

## 遺伝子検査汚染防止要領

### 1 目的

本要領は、函館市衛生試験所病原体等検査業務管理要領に基づき遺伝子検査の汚染（コンタミネーション）防止について管理基準を定め、病原体等検査の信頼性を確保することを目的とする。

### 2 適用範囲

本要領は、函館市衛生試験所病原体等検査業務管理要領に基づき行う遺伝子検査について適用する。

### 3 汚染防止対策

遺伝子検査における汚染防止対策は、次に定めるところにより行うものとする。

#### (1) 遺伝子検査を行う室の構造

ア 核酸抽出作業を行う室と遺伝子増幅産物検出作業を行う室が明確に区分されていること。

イ 上記2室の空調は各々独立しているか、遺伝子増幅産物検出作業を行う室から核酸抽出作業および試薬調製作業を行う室へ空気が流れない構造となっていること。

#### (2) 作業動線の注意点

ア 作業動線は核酸抽出・試薬調製→核酸添加→遺伝子増幅・遺伝子増幅産物検出の流れに沿ったものとする（別紙1）。

イ 核酸抽出，試薬調製，核酸添加および遺伝子増幅産物検出の作業を行う際には，作業毎に必ず手袋を替えること。

ウ 試薬調製作業を行う室には，増幅産物や鋳型（検体から抽出した核酸および陽性コントロール）を持ち込まないこと。

エ 一連の検査において上記作業の流れを遡らないこと。

オ 複数の検査が重なって同時進行する事態となった場合，増幅産物検出を行った者が他の作業に従事することは極力避

けること。やむを得ない場合は、十分な手洗い（可能であれば靴の履き替え，専用白衣の着用）等キャリーオーバー対策を実施すること。

### (3) 機器の取扱い

#### ア 安全キャビネットまたはクリーンベンチ

(ア) 試薬調製に際しては、安全キャビネットまたはクリーンベンチを使用することが望ましい。

(イ) 使用前後に十分な時間紫外線を照射すること。

#### イ 遠心分離器

キャリーオーバー防止のため、検体もしくは遺伝子抽出を行う機器および部品については、薄めた次亜塩素酸を含んだペーパータオルで清拭後、数回水拭きし、定期的に内部を清掃すること。

#### ウ 微量分注器

(ア) 各作業専用の微量分注器を使用すること。

(イ) 陽性コントロールは他の作業用とは別に専用の微量分注器を使用することが望ましい。

(ウ) 粘性のある試薬はチップに付着しやすいため、液体吸引時にチップを液体に深く入れない、吸引動作終了後もチップを液体に入れた状態で数秒待つ、液体排出時のスピードを遅くするなど工夫すること。

### (4) 試薬および消耗品の管理

#### ア 試薬調製時の注意

(ア) PCR反応液に使用する試薬は、作業前に冷蔵庫内で融解すること。

(イ) プライマー、試薬等の分注にあたっては、各操作の液量に応じた微量分注器を選択すること。

(ウ) 溶液の入ったチューブ類（試薬、鋳型、PCR反応液等）のふたを開けるときは、必ず開く直前に軽く遠心し、内ぶた等に触れないように、また飛沫が発生しないように注意

すること。

- (エ) 反応チューブへの陽性コントロールの添加は，核酸添加作業を行う室で行うこと。

#### イ 使い捨て消耗品

- (ア) ピペッティング操作に伴って発生するエアロゾルによるコンタミネーションを防ぐため，フィルター付きエアロゾル防止チップを使用すること。

- (イ) 0.2ml チューブはDNaseフリーおよびRNaseフリー製品またはオートクレーブ滅菌したものをを用いること。

#### ウ 使い捨て手袋の使用

- (ア) キャリーオーバー並びに手の汚れや汗などによるコンタミネーション等を防止する目的で作業中は使い捨て手袋を着用すること。

- (イ) 上記観点から，手袋はパウダーフリーかつ各検査員の手に適合する大きさの製品を用いることが望ましい。

#### エ その他

試薬およびピペットチップ等器具の使用前滅菌にオートクレーブを用いる場合は，廃棄物等の滅菌に用いている機器は使用しないこと。

#### (5) 陰性コントロール，陽性コントロール

- ア 反応毎に必ず陰性コントロールと陽性コントロールを置き，コンタミネーション等が考えられる場合は考えられる原因に対処のうえ再検査を実施すること。

- イ 試薬調製作業を行う室には，遺伝子増幅産物および陽性コントロールの持ち込みは禁止すること。

#### (6) 非特異反応への対処法

- ア 非特異反応による標的遺伝子以外の増幅産物が見られた場合は，原因の究明を行い，必要に応じて機器の滅菌，検査手技等の見直し，試薬の取り替えなど改善を図ること。

