。獣医師は、それらが適切に行なわれていることを確認すること。
- d) 健康な正常動物のみを手術に供すること（健康な SPF 動物を使用すること）。
- e) 動物の順化を適切に行なうことにより、動物のストレスを減らすこと。

### ④ 手術

- a) 無菌的に実施すること。
- b) 手術に用いる機器や器具（埋設材料、カニューレ、テレメトリー機器、埋設

医療機器等）は、すべて必ず滅菌すること。

- c) 術者は、スクラブを用いて手を洗い、手術用キャップ、マスクを着用すること。さらに、滅菌済みの手術着及び手袋を着用すること。
- d) 手術は、できる限りクリーンな環境で、滅菌された道具と滅菌手袋を用いて、無菌的に行なうこと。
- e) 感染を最小限に抑える努力をすること。
- f) ラットは他のげっ歯類に比べて術後感染が低いと考えられているが、十分に滅菌されていない埋設材料（カニューレ等）を用いることや無菌的に手術をしないこと等は許容されない。
- g) 手術に用いるピンセット、メス、ハサミ等は複数滅菌し、再使用を避けること。再使用する場合には、消毒液に浸しておくこと。

本年度実地に調査した 2 施設はいずれも AAALAC 及び CCAC の認証を受けており、上記の事項は遵守されていた。

参考までに、ITR 社における手術室や術者等に関する写真を示す。



ヒトの手術の場合と同様に、術者は滅菌手袋で手術道具以外に触れることができないため、術着の着用を補助者が補助している。

さらに埋設医療機器等に関する手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する情報等を調査するために、来年度は海外の GLP 適合施設に対するアンケート調査を予定している。本年度は、昨年度実施した日本の GLP 適合施設に対するアンケート調査票を基にアンケート調査票（案）を作成した（添付資料 1 参照）。なお、今般の調査結果を踏まえた改定等（調査対象試験、調査項目等）は来年度実施する。

#### E. まとめ

実験動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する情報を得るために、昨年度は本邦の GLP 適合施設等を有する法人へのアンケート調査を行なったが、医療機器の埋植試験等に関する情報を十分得ることができなかった。このため、本年度は、GLP に適合した海外（カナダ）の安全性試験受託施設での手術を伴う試験（infusion 試験におけるカニューレの留置のための手術）に関する実地調査及び情報収集を行った。

この結果、①手術部位の消毒に複数の消毒薬を用いること、②動物に直接接触する手術機器の再使用は同一動物にしか行っていないこと及び再使用する場合には機器を消毒すること、③切開部位以外を覆布で覆っていること、並びに④術中及び術後感染制御のために抗菌剤を一定期間使用していること、さらに⑤調査した施設の 1 つは傷口からの感染を防ぐため滅菌したジャケットを術後の動物に着用させること等が、昨年度のアンケート調査の結果とは異なっていた。これら①～⑤の事項は、昨年度のアンケート調査の結果からで、手術環境において改善が必要と考えられた事項であった。本調査の結果、調査対象となった施設における実験動物の手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手

術時の無菌性等）、並びに術後感染制御等はヒトとほぼ同等であることが明らかになった。

来年度は、本年度作成したアンケート調査票（案）を今般の調査に基づいて改定し、当該調査票を用いて、さらに多くの海外の GLP 適合施設における埋設医療機器等に関する手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）、並びに術後感染制御等に関する情報等を調査する予定である。

#### 参考文献

1. CDC: Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection（手術部位感染防止ガイドライン）, 1999. Infect Cont Hosp Epidemiol 1999;20:247-278 (<http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/SSI.pdf>)
2. The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NRC1996) (the main resource used by AAALAC's Council on Accreditation. )
3. CCAC  
[http://www.ccac.ca/en/CCAC\\_Main.htm](http://www.ccac.ca/en/CCAC_Main.htm)
4. ISO10993 (医療機器の生物学的評価方法)
5. OECD テストガイドライン 451 及び 453

#### 【平成 22 年度】

##### A. 研究目的

細菌共存環境がげっ歯類特有の異物好発がん性の誘因であることを検証し、検体の物理的形状に依存せず、化学的活性のみに依存する発がん性試験系の構築の可能性を検討することを目的とし、実験動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する情報を収集する。加えて、異物発癌、感染と慢性炎症による発癌に関する情報を文献調査により得る。



なお、本年度実施予定であった海外の GLP 適合施設における上記情報を収集するためのアンケート調査は、十分な数の海外の GLP 適合施設へのアンケート調査の実施が難しいことが判明したため、実施しなかった。

