

マウス用個別換気飼育(IVC)システムにおける蟯虫感染事例

土佐 紀子

北海道大学大学院 医学研究院附属動物実験施設

1. はじめに

本稿では、北海道大学医学研究院附属動物実験施設(動物実験施設)と医歯学総合研究棟実験生物部門(実験生物部門)における個別換気飼育(IVC)システムにおいて、それぞれ検出されたネズミ大腸蟯虫およびネズミ盲腸蟯虫への対応・原因究明・対策について御紹介する(図1)。両蟯虫は、病原性は殆どないと考えられているが、飼育環境を反映する指標の一つとされている。感染症が拡大しにくいという特性を有するIVCシステムにおける感染症の撲滅と原因特定等の一助となれば幸いである。

2. 両施設における微生物学的統御

[マウスの微生物モニタリング方法]

定期微生物検査は、年3回(4ヶ月毎)、モニタリング動物(ICR、メス)を各飼育室2匹、4ヶ月間、使用済み床敷に暴露し、飼育室毎に1匹ずつ微生物検査を実施している。検査は、実験動物中央研究所(実中研)に委託している。微生物検査項目は、腸粘膜肥厚症菌、ネズミコリネ菌、肺パスツレラ、サルモネラ、ティザー菌、エクトロメリアウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、マウス肝炎ウイルス、センダイウイルス、肺マイコプラズマ、外部寄生虫、消化管内原虫、蟯虫である。

[感染症発生時の対応]

定期微生物検査結果の陽性や異常動物が確認された場合の初動対応は、1)動物の処分・移動・新規導入の禁止、2)人動線の制限(入室制限等)、3)飼育器材搬出・洗浄の取り扱い変更、4)飼育動物の情報収集(動物種、系統、収容匹数等)とし、その後は図2に示した対応を取ることを、使用開始前に利用者へ説明し、施設の指示に従って頂くことをお願いしている。

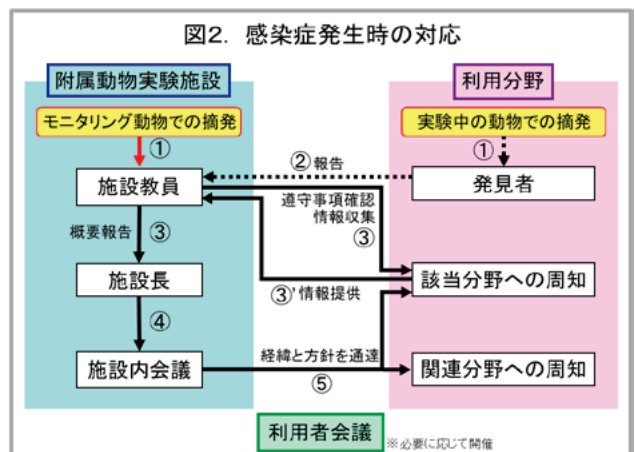
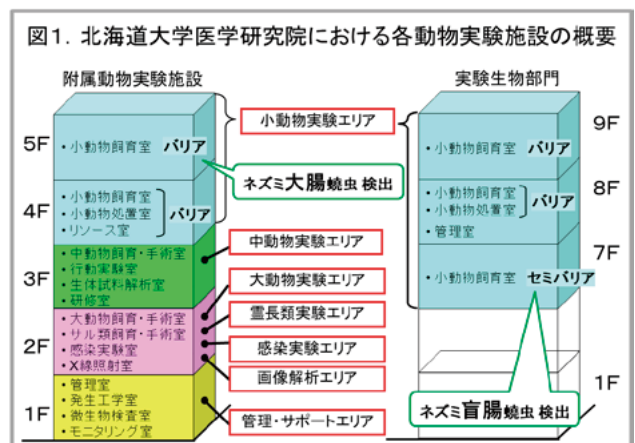
3. ネズミ盲腸蟯虫の検出と対応

[ネズミ盲腸蟯虫(*Syphacia obvelate*)について](文献1)

- 1) マウスの盲腸に寄生する蟯虫で、宿主特異性は比較的高い。
- 2) 虫卵感染後11日目に雌成虫は、盲腸から肛門部に移動後、肛門周囲粘膜に産卵しその一生を終える。
- 3) 糞便や汚染された飼料を摂取する事により、経口感染で伝播する。
- 4) 虫卵の検出は、肛門周囲に産みつけられた虫卵をセロハンテープにより採取し、鏡検により診断する(セロハンテープ法)。

