

動物実験施設における 核酸分解可能な気相式除染 システムの導入とその運用

小木曾 昇¹、アルムニア フリオ¹、高野 一路^{1, 2}、鈴木 康司³、岡崎 利彦⁴

1：国立長寿医療研究センター研究所 2：(株) ケー・エー・シー

3：(株) シーライブ 4：大阪大学医学部附属病院未来医療開発部未来医療センター

1. はじめに

実験動物施設における SPF 環境下、清浄区域への飼育機器や器材、実験機器類等の物品搬入は、病原性微生物を持ち込まないために滅菌または除染、消毒処置を行う必要がある。主な滅菌（除染）法には、オートクレーブ（AC）滅菌法とガス滅菌（除染）法があり、滅菌物の耐熱性または非耐熱性により使い分けられている。また、飼育室内で感染症が発生した際や、飼育室や感染実験室のクリーン化を行うための滅菌（除染）には、ガス等を用いた空間除染が行われている。

平成 13 年（2001 年）エチレンオキシドガス（EO ガス）、平成 20 年（2008 年）ホルムアルデヒドが、突然変異誘発性や発がん性などの人体への影響を含む管理上の問題から労働基準法や労働安全衛生法施行令に基づき特定化学物質障害予防規則（特化則）が改正された。施設の現場においては、従前の漏えい防止または緊急時のための措置、作業主任者の選任や保護具着用等に加えて、ガスの発散による労働者の暴露を防止するための措置（発散抑制措置）、作業環境

測定、その他の措置として作業記録の保存（30 年間）等々が盛り込まれた。その様な理由から、医療用で汎用されている過酸化水素ガス、二酸化塩素ガス、オゾンガス、過酢酸製剤、低温蒸気ホルムアルデヒドガス等が実験動物施設においても使用されることになった。そこで、国立長寿医療研究センター（以下、長寿研）は、2012 年に開設した新実験動物施設の設計および建築段階で、非耐熱性の滅菌（除染）設備が考慮されていなかった致命的なハンディを背負いつつ稼働に間に合わせるため、①設備機器の導入時（インシャルコスト）と導入後（ランニングコスト）が比較的安価である、②特化則適用除外であり労働安全衛生に適していること、③滅菌（除染）対象物の浸透性が良好であり腐食性が少ないもの、④装置が洗浄室や飼育室、実験室への移動可能であること、⑤除染後のサニテーション（清拭）

が不要等の点から、メタノールの触媒反応による気相式除染システム（図 1）に着目し実験動物施設に導入し運用を始めた。本システムは 2021 年 3 月に装置（シーライブ社、steriXcure SX100CMS）を更新した。

2. 気相式除染技術の特徴と特性

銅（Cu）を触媒として酸化銅とメタノール（MeOH）の酸化還元反応を制御することにより、最適な複合ガスを生成している。ガスの主要成分は、ホルムアルデヒド（HCHO）80～250ppm とメタノール 1000～6000ppm を含む水素（H₂）、二酸化炭素（CO₂）、酸素（O₂）、窒素（N）、水分子（H₂O）の組成で、容積に応じた一定量のメタノールで生成されたガス成分は暴露後に強制的に分解処理される。

装置には触媒反応炉を搭載しており、触媒の化学反応は供給されるメタノールと空気の色に

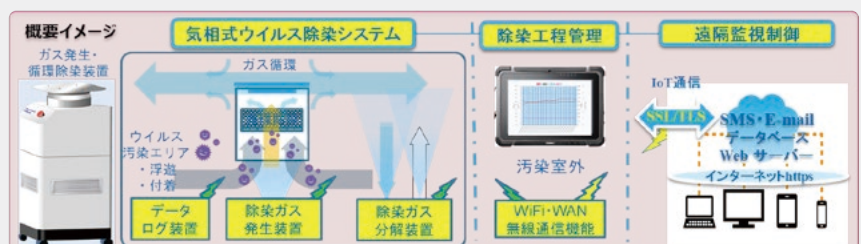


図1 気相式除染システム概要図

よって調整される。この反応中は外部からの熱エネルギーを必要としない自己反応状態であり、除染ガスとして機能する混合ガス成分の混合比を制御することで、除染対象の病原体に対する有効性を発揮する。