## B. 研究方法

実験動物の手術のうち術後も生存させる手術（生存手術）について、米国動物保護法（AWA）及び指針（実験動物の管理と使用に関する指針：Guide for the care and Use of Laboratory Animals 等）に無菌的な実施が必要とされており、日本においても「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（2006年6月1日、日本学術会議）に、大規模な生存手術には無菌操作は不可欠であり、小規模生存手術の場合は大規模手術ほど厳密でないが器材の滅菌は必要とされている。また、実験動物の倫理的取り扱いに関するガイドライン（ALAAC 等）にも、手術時の無菌性等の規定があり、また、無菌手術等に関する概略が記載されている。ただし、その具体的な内容についてはこれらの法律や指針等には記載されていない。

げっ歯類の生存手術に関する飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等については、GLP 適合施設等では SOP 等に詳細に規定されていると考えられるが、それらを手に入れることができなかった。そこで、海外（主に米国）の規制当局等から発出されているガイドライン等をもとに作成された海外の大学等の動物倫理委員会（IACUC: Institutional Animal Care and Use Committees）によるガイドラインに注目した。本年度は、上記指針やガイドライン、IACUC 並びに実験動物の倫理的取り扱いに関する規制における手術等に関する記述等の文献等を「Aseptic surgery、Rodents、Guidelines」等の key word により検索し、げっ歯類の生存

手術に関する詳細な情報を収集した。検索された文献のうち、詳細が記載されているものについて日本語に翻訳した。

また、昨年度に引き続きげっ歯類の異物発がん、感染／炎症による発がんに関する情報等を文献調査により収集した。

## C、D. 研究結果と考察

### 1. 実験動物の倫理的取り扱いに関する規制を踏まえた手術等の規定に関する情報収集

本年度は以下のようなガイドライン等から、げっ歯類の生存手術に関する飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等の情報を収集した。

#### (1) 調査により収集したガイドライン等

- ① Rodent aseptic surgery guidelines (ALAAC)
- ② Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (実験動物の管理と使用に関する指) Institute of Laboratory Animal Resources (Commission on Life Sciences National Research Council (米国学術研究会議) 8<sup>th</sup> edition 2010
- ③ Guidelines for Survival Rodent Surgery (NIH Guidelines)
- ④ Practical guidelines for aseptic surgery in rodents and the management of surgical facilities in a laboratory (ANZCCART (The Australian and New Zealand Council for the Care of Animals in Research and Teaching) Fact Sheet) .
- ⑤ IACUC Guideline 8 - Rodent Surgery Guidelines (Pennsylvania 大学 IACUC)
- ⑥ Rodent Surgery Application of Aseptic Technique and Perioperative Care (Texas 大学 San Antonio 校 Laboratory Animal Resources Center (LARC) で行う「げっ

歯類手術実践ワークショップ」の配布資料)

- ⑦Survival Surgery Procedures :  
Rodents (Johns Hopkins 大学 IACUC)
- ⑧Experimental Surgery (Minnesota 大学  
RAR (Research Animal Resource) IACUC)
- ⑨ Guidelines for Survival Surgical  
Procedures and Post-Operative Care in  
Rodents (Jefferson 大学 IACUC, 2011 年)
- ⑩Rodent Surgery Guidelines (Procedures  
in Rodent Survival Surgery) (Boston 大  
学 IACUC)
- ⑪ Guidelines for Rodents survival  
Surgery (The Academy of Surgical  
Research (ASR) ) Bernal J et al., J.  
Investigative surgery, 22, 445-451,  
2009

以上のガイドライン等の中で、⑥Texas 大学 San Antonio 校 Laboratory Animal Resources Center (LARC) が実施する「げっ歯類手術実践ワークショップ」の配布資料が、最も詳細かつ具体的なげっ歯類の生存手術に関する飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等の情報が記載されていた。このガイドラインは、上記②の米国学術研究会議(NRC)の指針「実験動物の管理と使用に関する指針」に基づいて作成されている。LARC では、この資料で概説した原則は正しいが、各施設の方針とガイドラインを遵守することとしている。本報告では主に⑥のガイドラインを用い、不足する情報は他のガイドラインを用いた。

(2)げっ歯類の生存手術に無菌操作を用いる根拠

げっ歯類の生存手術にも無菌操作を用いる根拠は、「実験動物の管理と使用に関する指針」(NRC、上記②の文献)に、以下のよ

うに示されている。

無菌状態を維持することの重要性：

- マウス及びラットには術後感染に対する抵抗性があるとされているが、緑膿菌、ネズミコリネ菌、マウス肝炎ウイルス、スピロクレウス・ムリスなどの不顕性感染がストレスまたは免疫抑制によって臨床疾患に至る経緯を報告した記事が文献上に多数存在する (Foster, *et al.*, 1982)。
- 従来、研究者らはげっ歯類の手術を非無菌的に行っていた。しかし、ラット及びマウスの場合、感染は不顕性であることを示唆するエビデンスが実験から得られている。無菌手術法の導入により食餌／水分の摂取量が増え、術後の回復が改善したことも報告されている (Cunliffe-Beamer, T.L, 1972-73. Cunliffe-Beamer, T.L. *Biomethodology*, 1983)。実験的に誘発したラットの創感染には、肉眼的な臨床徴候または明白な行動的徴候が伴わなかった (Bradfields, Schachtman, McLaughlin, Steffen)。不顕性感染は行動的・生理的変化を引き起こす可能性がある（「ラットの不顕性創感染が行動及び生理に及ぼす影響」、*Lab. Animal Science*, 42 (6), 572-578, 1992. 正誤表, Vol 43(2), 20, 1993)。