[検出に至った経緯と利用状況]

実験生物部門において実施した平成29年度第2回定



期微生物検査（10月）のモニタリングマウス10匹のうち1匹においてネズミ盲腸蟻虫が検出された。検出された飼育室は、セミバリア飼育エリア（図1）で、マウスのみ約150ケージがIVCシステム（両面式2台）で飼育されており、1分野のみの利用だった。

【感染拡大状況】

定期微生物検査の結果を受け、直ちに、前述2.【感染症発生時の対応】に従って対応を行った。

同居のモニタリングマウス（1匹）におけるセロハンテープ法による検査では虫卵は検出されなかった。

第1回目の抽出検査は、当該飼育室の全飼育ケージ数の約20%のケージ（系統毎に約20%：計28ケージ）について、セロハンテープ法により実施し、1ケージ（1系統）で虫卵1個が検出された（図3-A, B）

この結果を受け、第2回目の抽出検査は、虫卵が検出された1系統（D系統）について全ケージ（計21ケージ）に対してセロハンテープ法による追加検査を実施したところ、21ケージ中7ケージ（約33%）で虫卵が検出された（図3-C, D）。その中でストレプトゾトシンを投与したマウスが収容されたケージの感染率は約70%だった（図3-D）。

以上の状況から、一部のマウスで感染しており、ストレプトゾトシンを投与されたマウスが感受性動物だったと考えられた。

【感染経路・感染源】

感染経路と感染源は不明である。これまでの定期微生物検査および単発検査において全エリアでネズミ盲腸蟻虫が検出された事はなく、ネズミ盲腸蟻虫が検出された系統の入手先は信頼のおける生産機関だった。

【ネズミ盲腸蟻虫検出後の対応】

1) 虫体の駆虫

マウスやラットでの蟻虫駆虫効果が報告されているイベルメクチンを全個体に週1回噴霧をすることを4週間実施した（文献1）。イベルメクチン噴霧は、0.1%イベルメクチン液をケージ全体に2回スプレーした。

2) 虫卵の殺滅

蟻虫卵は、飼育室内環境では長い間生存し、一般的な消毒法では細菌やウイルスと同様には殺滅できず、乾熱の場合は70度5

分、湿熱の場合は70度1分で死滅することが報告されていることから、下記の対応を行った（文献1）。

①使用済みケージ・アミ・トップ・給水瓶類

当該飼育室から搬出する際は、ビニールで覆う事により封じ込め、洗浄室にて洗浄後、通常通り全て高压蒸気滅菌処理（滅菌）を行った。

②給水ノズル

イベルメクチン噴霧期間中の第3週と第4週に全ノズルを交換し、この時、ケージも交換した。使用済みノズルは、滅菌を行い、その後洗浄し、再び滅菌を行った。

③IVCシステム

イベルメクチン噴霧してから、4週間後に当該飼育室内の全てのIVCシステム（汚染IVC）を別に保管していたIVCシステムと交換した。汚染IVCは、洗浄室にて洗浄し、スチームクリーナーによる熱処理を行った。

