

標準作業手順書

セカンダリーチューブへの不活化試薬分注作業
(コバス6800/8800測定用)

CONFIDENTIAL

株式会社ビー・エム・エル

業務名	セカンダリーチューブへの不活化試薬分注作業（コバス6800/8800測定用）
目的	当PCR検査の最初のステップで使用する不活化試薬を予めテストチューブ（セカンダリーチューブ）に分注する作業の手順を定める。
対象範囲	
	新型コロナウイルスPCR検査
関係部署	
	BMLグループで当該検査を実施している全事業所
手順概要	<p>PCR検査用検体が不活化容器に採取されていない場合、最初の測定工程は検体を分取して不活化試薬入りセカンダリーチューブに混和する処理となる。</p> <p>この不活化試薬を予めセカンダリーチューブに分注する際には、検体からのウイルス粒子や分離精製したRNA分子のコンタミネーションによる偽陽性を招かないように注意を払った操作が必要となる。</p> <p>本手順書では安全確実なセカンダリーチューブへの不活化液分注の作業手順を定める。</p>

《コバス6800システムでの新型コロナウイルスPCR測定的前提》

本システムでは、鼻咽頭拭い液や唾液などの検体から必要量をセカンダリーチューブに分取し、そのまま装置に投入することを標準としている。しかしながら、この操作手順では新型コロナウイルスを多量に含む検体を装置内で分注処置した際にウイルス粒子を含むエアロゾルが装置外に漏出する恐れがあり、従事者の感染リスクが懸念された。そのため、本システムを使用するBMLグループの全事業所では、安全キャビネットで検体を分取する際、予めグアニジン塩酸塩を主成分としたMagNA Pure 96 External Lysis試薬（以下、ライシス試薬）をセカンダリーチューブに入れておき、そこに検体を添加することでウイルスを不活化させ、安全な検査作業ができるよう取り計らうことを第一とした。

《作業開始前の注意点》

- 本作業は、コンタミネーション（検体由来のウイルスや抽出RNAの混入汚染）のリスクを回避するため、検体受付・仕分けを行う場所、およびRNA抽出処理を行う場所から離れた作業台で行う。
- 作業開始前に、手袋を新しいものと交換し、テーブル面、および連続ピペッター（エッペンドルフ マルチペットプラス4981連続分注器など）などの使用器具類表面をアルコール清掃する。なお、次亜塩素酸はDNA/RNAを分解する作用があるため、チューブキャップの内側に付着して中に混入すると偽陰性を招く恐れがあるため、手袋表面の清掃に使用してはならない。
- 連続ピペッターには「不活化試薬分注用」と明記して本作業専用とし、他の用途と共用してはならない。



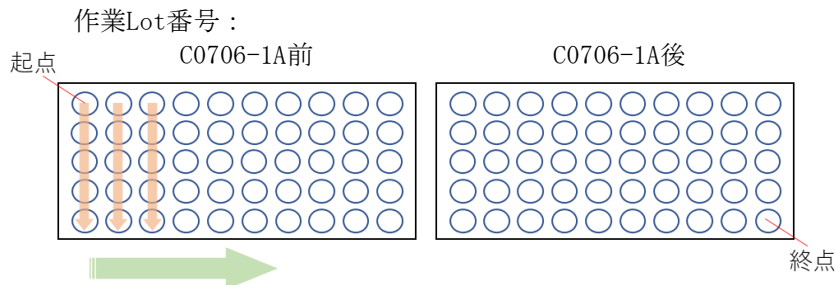
表示した連続ピペッター

1. MagNA Pure 96 External Lysis試薬（ライシス試薬）からコニカルチューブへの小分け

- 1) 新しい100mL入りの試薬ボトルから、デカントで50mLのコニカルチューブに45mL汲み出す（2本）。
注1：コニカルチューブは必ず新しいものを使用する。
注2：ライシス試薬は必ず新しいボトルを開封し、コニカルチューブには汚染のリスクを下げるため、45mL以上は注がないようにし、試薬ボトルに残った少量のライシス液は使用せずに廃棄する。
注3：2本以上の試薬ボトルからまとめてコニカルチューブに汲み出すことはせず、必ず1本（100mL）ずつ作業する。
注4：セカンダリーチューブへの分注作業（次工程）は、コニカルチューブ1本単位で作業Lot番号を割り付けて行う。
- 2) 「分注記録」（別紙）に、作業Lot番号、分注日、作業時刻、作業者名、試薬Lot番号を記入する。
注：作業Lot番号は、Cobas6800の「C」、分注日が7月6日であれば「0706」、ライシス試薬ボトルの1本目であれば「1」、2本目であれば「2」、汲み出した50mLコニカルチューブ2本に対して「A」と「B」で区別し、例として「C0706-1A」の形式で附番する。