このため、げっ歯類の感染に対する抵抗性は特殊なものであると思ひ込むのは危険である。げっ歯類モデルは抗菌研究に用いられており、げっ歯類は手術に起因する疾患などヒトの細菌性疾患を模すために使用されてきた。この事実は、術後感染など感染症の発現に関しては、げっ歯類とヒトなど他の哺乳類種との間に差がないと考えられることを示唆している (Morris T.,

Laboratory Animals, 1995, Vol 29, page 26)

(3) げっ歯類の生存手術に関する手術環境等(昨年度までの調査内容との比較のため、主に無菌操作に関連するもののみを抜粋)

1) 手術の準備

上記ガイドライン⑥「Rodent Surgery Application of Aseptic Technique and Perioperative Care」より必要部分を引用し、一部を追記及び改変)

「げっ歯類の一般的な実験的手術の特性(より大型の種と比べて切開部が小さいこと、手術チームの人数が少ないこと、1回の手術で複数の動物を手術すること、手術時間が短いことなど)により、標準的無菌操作の修正が必要、もしくは望ましい場合がある(Brown 1994; Cunliffe-Beamer 1993)。げっ歯類の手術に特有の問題に対処するための有用な提言がなされている(Cunliffe-Beamer 1983, 1993)」。

\*手術の場所等

ラットやマウスには、米国学術研究会議の指針がより大型の種のために規定しているような手術室は不必要であり、以下がげっ歯類の生存手術に必要なまたは必須とされている。

①術中はげっ歯類の手術専用となる清潔で整然とした(片付いた)消毒済みの区画。

②埃がなく、手術に関係のない機器は置かれていない。

③動物の準備、術野、動物の回復の機能が分離されている。長いベンチトップの上を分割した区画でもよいが、動物の準備は手術を行う部屋とは別の部屋で行うのが最も望ましい。その理由は動物の抜け毛、切開部の消毒液の飛沫、床敷の埃や付近のケージから飛んでくる体毛によって術野が汚染されるのを防ぐためである。

④塵埃による汚染を防ぐために供給ダクトの下は避けること。

⑤余計な邪魔が入ったり、気流が生じたりするのを防ぐために出入り口など通行量が多い場所は避けること。

手術台の表面の消毒については、手術を行う前後には手術台の表面を清潔にし、あらゆる微生物を除去することとされ、その際に使用する消毒薬は以下の表1のとおりである。

表1 手術台等の表面の消毒に推奨される消毒薬

AGENT	EXAMPLES *	COMMENTS
Alcohols	70% ethyl alcohol 85% isopropyl alcohol	Contact time required is 15 minutes. Contaminated surfaces take longer to disinfect. Remove gross contamination before using. Inexpensive.
Quaternary Ammonium	Roccal®, Quatricide®	Rapidly inactivated by organic matter. Compounds may support growth of gram negative bacteria.
Chlorine	Sodium hypochlorite (Clorox® 10% solution) Chlorine dioxide (Clidox®, Alcide®, MB-10®)	Corrosive. Presence of organic matter reduces activity. Chlorine dioxide must be fresh; kills vegetative organisms within 3 minutes of contact.
Glutaraldehydes	Glutaraldehydes (Cidex®, Cetylcide®, Cide Wipes®)	Rapidly disinfects surfaces.
Phenolics	Lysol®, TBQ®	Less affected by organic material than other disinfectants.
Chlorhexidine	Nolvasan®, Hibiclens®	Presence of blood does not interfere with activity. Rapidly bactericidal and persistent. Effective against many viruses.

\* The use of common brand names as examples does not indicate a product endorsement.