この除染ガスには、核酸（DNA,RNA）を99.99%分解する能力を有しており、病原体核内の核酸を分解し失活させることが確認されている（図2,3）ことが、他の滅菌（除染）装置では検証されていないまたは明らかにされていない。さらにコロナウイルス（SARS-CoV2）への有効性は減少率99.994%,LRV4.20を発揮（4Log）し、室内空気中の混合ガスがウイルスを巻き込んで、脂質からなるエンベロープの二重膜（破壊）、エンベロープ膜上の膜タンパク質（変性）、タンパク質からなるウイルス殻（カプシド変性）、核内のゲノムRNA（分解）等の作用に依り失活すると想定されている。

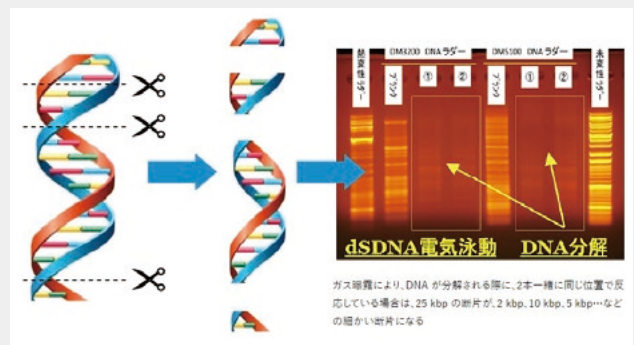


図2 dsDNA分解イメージ



図3 RNA分解

3. 滅菌（除染）・燻蒸法の特徴と比較

医療機関や実験動物施設で使用されている滅菌（除染）法^{1) 2)}は、EOガス滅菌、過酸化水素低温ガスプラズマ滅菌、過酸化水素ガス低温滅菌、低温蒸気ホルムアルデヒド滅菌が主なものであるが、EOガス滅菌が確実な滅菌であるような記述をしたものもある。以下に各滅菌（除染）法の特徴を示す（図4）。

①EOガス滅菌

微生物が持つタンパク質、核酸を変性させることにより、微生物を殺滅する方法である。EOガスは、爆発性があるため、通例、二酸化炭素などで10～30%に希釈して用いる。EOガスは、反応性の強いアルキル化剤であるので、EOガスと反応する製品またはEOガスを吸収しやすい製品の滅菌には適用できない。

②過酸化水素ガスプラズマ滅菌

作業工程は約1時間で滅菌が終了し、直ぐに使用できることと毒性がないことが特徴である。ランニングコストは他の滅菌装置に比べて高くつく。セルロース、ガーゼ、スポンジ、粉末、液体は滅菌できないし、包装紙もポリエチレンやポリプロピレン製が必要である。

細かい管腔を有する器材にもブースターを取り付けて滅菌できるが、ガスプラズマやガスの拡散を障害する包装形状には注意が必要である。

③過酸化水素ガス滅菌

過酸化水素による滅菌は、過酸化水素がもつ酸化力又は過酸化水素をプラズマ状態にすることにより発生するラジカルによる酸化反応によって、微生物を殺滅する方法である。加熱法と比較して低い温度での滅菌が可能であるが、セルロースを材料として用いた使い捨ての作業衣、メンブランフィルターなど過酸化水素を吸着するような被滅菌物（例、紙、