2. セカンダリーチューブへの分注

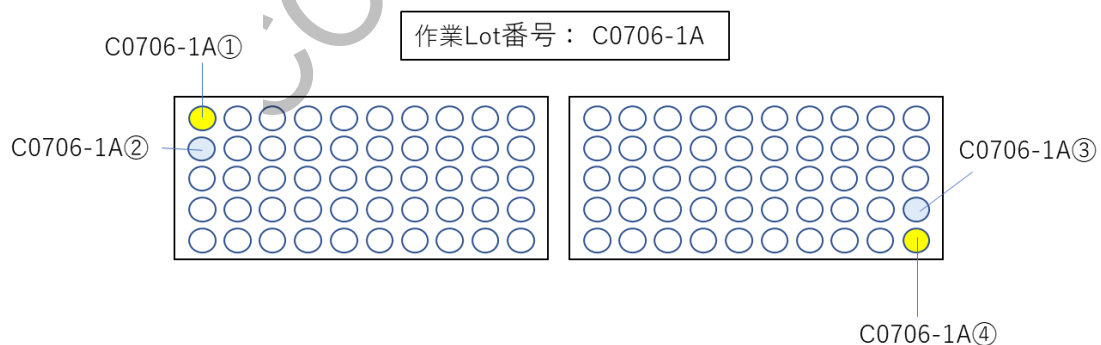
- 1) 50本ラックを二つ準備し、「作業Lot番号」ならびに前半ラック・後半ラックを意味する「前」、「後」をビニールテープや紙テープなどに記載してラックに貼付表示する。
- 2) 測定機専用のセカンダリーチューブをラックに並べ、連続ピペッターに10mL容量のコンビチップを装着し、上記1.で1本のコニカルチューブに汲み出したライシス試薬を、次頁図の順番で400 μ Lずつ100本のセカンダリーチューブに分注する。
注1：コンビチップの装着時、チップの先端部が手袋やテーブル面などに触れることのないよう厳重に注意する。
注2：連続ピペッターでの吸引時には、全量を吸うのではなく、5mL程度は残すようにする。
注3：汲み出したコニカルチューブにライシス試薬が余った場合には、そこに新しい試薬を注ぎ足しすることはせず、コニカルチューブごと廃棄する。
注4：50mLコニカルチューブ1本（セカンダリーチューブ100本分）の分注が終わる都度、コンビチップは廃棄する。



- 3) 分注された100本のセカンダリーチューブにキャップを填める。
 注1：この作業の直前に手袋を新しいものに交換し、指先をアルコール清掃する。
 注2：再度キャップを開けるときに力を必要としないよう、完全に押し込んで締め切ることはいない。
 注3：100本分注の作業Lotごとにキャップの色を変えて、区切りを分かりやすくする。
- 4) ラックに並べられた分注済みセカンダリーチューブには、分注元のコンカルチューブの作業Lot番号と対応付けるため、作業Lotごとに分注した100本分の最初の2本と最後の2本のチューブに、油性ペンで番号(作業Lot番号-①、作業Lot番号-②、作業Lot番号-③、作業Lot番号-④)を記入する。
- 5) 汲み出した2本目のコンカルチューブから分注作業を行う際には、コンビチップを新しいものに取り換え1)の工程どおり繰り返して100本のセカンダリーチューブに分注し、2)に従ってキャップを填め、3)のとおり番号を記入する。
 注1：100mLの試薬ボトルを2本以上開封して分注作業を行う場合には、改めて50mLコンカルチューブ2本への汲み出しと、1本ずつ100本のセカンダリーチューブへの分注とキャップ填めを1単位として繰り返す。
注2：試薬ボトルからの汲み出し、セカンダリーチューブへの分注、およびキャップ填めは、一連の作業として中断することなく行い、別の作業と併行してはならない。
- 6) 「分注記録」(別紙)の作業Lot番号に対応して、分注本数、キャップの色、使用50本ラックNo.を所定欄に記入する。

3. 汚染確認試験

- 1) 汲み出したコンカルチューブの作業Lot単位で、分注したセカンダリーチューブの区切りを明確にするため、最初の2本と最後の2本には作業Lot番号が記されている。その2本のうち、汚染が無いことを確認する試験用に最初①と最後④の1本ずつ抜き取ってPCR確認用サンプルとし、分注チューブラックは一旦すべて保管する(冷蔵・室温いずれでも可)。



- 2) 各作業Lotごとに2本ずつ(①、④)PCR確認用サンプルを取り揃え、滅菌生理食塩水200 μ Lを分注してコバス6800の必要量である600 μ Lにし、PCR検査を行って「陰性」であることを確認する。万一、ひとつでも「陽性」となった場合には、該当する作業Lotの分注セカンダリーチューブは使用せず、すべて廃棄する。
- 3) 「陰性」確認された作業Lotの分注セカンダリーチューブ②から③までの98本を、安全キャビネット内での検体分注に使用する。
- 4) 「分注記録」(別紙)の汚染確認チェック欄に①、④について、陽性/陰性に丸印を付ける。
- 5) 汚染確認試験は検査で使用する前日までに行う。

分注記録

cobas6800

試薬名	MagNA Pure 96 External Lysis
ルール	作業Lot毎にキャップの色を変える。 コニカルチューブへの小分けとセカンダリーチューブへの分注は中断なく一連の作業として完了させる。
保管方法	室温

作業Lot 番号	分注日	時刻	作業者	試薬Lot番号	分注本数	キャップ色	50本保存 ラックNo.	汚染確認 チェック日・結果 (使用前日まで)	
								日付	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性
0	/	:						/	①: 陽性 / 陰性 ④: 陽性 / 陰性