(Jefferson 大学 IACUC. 2011 年より)

昨年度実施調査を行った2つの施設で使用されていた HEPA フィルターに関しては、上記ガイドライン④ (ANZCCART のガイドライン) に以下のように記載されていた。

げっ歯類の手術は通常、キャビネット内の動物とこれを扱う術者の双方をエアロゾルの危険性から保護する効果を発揮する高性能粒子除去 (HEPA) フィルターを備えたクラス II の生物学的安全キャビネット内で行う。感染による危険も多いが、それとは別にエアロゾルによる危険も職業性喘息及び実験動物アレルギーを引き起こす。

#### \* 器材類の滅菌等

- ①手術器具はオートクレーブ滅菌しなければならない。必ずインジケーターを使用し、その器具が無菌であることを確認すること。

その他、器具等の素材により、乾熱滅菌、ガス滅菌、グルタルアルデヒド滅菌等も用いることができる。

- ②器材類は全てリネンまたは特殊紙で二重包装するか、フィルターつきの特殊

金属容器に入れてから滅菌しなければならない。包装した器具の全てに有効期限を記入すること。

- ③バッチ手術 (同じ器具を複数の動物に使用) を行う場合は、次の動物に移る前に器具を清拭し先端部を再滅菌する (例、高温ビーズ滅菌器を使用する等。手技が1回終わるごとに器具を滅菌するのに最も適している。)。器具を2セット用意して動物が替わるごとに交互に使用してもよい。

(注: 1日かけてバッチ手術を行う場合、午前中に使用した器具は午後オートクレーブ滅菌済みの新しい器具と交換すること。この滅菌法を5匹以上のげっ歯類に使用することは推奨できない (施設のガイドラインに従うこと)。新たな群の動物にはオートクレーブ滅菌済みの新たな器具セットを使用しなければならない。)

#### \* 動物の準備

##### ①除毛

- a) 剪毛 切開部周囲の体毛を小型のバリカンで剪毛する。体毛が創を汚

染しないように、また切開部周囲が消毒できるように十分広めに剪毛するが、動物の体温調節能が低下するため除毛しすぎないこと。絆創膏の粘着面を使用して抜けた体毛を除去する。

b) 脱毛 マウス（他のげっ歯類とは異なり）の毛嚢はテロゲンつまり休止期にあるため、傷つけずに除毛することができる。

c) 脱毛クリーム 脱毛クリームを長時間皮膚に塗布しておくことと化学熱傷を引き起こすおそれがあるため、塗布時間を厳格に守ること。

## ②手術部位の消毒（消毒剤の種類と消毒の範囲）

- ・アルコールのみを使用するのは不適切である。
- ・標準的な手術準備はヨードフォア（ポピドンヨード製剤）または 4%グルコン酸クロルヘキシジンと 70%アルコールを交互に使用して 3 回消毒する。
- ・ガーゼまたは綿棒を使用して円を描きながら消毒すること。
- ・剪毛部の中心から初めて外側に向かって拭いていく。
- ・絶対に同じスポンジで中心に戻らないこと。
- ・ヨードフォアまたはクロルヘキシジンスクラブとアルコールを交互に使用して消毒し、最後はヨードフォアまたはクロルヘキシジン溶液（スクラブでないもの）で拭くこと。消毒石鹼は皮下組織を刺激するため使用しない。
- ・低体温症を引き起こすおそれがあるため動物を濡らしすぎないように注意する。

## ③切開部位以外の部位からの感染をさけるためのドレープ等の使用

内臓または滅菌器具が未消毒の皮膚や体毛に接触する可能性がある場合はドレープ（覆布）で覆うこと（ドレーピング）が必要とされている。昨年度実地調査した 2 施設ともドレープを使用していた。

### 使用できるドレープの種類

- ・手術用ペーパードレープ（低価格でオートクレープ可能）

穴が予め開いているものと、自分で穴を開けなければならないものがある。

ペーパードレープの欠点は、動物を覆ってしまうため動物の麻酔状態等の監視に支障がでる場合があることである。（濡らさないように注意）

- ・布製ドレープ（濡らさないよう注意）
- ・プラスチックドレープ（動物をよく観察できるという利点がある。）
- ・動物の身体が乾いている場合（滅菌ガーゼで消毒済みの皮膚を拭いて乾かす）は、透明の粘着性ドレープ。
- ・Glad の Press'n Seal（サランラップのようなもの）は術野を無菌的かつ効果的に覆うことができる経済的な方法である。これは食品用の製品であるが、Utah 大学において試験した結果、微生物及び有機物質は全く存在しなかった。透明なこの素材は、粘着面で動物（全体）を覆っても容易に監視ができる。窒息しないように必ず鼻を出しておくこと。
- ・滅菌ガーゼスポンジ
- ・ストッキネット（動物に被せると簡単に滅菌野を形成できる。）

- ・マウスの場合、予め～8.5×6 インチに切断したアルミホイル片（重ねてオートクレーブ滅菌したもの）（術者は滅菌ホイルを手につか、手術部位に直接置く。助手はマウスを手術の種類に応じて背臥位、腹臥位、横臥位のいずれかによりホイル上に載せる。術者がマウスを望ましい方法で包んで固定する（マウスには触れないこと）。手術終了時に術者はホイルで包んだマウスを助手に手渡す。）
- ・ラットには厚手のホイルが必要な場合がある。（厚手のホイルはマウスに例外的な体位を取らせる場合（胸腺内注入またはアブレーションのための胸郭入口部、会陰の処置など）に有用である。術者がまぶしくないように必ず光沢のある面を内側にして使用すること。