殺菌方法	ホルマリン燻蒸	過酸化水素ガス	過酢酸ガス	二酸化塩素ガス	オゾン	エチレンオキシドガス	Biovector / steriX 複合ガス
殺菌剤	加熱蒸散(架橋)	試薬噴霧(酸化)	試薬噴霧(酸化)	ガス発生(酸化)	オゾン発生(酸化)	EOGボンベ(アルキル化)	ガス発生(核酸分解)
有効成分の状態	蒸気	ミスト→蒸発	ミスト→蒸発	ガス	ガス	ガス	ガス
拡散性	低	中	中	高	中	高	高
空間浄化適応性	△	△	○	○	○	×	○
ダクト送達性	×	×	×	○	△	—	○
金属等に対する腐食性	△	△	△	△	×	—	○
殺菌力 有効濃度(ppm)	1600~2000 3500~5000	80~150 200~800	6	360	1~6 CT60	—	150~250
精密器材への適用	×	△	△	△	×	—	○
運転サイクル (100m ³ 以上)	2日	半日~1日	半日~1日	1/4~1/3日	半日~1日	—	半日~1日
危険度 (許容濃度)	TLV-TWA/STEL 0.1/0.3ppm	TLV-TWA 1ppm	TLV-STEL 0.4 ppm	TLV-TWA/STEL 0.1/0.3ppm	管理濃度 0.1ppm	管理濃度 1ppm特化則	TLV-TWA/STEL 0.1/0.3ppm

図4 滅菌(除染)の特徴と比較

シーライプ資料より引用

(注) 本表は独自調査によりまとめたものであり、ガイドラインに基づくものではない。用途や運用により評価がそれぞれ異なる。エチレンオキシドガスは空間除染に使用しないので注意が必要である。



図5 パスルームの気相式除染システム (steriXcure)

リネン、綿布、ガーゼ、セルロース、液体や粉末)では、滅菌効果が減少するため、このような被滅菌物の滅菌法としては適していない。

④低温蒸気ホルムアルデヒド滅菌

機械的制御として圧力、温度、時間をモニターし、予備加熱、空気除去、プレコンディショニング後に滅菌工程を行い、その後にRO水の蒸気パルスとエアパルスによる離脱を行う。OH基による蛋白質の凝固と核酸のメチル化によって滅菌される。対象器材は基本的にEOG滅菌と同じで、包装材としては不織布が推奨されている。滅菌コンテナの使用は確定されていない。ホルムアルデヒドは国際がん研究機関が、発がん性があると認定しており、EOGと同様に特定化学物質障害予防規則に含まれている。

滅菌(除染)法には、殺菌剤により有効成分の状態(ガス、蒸気、ミスト)により拡散性(浸透性含む)、空間浄化の適応性(臭気含む)、金属等に対する腐食性を含めた精密機器や器材の適用性、耐圧チャンバー(容器)の要不要、装置の移動式可否、等々の特徴があるため、滅菌(除染)する物品や使用する場所により選択する必要がある。

4. 気相式除染システムの装置と具体的な運用

除染システムの仕様は、除染ガス発生装置とガス分解装置、および操作用タブレット端末からなる(図5)。操作用タブレット端末には、除染ガス発生装置の発生時間、濃度制御、暴露時間、分解装置の運転時間等のプログラム設定を行う。2つの装置は除染する部屋(チャンバー)内に設置する。装置の運転前の準備として、除染ガス発生装置のメタノール供給タンクにメタノールを入れて電源オンにする。そ

の後の操作は不要で自動運転になる。また、装置の運転中には、メタノールの残量、除染する部屋(チャンバー)の温・湿度、装置の中の反応温度等が端末で確認できる。除染する場所は、日常の洗浄室のパスルーム(10m³)以外に、2年毎のメンテナンス(フィルター交換)を行うP3A感染実験室(50m³)で実施している。

(1) 洗浄室パスルームの除染

除染工程は、①ガス発生時間約30分→②ガス暴露時間約180分(ホルムアルデヒドガス想定濃度160-200ppmで制御)→③ガス分解時間約60分→④ガス排気時間約120分(排気開始10-15分後には部屋内のホルムアルデヒドガス想定濃度は0ppm)である(図6)。この工程は、最もガスの残留性が少ない人への労働安全性を考慮したプログラム設定である。