3) 飼育担当者の作業動線と対応

①エリア内の廊下・飼育室の床の消毒は、スチームクリーナーを用いて週2回熱処理し、通常の消毒も併用して実施した。

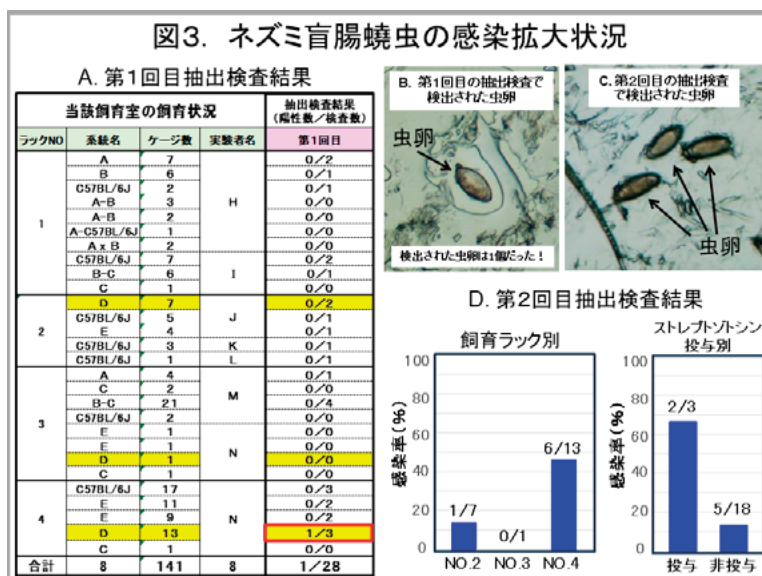
②入室の順番は、当該の飼育室に入室した後は、他の飼育室へは入室しなかった。

③ケージ交換の順番は、蟻虫が検出された系統のマウスが収容されているケージの交換は最後に行った。

④新しく入舎されたマウスのケージをIVCシステムに収容する前に新しいノズルを装着した。

4) 洗浄担当者の作業動線と対応

当該飼育室から搬出された使用済み飼育器機類を洗



浄した後は、スチームクリーナーで床を熱処理した。

5) 利用者への御願い

4週間のイベルメクチン噴霧後の検査結果が出るまでは、感染拡大を防ぐため、以下のことを徹底してもらった。

- ・ 飼育ラック内のケージの置き場所を現在の位置から変えない。
- ・ 利用者以外の見学者や業者の入室をさせない。
- ・ 生きた動物を搬出しない。
- ・ 動物死体をエリア外に搬出しない。
- ・ 飼育室内で採取したサンプルは、容器に入れ密閉した状態で搬出を行う。

【終息の判断】

下記の検査全てにおいて、虫体および虫卵が検出されなかつたことから終息と判断した。

- 1) 当該飼育室の全飼育数20%のケージについてのセロハンテープ法による抽出検査
(計3回実施：最初のイベルメクチン噴霧後、5週目、9週目、13週目)
- 2) 次の定期微生物検査 (平成30年2月実施)

【再発防止策】

セミバリア飼育エリアでの検出であったことから、スリッパの履き替えを飼育室の入口に加えて当該飼育エリアの入り口においても実施することとし、エリア入口の履き替え場所にオゾン消毒シューズボックスを設置した。

4. ネズミ大腸蟻虫の検出と対応

【ネズミ大腸蟻虫 (*Aspicularis tetraptera*) について】(文献1)

- 1) マウスの結腸起始部に寄生する蟻虫で、宿主特異性は比較的高い。
- 2) 虫卵感染後23日から雌成虫は結腸起始部内で産卵し、寿命は45~50日である。
- 3) 虫卵は糞便中に排出され、糞便や汚染された飼料を摂取する事により、経口感染で伝搬する。
- 4) 虫卵の検出は、比重約1.2のショ糖液に糞便を懸濁し、虫卵を液の表面に浮上させて集卵し、鏡検により診断する (浮遊法) (図4-A)。

【検出に至った経緯と利用状況】

動物実験施設において実施した平成30年度第2回定期微生物検査 (10月) のモニタリングマウス12匹のうち1匹においてネズミ大腸蟻虫が検出された。検出された飼育室は、バリア飼育エリア (図1) で、マウスのみ約320ケージがIVCシステム (両面式4台) で飼育されており、2分野が利用していた。

【感染拡大状況】

定期微生物検査の結果を受け、直ちに、前述2. [感染症発生時の対応] に従って対応を行った。

同居のモニタリングマウス (1匹) において、浮遊法による虫卵は検出されなかったが、簡易沈殿法 (文献1) による虫体2個 (メス) を検出した (図4-B)。

第1回目の抽出検査は、当該飼育室の全飼育ケージ数の約20%のケージ (系統毎に約20%：計64ケージ) について、浮遊法により実施したところ、11ケージ (40系統中8系統) で虫卵が検出された (図4-C)。虫卵が検出された系統は全てA分野のマウスだった。