**\*手術担当者の準備**

①逆性石鹼で手洗いをする。

②手術用滅菌手袋、マスク、清潔な実験着を着用する。パウダー付手袋を用いる場合は滅菌生理食塩水でパウダーを落とす。手袋のパウダーは動物に対して異物反応を引き起こす異物である。

バッチ手術を行う場合は手袋を取り替えるか、手袋をした手指を化学滅菌剤で洗浄し生理食塩水ですすぐ（手袋に残留した滅菌剤は実験動物の組織を刺激し局所感染のリスクを増大させる）。滅菌タオルで拭き取る。手袋が着け心地が悪くなったり、破れたり、穴が開いたりした場合は新しい滅菌手袋を装着する。

③無菌状態の維持（ガウン非着用）

- ・手袋をした手は腰の高さより上に挙げ、切開部と滅菌した物品（滅菌器

具のトレー、滅菌ドレープ）以外は触らないこと。

- ・一旦手袋を装着したら非滅菌部分に触ったり、寄りかかったりしてはならない。手を下げてはならない。自分の皮膚や衣服を手袋で触ってはならない。
- ・器具は常に滅菌パウチまたは滅菌表面から取り上げる。汚染のおそれがあるため器具を包装／ドレープの縁に接触させてはならない。
- ・手術器具を手術台から落としてはならない。落ちた器具はもはや無菌ではないため、拾って使用しないこと。
- ・滅菌表面は乾燥させておく。湿気は術野の汚染の原因となるおそれがある。

手指の洗い方については、昨年度までの調査で得た情報と異なり、洗浄剤、洗浄部位やスクラブの使用には言及していないが、滅菌手袋の装着については以下のような詳細な指示があり、また、ビデオでも説明するなど、手袋の外側を直接手で触れないことにより汚染を避けることとしている。逆性石けんで洗浄後にイソジンのスクラブを行う旨が規定されているガイドラインもある。

**・手術用手袋の装着**

①滅菌操作により手袋を開封する（包装の内部は無菌であることを忘れてはならない—検査用手袋は滅菌手袋とは異なる。）

②手袋の外側表面が汚染しないように装着する。

③開封した包装から片方の手袋を折り返した袖口を持って持ち上げる。

④その手袋を手を回すようにしながら装着する。

- ⑤手袋をした指をもう一方の手袋の袖口に差し入れる。
- ⑥手袋をした指を袖口に差し入れたまま、手袋をもう一方の手にはめる。折り返した袖口が手袋をした手を汚染から守ってくれる。
- ⑦手袋に手が入ったら折り返した袖口を手術着の袖にかぶせる。
- ⑧次に指を最初の手袋の袖口に入れて手術着の袖にかぶせる。

**\*手術の手技**

- ①術中は手袋をはめた手の動作と滅菌器具の移動を制限して術野の汚染を最小限に抑える。
- ②皮膚または体壁にある大血管を回避するために計画的に切開する。
- ③壊死の原因となるため組織は丁寧に扱い、組織を圧排する際には過剰な力を加えない。
- ④出血は回避または最小限に抑えなければならないが、出血した場合は滅菌ガーゼスポンジ、綿棒、ゲルフォーム・スピアで血液を吸い取る。組織を損傷し、新たな出血が生じる原因となるおそれがあるため、拭き取るような動作は避け、吸い取るようにすること。
- ⑤創が汚染した場合は、体温程度に加

温した滅菌乳酸加リンゲル液または生理食塩水で汚染部位を流し洗う。

- (4)手術切開創の管理(昨年度までの調査内容との比較のため、切開創の閉じ方及び術後感染管理のための抗菌剤の使用に関する部分のみ抜粋)

**\*切開創の閉じ方**

切開創を針と糸で縫合する場合について、①組織の種類に合った種類の針の使用、②針の使い方、③糸の種類、④縫合の仕方、⑤縫合、及び⑥結紮等が、詳細に記載されている。また、創傷クリップ、ステープル及び/または組織接着剤を使用する場合がありますとされている。さらに、組織接着剤に関して、張力が加わらない創の場合は、短い切開部の皮膚を接着する、または縫合糸間の皮膚切開部を補強するために使用するとされ、シアノアクリレート皮膚接着剤(例、Vetbond、Nexaband、Dermabond)を用いるとのことである。この接着剤の使用についても詳細な説明がある。切開創を閉じる際に使用する糸や接着剤については表2を参照のこと。