除染時には、ケミカルインジケーター(CI, 毎回)およびバイオリジカルインジケーター(BI, 使用頻度により2-4ヶ月毎)を用いた除染効果(ガス浸透性含む)を定期的に行っている。その結果を図7に示した。

除染する物品は、飼育器材、実験器具・器材等(チューブ、採血管、グローブやゴム・ビニール袋類、掃除用具)、実験機器類(例. 行動実験機器)、精密機器類(例. パソコン、タブレット)をエレクターシェルフの棚に置いて除染を行う(図8)。この部屋の広さ(10m³)では、2m近くの実験机や冷凍・冷蔵庫、冷却遠心機等も除染した。高頻度の除染によりパソコン(100回以上)、ガス発生装置及び分解装置だけでなく、実験器具・器材等の腐食は認められなかった(図9)。


(2) P3A感染実験室の空間除染の一例

除染工程は、①ガス発生時間約180分→②ガス暴露時間約240分(ホルムアルデヒドガス想定濃度160ppmで制御)→③ガス分解時間約360分→④ガス排気時間約510分(排気開始10-15分後には部屋内のホルムアルデヒドガス想定濃度は0ppm)である(図10)。また、実験室(空間)のガス除染効率(拡散)を上げるために、サーキュレーターを2台使用した。