イ 標的遺伝子に近いサイズの増幅産物を得られたが，非特異反応による増幅産物か判断に迷う場合には，検査部門責任者に報告および協議し，対応すること。

(7) 検体の取り違え防止

ア 検体受付時に，できれば複数の担当者立ち会いの上でナンバリングを実施すること。

イ 反応チューブやウェルは上記ナンバリングの順番を入れ替えることなく並べる等して入れ替わりを予防すること。

ウ 検査結果報告に際しては，最低限ダブルチェックを行うこと。

(8) 汚染した場合の処理

万が一汚染した場合，0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液で清拭し，その後水道水で数回水拭きする。また，目に見える汚染だけでなく検査室内の壁や床，検査機器の内部など予想よりも広範囲に対して処理を行い，可能であれば十分な時間紫外線を照射すること。

(9) 研修

検査部門管理者は，信頼性確保部門管理者および検査区分責任者と協議の上，検査員に対して遺伝子検査業務従事前および定期的に，本要領に記載されたコンタミネーション防止策を含む事項について研修を受けさせること。

(10) その他注意事項

ア キャリーオーバー防止の観点から，次亜塩素酸を使用して実験台等の定期的洗浄を行うこと。また，遺伝子検査室は定期的に清掃すること。

イ 遺伝子検査を行う室に用のない人の出入りは制限すること。

ウ 遺伝子増幅産物検出を行う室に保管した資材は，増幅産物非取扱い区域に移動しないよう制限すること。