表2 切開創を閉じる際に使用する糸や接着剤

MATERIAL *	CHARACTERISTICS AND FREQUENT USES
Polyglactin 910 (Vicryl®), Polyglycolic acid (Dexon®)	Absorbable; 60-90 days. Ligate or suture tissues where an absorbable suture is desirable.
Polydioxanone (PDS®) or, Polyglyconate (Maxon®)	Absorbable; 6 months. Ligate or suture tissues especially where an absorbable suture and extended wound support is desirable
Polypropylene (Prolene®)	Nonabsorbable. Inert.
Nylon (Ethilon®)	Nonabsorbable. Inert. General closure.
Silk	Nonabsorbable. (Caution: Tissue reactive and may wick microorganisms into the wound, so silk is not recommended for skin closure). Excellent handling. Preferred for cardiovascular procedures.
Chromic Gut	Absorbable. Versatile material.
Stainless Steel Suture/Wound Clips/Wound Staples	Nonabsorbable. Requires instrument for removal.
Cyanoacrylate (Vetbond®, Nexaband®, Tissue Mend®)	Skin glue. For non-tension bearing wounds.

(Jefferson 大学 IACUC, 2011 年より)

#### \* 感染管理のための抗菌剤等の使用

昨年度実地調査を行った2つの GLP 適合施設においては、ペニシリンを手術 1 日前又は当日から手術後 2 日目まで投与していたが、米国学術研究会議のガイドラインには以下のように記載されている。

#### 抗生物質の予防的投与

無菌的手術の術技等を忠実に守れば必要になることはほとんどないが、使用する場合は以下の指針を念頭に置くこと：

- ①抗生物質は三流の外科医を二流の外科医にしてくれることはあるが、二流の外科医が抗生物質によって一流外科医になれることは絶対はない
- ②術中に高い組織内濃度に達するように術前に投与する
- ③術前の抗生物質投与によって複雑な手術の感染リスクを低減することができる
- ④一般的に術後に抗生物質を投与する必要はない
- ⑤抗生物質を使用する場合は、広域スペクトルのものを使用する
- ⑥「優れた抗生物質も下手な手術の尻拭い

はしてくれない」。つまり、抗生物質の予防的投与は正しい無菌手術の実践に代わるものではないとされている。

(注：モルモット、ウサギ、ハムスターの場合、抗生物質の不適切な使用により死亡するおそれがある。)

- (5) 手術後の動物の飼育 (昨年度までの調査と比較するため、該当部分のみ抜粋)

術後の動物の体温管理、麻酔からの覚醒時の注意点、節水、栄養摂取、創口の管理 (感染防御、抜糸等を含む) 等に関する記載はあるが、1 ケージに何匹飼育するかについては、明確に記載されていない。ただし、倫理的には1 ケージに1 匹と考えられる。このため、複数の動物を1 ケージで飼育する場合の注意として、他の動物による障害が起きないように注意することとされている (Bernal, et al., J. Investigative surgery, 2009)

- (6) その他

げっ歯類の生存手術において特に注意が必要な事項として、以下のようなものがあり、試験結果に与える影響を最小限とするためにこれらの事項を考慮したげっ歯類の取り扱いが詳細に規定されている。こ



これらの詳細な規定は、昨年度調査した試験実施施設で遵守されていた規定と同じであった。

げっ歯類の生存手術においては、手術により傷を最少にし、術中及び術後の感染を制御し、また、痛みや栄養状態を適切に管理することにより、手術による生体反応への影響を減らすべきであるとされ、その理由及び注意点等がガイドライン等に示されている。

1) ラット及びマウスは体容積に対する体表面積比が高く、代謝が速い。

①代謝速度が速く脂質蓄積量が小さいためエネルギー枯渇はストレスとなるおそれがある。

②より大型の動物と比べ、薬物の作用を発現するために用いる用量が多い。

③単位時間あたりの脱水速度が速い。

④除毛部分から体温が急速に失われていく。この低体温による術中の死亡がしばしば起こる。

2) 手術ストレス

①手術に対する主な特徴的反応は、カテコラミン、コルチコステロン、成長ホルモン、バソプレシン、レニン、アルドステロン、プロラクチンの血漿中濃度上昇と、FSH、LH、テストステロンの血漿中濃度低下である。血漿中のインスリン及びグルカゴン濃度は不安定である。組織外傷に対するこうしたホルモン反応によってグリコーゲンと脂質の分解が促進されて高血糖症が起きる。高血糖症の持続時間は様々であるが、大手術後の場合はこの反応が4~6時間持続することがある。蛋白質代謝の変化はより長く持続し、負の窒素バランスが数日間持続する。小手術であっても影響が長時間持続することがある。

②組織の外傷を最小限に抑え、感染を予防し、術後の疼痛と不快感を管理し、動物の栄養必要量を満たすことによって手術に対する代謝反応が小さくすむ。生存手術の目的は、未処理群との間のばらつきの程度が極めて低い規定の動物モデルを作成することである。重要な目標はできる限り迅速に動物を生理的に正常な状態、あるいは規定の(異常)状態に転換することである。