除染時には、ケミカルインジケーターおよびバイオリジカルインジケーターを用いた除染効果(ガス浸透性含む)をその都度行っている。その結果を図11に示した。

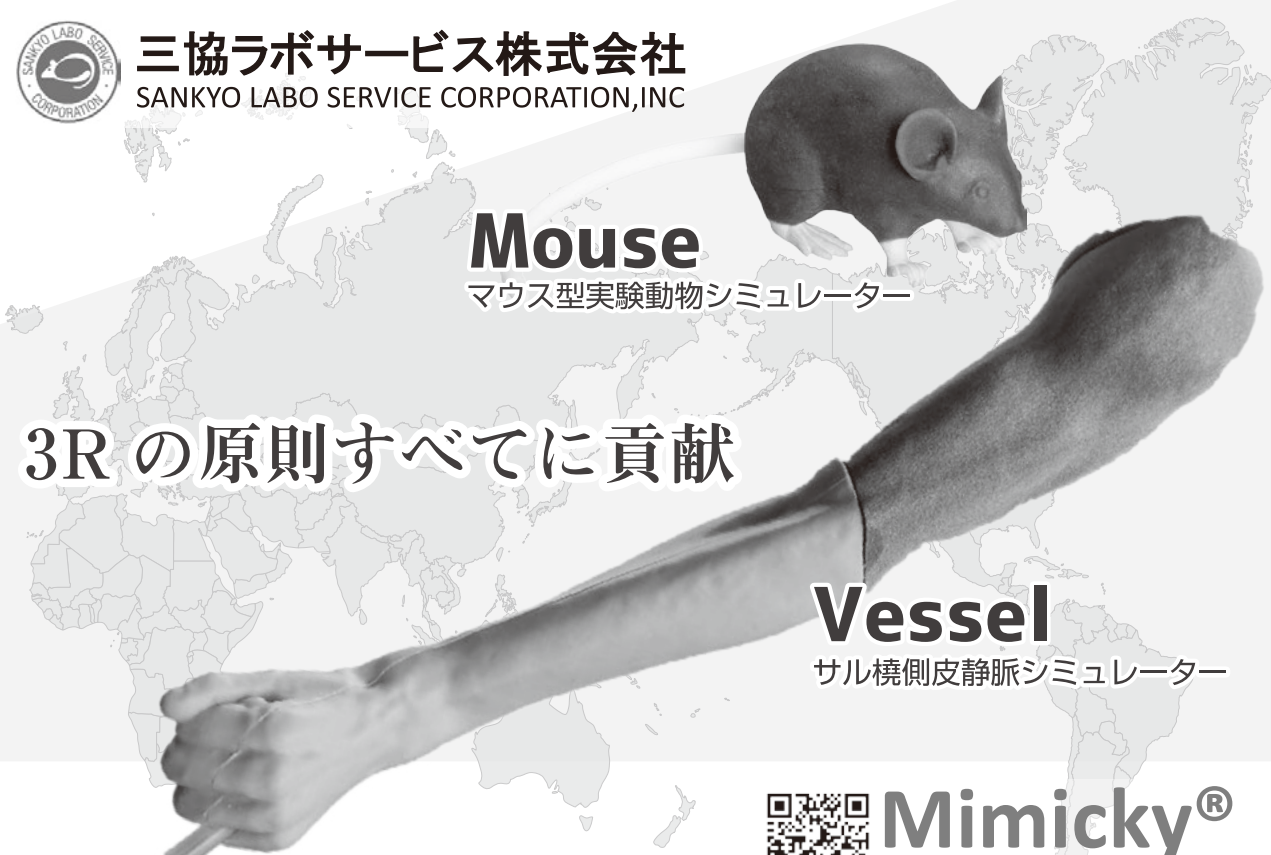
Biovector 曝露										
培養試験表	燻蒸工程	ガス発生(2.5H)→ガス曝露(4H)→			ガス分解(6H)→		エアレーション(8.5H)			
		7月6日13:00～ 7月6日17:00～			7月6日21:00～		7月7日2:30～			
P3A	培養結果表	日本薬局方による培養日数 (7日間)								
		1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目		
培養投入2020/07/11	BI設置場所	培養記号	撮影2020/07/12	撮影2020/07/13	撮影2020/07/14	撮影2020/07/15	撮影2020/07/16	撮影2020/07/17	撮影2020/07/18	
1: <i>Bacillus atrophaeus</i> ATCC #9372 Mesa Strip 1次包装 (グラシン紙)	テーブル上	P3A_BI①1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI①1.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	安全キャビ内	P3A_BI②2.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI②2.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	奥右角椅子上	P3A_BI③3.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI③3.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	ゲージ2-4内	P3A_BI④4.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI④4.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	準備室中央	P3A_BI⑤5.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI⑤5.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	コントロール	P3A_BI⑥C.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI⑥C.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	培養投入2020/07/11	BI設置場所	培養記号	撮影2020/07/12	撮影2020/07/13	撮影2020/07/14	撮影2020/07/15	撮影2020/07/16	撮影2020/07/17	撮影2020/07/18
	2: <i>Bacillus pumilus</i> ATCC #27142 Mesa Strip 1次包装 (グラシン紙)	テーブル上	P3A_BI①1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
P3A_BI①1.2			1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
安全キャビ内		P3A_BI②2.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI②2.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
奥右角椅子上		P3A_BI③3.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI③3.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
ゲージ2-4内		P3A_BI④4.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI④4.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
準備室中央		P3A_BI⑤5.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI⑤5.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
コントロール		P3A_BI⑥C.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI⑥C.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
培養投入2020/07/11		BI設置場所	培養記号	撮影2020/07/12	撮影2020/07/13	撮影2020/07/14	撮影2020/07/15	撮影2020/07/16	撮影2020/07/17	撮影2020/07/18
3: <i>Geobacillus stearothermophilus</i> ATCC #7953 Spore Strip 1次包装 (グラシン紙)		テーブル上	P3A_BI①1.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	P3A_BI①1.2		1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	安全キャビ内	P3A_BI②2.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI②2.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	奥右角椅子上	P3A_BI③3.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI③3.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	ゲージ2-4内	P3A_BI④4.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI④4.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	準備室中央	P3A_BI⑤5.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI⑤5.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	コントロール	P3A_BI⑥C.1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
		P3A_BI⑥C.2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	

図11 P3A感染実験室 BI培養結果



三協ラボサービス株式会社

SANKYO LABO SERVICE CORPORATION, INC




Mouse

マウス型実験動物シミュレーター

3R の原則すべてに貢献

Vessel

サル焼側皮静脈シミュレーター



Mimicky®

Experimental procedure Simulator