エ 核酸抽出作業前の検体取扱いに際しては，バイオセーフテ

ィに十分留意すること。

オ オートクレーブでは増幅産物等DNAを完全に分解することはできないので、廃棄物等はオートクレーブ済であっても試薬調製作業を行う室には持ち込まないこと。

#### 4 実施時期

本要領は、平成30年4月1日から施行する。

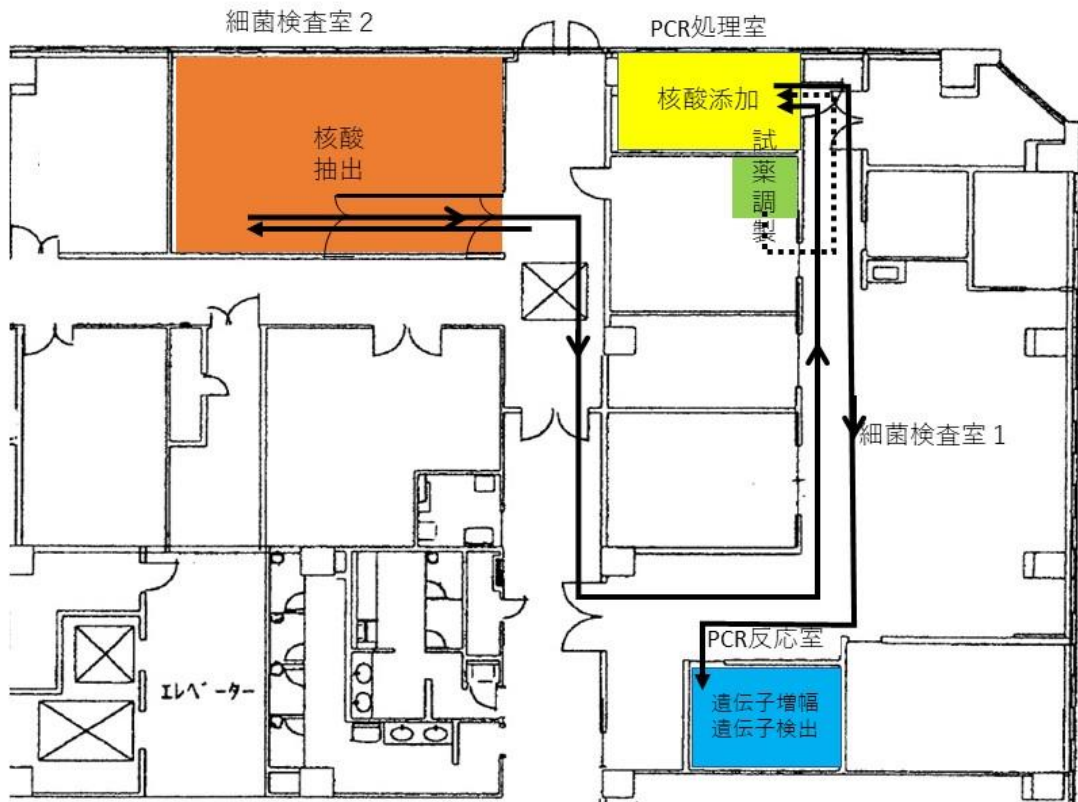
#### 附 則

本要領は、令和6年4月1日から施行する。

#### 参考文献等

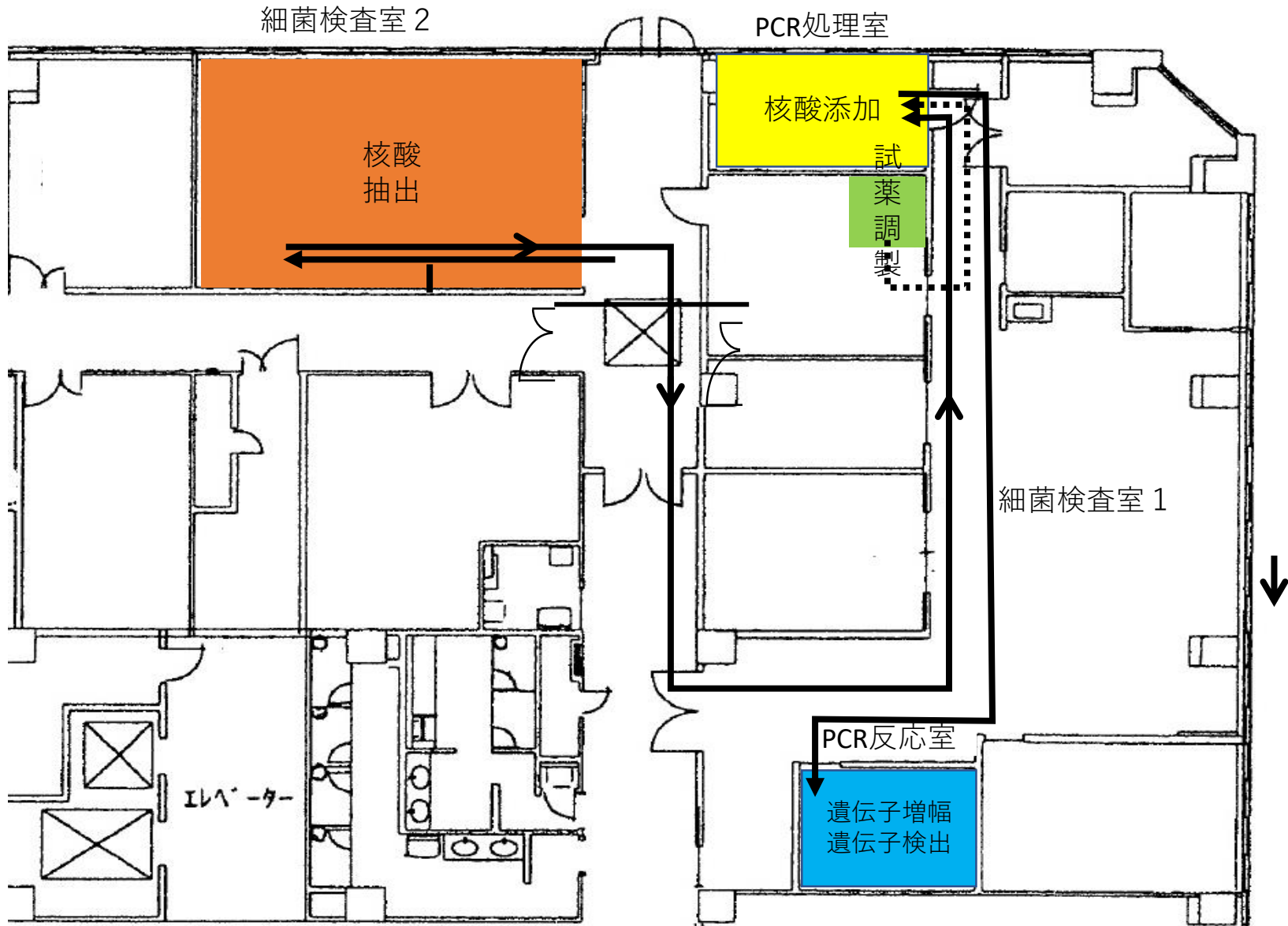
- (1) 農林水産消費安全技術センター：遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル第3版－IVコンタミネーション防止編（平成24年9月24日）
- (2) 経済産業省：遺伝子検査ビジネス実施事業者の遵守事項（平成25年）
- (3) 一般財団法人医療関連サービス振興会：医療関連サービスマーク制度－調査内容衛生検査所業務（2015年11月25日）
- (4) 実験室バイオセーフティ指針－WHO－第3版（バイオメディカルサイエンス研究会（2006年11月11日）

遺伝子検査の作業動線



実線：核酸抽出～遺伝子検出の動線

波線：試薬調製の動線



細菌検査室 2

PCR処理室

核酸抽出

核酸添加

試薬調製

細菌検査室 1

PCR反応室

遺伝子増幅  
遺伝子検出

エレベーター