3) 止血 (げっ歯類のみでなく、一般的な事項)

①術中の出血を最小限に抑えることが、以下の理由により必要である。

・血液は細菌にとって完全な増殖培地である

・失血によって回復不良となり死亡率も高くなる

・失血によって術後の回復時間が長引く

・失血が研究の交絡因子となるおそれがあるその理由は：

②出血を最小限に抑えるためにすべきこと

・組織面を長軸に沿って切開する

・筋肉を横軸方向に切開してはならない

・大血管を特定して隔離する

・解剖学的構造を理解する

4) 組織の損傷・汚染を防ぐ (げっ歯類のみでなく、一般的な事項)

①損傷及び感染は動物に悪影響を及ぼし、また実験データの交絡因子となる。以下の4原則を守って組織の損傷と感染を低減する

・「手術は優しく」：組織を乱暴に扱うと疼痛が増す。

・「時間による損傷」：器官を室内環境に

曝すことは組織にとって有害である。露出時間が長いほど損傷の程度は大きくなる。手技の速度と質の正しいバランスを見出すこと。手術が90分以上に及ぶと感染の確率も3倍に上昇する。

- ・「湿潤な組織は良好な状態」：加温した滅菌生理食塩水または乳酸加リンゲル液により組織を常に湿潤に保って乾燥を防ぐ。
- ・「汚染は希釈により可能な限り除く」：感染性微粒子の個数（免疫応答性動物の場合、通常は感染性微粒子～106個/組織1g）が動物の免疫系の能力を超えた場合に感染が起きる。この資料に記載されている無菌法をできるだけ忠実に守り、創傷部位の微生物数を低減する。汚染した場合は大量の体温程度に加温した洗浄液（滅菌生理食塩水または乳酸加リンゲル液）で汚染物質を希釈する。

以上のように、IACUCのげっ歯類の生存手術に関する飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関するガイドライン中の詳細な規定は、CDC(Center for Disease Control)のGuideline for the Prevention of Surgical Site Infection(手術部位感染防止ガイドライン)に示された人の手術環境、設備及び術者の手技等とほぼ同様な内容であった。細菌共存環境の影響を排除し、検体の物理的形狀に依存せず、化学的活性のみに依存する発がん性試験等の適切な実施には、これらのげっ歯類の生存手術に関するガイドラインの遵守が必要と考えられた。昨年度までの調査結果から、GLP適合施設等では、これと同等又は準じる方法でげっ歯類の生存手術が実施されていると考えられた。

## 2. 文献調査について

本年度は、昨年度に引き続きげっ歯類の異物発がん、感染/炎症による発がんに関する情報等を収集した。既に報告したような感染等の慢性的炎症による発癌の可能性を強くする論文が散見されているが、それ以外には特に注目すべき情報はなかった。

## E. まとめ

実験動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する情報を得るために、初年度は本邦のGLP適合施設等を有する法人へのアンケート調査を行い、昨年度はGLPに適合した海外（カナダ）の安全性試験受託施設での手術を伴う試験（infusion試験におけるカニューレの留置のための手術）に関する実地調査及び情報収集を行った。本年度は、げっ歯類の手術のうち術後も生存させる手術（生存手術）について、本年度は海外（主に米国）の大学等の施設の動物倫理委員会（IACUC）のガイドライン等を調査した。それらのガイドラインは動物保護法（米国）及び動物実験の指針、ALAAC（Association for the Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International）等の基本的考え方にに基づき、げっ歯類の生存手術における無菌手術（Aseptic Surgery）の重要性を勘案した具体的な規定が示されており、その内容はCDCの手術部位感染防止ガイドラインに示された人の手術環境、設備及び術者の手技等とほぼ同様であった。

細菌共存環境の影響を排除し、検体の物理的形狀に依存せず、化学的活性のみに依存する発がん性試験等の適切な実施には、これらのげっ歯類の生存手術に関するガイドラインの遵守が必要と考えられた。