抽出検査の結果とA分野における下記の利用状況から、虫卵が検出されたA分野のマウスは全部感染していると考え、対応することとした。

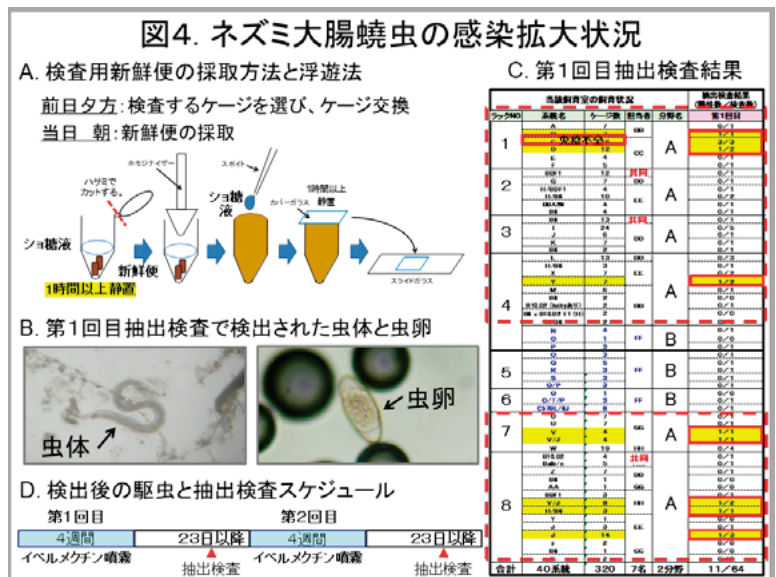
- 1) 系統毎に飼育棚を固定していなかった。
- 2) 異なる系統を同居飼育する実験を行っていた。

【感染拡大の原因】

上記1) と2) に加え、免疫不全マウスを維持していたことによると考えられた。

【感染経路・感染源】

ネズミ大腸蟻虫が検出された系統は、全て実験生物



部門のバリア飼育室から搬入していた（当該系統の入手先は信頼のおける生産機関だった）。実験生物部門から動物実験施設への搬入に当たっては、4週間の隔離飼育を行い、隔離後に各系統から1匹ずつ微生物検査を実施していた（実中研に依頼）。その検査において1系統でネズミ大腸蠕虫が検出されていた。この結果を受けて、当時、下記の対応を行い、当該系統を動物実験施設の飼育室に搬入した。

- 1) 一緒に隔離飼育していた系統も含め、隔離中のケージ全てを浮遊法による自家検査を実施し、当該系統にのみ虫卵を検出した。
- 2) 当該の1系統のみ、隔離飼育を4週間延長し、イベルメクチン噴霧による駆虫を行った。
- 3) 隔離飼育後、1匹を実験中研へ検査依頼し、陰性の結果を得た。残りの2匹は、浮遊法による自家検査を行い、陰性を確認した。

【ネズミ大腸蠕虫検出後の対応】

1) 虫体の駆虫

上記「感染経路・感染源」で記載した通り、隔離飼育においてネズミ大腸蠕虫が検出されイベルメクチンで駆虫した系統で、再度、本蠕虫が検出されていたことから、4週間のイベルメクチン噴霧1回では不十分であると考えられた。そこで、ネズミ大腸蠕虫のプレパテント・ピリオド（感染から産卵までの日数）が23日であることも踏まえて下記の対応を行った。

- ①全個体にイベルメクチン噴霧を週1回、4週間実施
 - ②上記①を実施後、1ヶ月間の期間において、再度、全個体にイベルメクチン噴霧を週1回、4週間実施（図4D）
- 2) 「虫卵の殺滅」、「飼育担当者の作業動線と対応」、「洗浄担当者の作業動線と対応」、および、「利用者への御願い」は、前述3.「ネズミ大腸蠕虫検出後の対応」と同様に実施した。
 - 3) ネズミ大腸蠕虫が検出されなかった分野への対応は、未使用の飼育室へ移動後、利用者から了解が得られたマウスのみ、イベルメクチン噴霧を週1回、4週間実施した。