日本においても、特に大学等における実験動

物の取扱いに関して、本調査により収集した情報を何らかの形で提供していきたいと考える。

#### 参考又は引用文献

1. CDC: Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection (手術部位感染防止ガイドライン), 1999. Infect Cont Hosp Epidemiol 1999;20:247-278  
( <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/SSI.pdf> )
2. Rodent aseptic surgery guidelines (ALAAC)
3. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (実験動物の管理と使用に関する指) Institute of Laboratory Animal Resources (Commission on Life Sciences National Research Council) 8<sup>th</sup> edition 2010
4. Guidelines for Survival Rodent Surgery  
( <http://oacu.od.nih.gov/ARAC/surguide.pdf> )
5. Practical guidelines for aseptic surgery in rodents and the management of surgical facilities in a laboratory (ANZCCART (The Australian and New Zealand Council for the Care of Animals in Research and Teaching) Fact Sheet) .
6. IACUC Guideline 8 - Rodent Surgery Guidelines (Pennsylvania 大学 IACUC)
7. Rodent Surgery Application of Aseptic Technique and Perioperative Care (Texas 大学 San Antonio 校 Laboratory Animal Resources Center)  
( <http://research.utsa.edu/files/larc/RodentSurgeryApplicationhandouts.pdf> )
8. Survival Surgery Procedures :  
Rodents (Johns Hopkins 大学 IACUC)
9. Experimental Surgery (Minnesota 大学 RAR (Research Animal Resource ) IACUC ( <http://www.ahc.umn.edu/rar/surgery.html> ) )
10. Guidelines for Survival Surgical Procedures and Post-Operative Care in Rodents  
(Jefferson 大学 IACUC. 2011 年)
11. Rodent Surgery Guidelines (Procedures in Rodent Survival Surgery) (Boston 大学 IACUC)  
( <http://www.bu.edu/orcccommittees/iacuc/policies-and-guidelines/rodent-surgery-guidelines/> )
12. Guidelines for Rodents survival Surgery (The Academy of Surgical Research (ASR) ) Bernal J et al., J. Investigative surgery, 22, 445-451, 2009
13. Immunosuppression and selective inflammatory cell depletion. Studies on a guinea pig model of corneal ulceration after ocular alkali burning. Foster CS, Zelt RP, Mai-Phan T, Kenyon KR. Arch Ophthalmol. 1982 Nov;100(11):1820-4.
14. CDC: Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection (手術部位感染防止ガイドライン), 1999. Infect Cont Hosp Epidemiol 1999;20:247-278  
( <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/SSI.pdf> )

#### 【 総 括 】

ヒトに長期間埋設して使用する医療機器については、発がん性について丸ごとの動物やヒ

トや動物の細胞を用いた安全性試験を実施して検討する。埋設物から溶出する化学物質による発がん性（慢性炎症による場合と含む）と材質による物理的刺激による発がん性について検討するためには、埋設物の形状を物理的刺激のない形状及びサイズに調整して検討する。ところが、げっ歯類を用いた埋設材料の安全性試験により発がんが観察された場合でも、ヒトで観察されることは稀である。この種差の原因を明らかにすることを目的として、特にヒトと異なると考えられる手術時の術野の無菌性並びに術後感染制御等に着目し、以下の調査を行った。

#### 1. 本邦の GLP 適合施設における手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関するアンケート調査

本邦の GLP 適合施設等を有する法人の毒性試験実施部門、薬理試験実施部門及び薬物動態試験実施部門等における実験動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する情報をアンケート調査により収集した（GLP を遵守して実施される安全性に関する非臨床試験の他に、薬理試験及び薬物動態試験に関するものを含む）。

調査内容は、ヒトの手術の場合と比較するために米国疾病対策・予防センター（CDC）の「Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection」に記載されている手術環境に関する事項である。本アンケートの調査により明らかになったマウスやラット等の場合とヒトの場合との大きな違いは、以下のとおりであった。①手術部位の皮膚の消毒に用いる薬物が異なる。②切開部位以外からの感染を避けるための措置、例えば覆布が使用されていない。③手術に

用いるピンセット、ハサミやメス等の消毒方法が一部異なり、また、それらが再使用されている。④術後の創傷の管理のために、げっ歯類では通常は抗菌剤の投与はせず、また、切開創を被覆剤で保護していない。以上の結果から、GLP 施設等における SPF マウスやラットの手術に関して、ヒトの術後感染の制御の観点からは、SPF としての管理及び取扱いに加え以下のような点に注意して行うことが必要と考える。

- (a) 切開部位以外の部位からの感染をさけるため、切開部位以外の部位を覆布で覆う。
- (b) 皮膚の消毒にはヒトの場合と同様にポビドンヨードを用い、消毒に必要な時間放置後に皮膚の切開等を行う。
- (c) 手術に用いるピンセット、ハサミやメス等は滅菌して用い、少なくとも別の動物への再使用は避ける。
- (d) 可能であれば、切開部位からの感染を避けるため被覆剤等で覆う。
- (e) 他の個体に傷口をなめられると皮膚常在菌、口内細菌等により汚染されるため、1匹ずつケージで飼育する。また、傷口を自身で舐めることが可能な場合は、エリザベスカラー等を装着させる等して、動物自身で舐めることができないようにする。
- (f) 試験成績に影響しない場合は、手術前及び／又は手術直後に適切な抗菌剤を使用する。

#### 2. 海外（カナダ）の GLP 適合施設におけるげっ歯類の手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並びに術後感染制御等に関する調査

実験動物の飼育環境、手術時の術野の無菌性（皮膚の消毒、手術時の無菌性等）並