【終息の判断】

下記の検査全てにおいて、虫体および虫卵が検出されなかったことから終息と判断した。

- 1) 当該飼育室の全飼育数20%のケージ（約60ケージ）

についての浮遊法による抽出検査（計2回実施）

検査は、プレパテント・ピリオドが23日であることから、第1回目と第2回目イベルメクチン駆虫後、23日以降にそれぞれ実施した（図4D）。

- 2) 次の定期微生物検査（平成31年2月実施）

【再発防止策】

系統毎に飼育棚を固定し、新たなケージを飼育ラックに収容する際は給水ノズルを新しいものと交換することを利用者に御願いした。

5. 汚染IVCの虫卵除去方法

汚染IVCは、ネズミ盲腸蠕虫で2台、ネズミ大腸蠕虫4台、計6台だった。汚染IVC内の虫卵を殺滅するためスチームクリーナーによる熱処理を行った後、（株）ホクドーに依頼して給排気管内をマイクロカット（除塵作業）およびネオポア噴霧消毒作業を実施した。汚染IVCの給・排気ブローアのHEPおよびプレフィルターは新品と交換した。

6. まとめと考察

図5にまとめと考察を示した。注目すべき点は、ネズミ大腸蠕虫は、当該飼育室を使用していた2分野の内、A分野のみの検出だったことである。B分野に拡大しなかった要因は、分野ごとに飼育棚が決められていたことによると考えられる。これは、感染動物との同居や汚染給水ノズルを共有することがなければ、IVCシステムにおいては、感染拡大を防止できるとことを示唆している。

終息宣言がなされてから、ネズミ盲腸蠕虫は5年、ネズミ大腸蠕虫は4年が経過しているが現在までに再発はしていない。また、虫卵除去を実施したIVCシステムも使用しているが、飼育マウスにおいて蠕虫は検出されていない。

謝辞

近年、感染症発生を経験する機会が少なくなったことから、「実験動物微生物統御若手の会」を立ち上げ感染事例の情報交換の場を作って下さった日本実験動物学会実験動物感染症対策委員会の池郁生先生、丸山滋先生、山田梓先生、および委員の皆さまに感謝する。

当施設の微生物学的統御は、国立大学法人動物実験

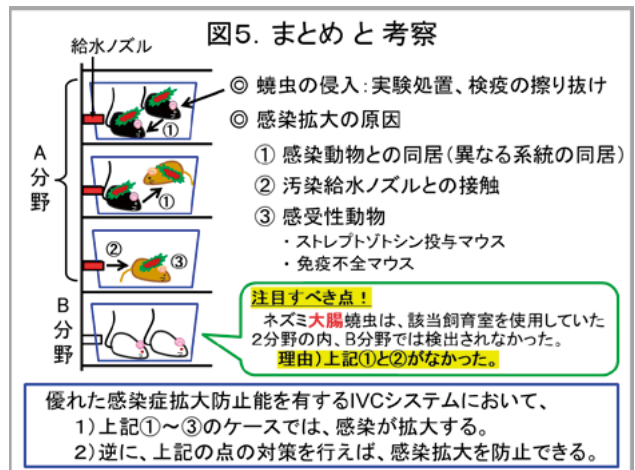
施設協議会が作成した資料を基に実施しており、本会の各委員会の皆さまに感謝する。

虫卵検出検査を実施した技術職員は、当施設において微生物検査を長年担当していたが、駆虫後の検査では「虫卵の見逃し」を非常に心配したため、判断に迷う画像を実験研の林元展人先生に見て頂き結論を出した。林元展人先生をはじめ社員の皆さまに感謝する。

汚染IVCの虫卵除去方法について相談にのって下さった自治医科大学実験医学センターの國田智先生に感謝する。

両施設の洗浄業務を委託している（株）ホクドー様の社員の皆さまに、蟻虫撲滅と一緒に取り組んで下さったことを感謝する。

蟻虫が検出されてから終息に至るまで多大な労力と時間が割かれたが、その殆どの作業は当施設の技術職員が行った。技術職員が「徹底的にやりましょう。」と言ってくれたことを覚えている。職業人としての高い意識を持った技術職員と一緒に仕事ができること



に感謝すると同時に、当施設にそのような技術職員がいることを誇りに思う。

参考文献

1) 巖城 隆：総説 マウス・ラットの蟻虫とその検査・駆虫、実験動物技術、第34巻2号、77-86、1999

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

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

Vessel
サル橈側皮静脈シミュレーター

3Rの原則すべてに貢献

Mimicky®
Experimental procedure Simulator