

特定病原体 3 種・4 種およびその他の取り扱いに関する 国際管理基準の実効性の検討

研究分担者：御手洗 聡（結核予防会結核研究所抗酸菌部）

研究協力者：五十嵐 ゆり子（結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科）

研究要旨

2015 年に結核菌の薬剤感受性試験外部精度評価を行った 88 施設を対象に、バイオセーフティに関連した手順がどのように実施されているかアンケート調査を実施した。40 施設（45.5%）から回答を得たが、送付した結核菌輸送容器を外装容器から安全キャビネット内で開封した施設はわずか 5 施設（12.5%）であり、検体の漏れに対する警戒が不十分ではないかと思われた。薬剤感受性試験の工程そのものはほぼ全て安全キャビネット内で実施されていたが、一部に個人防衛（レスピレーター）やエアロゾル抑制（震盪後の静置時間等）が不十分と思われる施設が認められた。今後、標準手順書の整備や適正な訓練を通じて安全強化を図る必要があると思われた。

A . 研究目的

感染症法は少なくとも特定病原体等に関して一定基準のバイオリスク管理を要求する。特定病原体等の中でも比較的高頻度に取り扱われる可能性のある結核菌は、現在四種あるいは三種病原体等（超多剤耐性に相当する結核菌のみ）に分類されており、エアロゾル感染することから日頃から（検体の内容が判明する以前から）注意深い作業が必要である。

結核は二類感染症であり、例年 2 万人程度の結核患者が新規に発生する。罹患率は

2014 年に 15.4（10 万人対）となり、年に 5%程度の割合で減少しているが、塗抹・培養検査は年間 100 万件程度、薬剤感受性試験は依然として 10 万件程度実施

されていると考えられる。罹患率が低下しても検査数自体は殆ど変化していないことが推測される。

2014 年度に実施したアンケート調査からは、特に実験室・検査室内の具体的手技や方法の標準化に関して優先的に調査する必要があると考えられる結果が得られており、今回薬剤感受性試験を実施するに当たり、その手順の標準化も考慮して、バイオセーフティに関する手順がどの程度履行されているか調査を行った。

B . 研究方法

病院検査室、検査センター及び地方衛生研究所を含む 88 施設に質問用紙を送付し、電子メールによるアンケート調査を行った。

対象は 2015 年に結核菌薬剤感受性試験外部精度評価を行った施設とし、感受性試験を自施設で実施していることが確認されている施設のみとした。

C . 研究結果

調査票を送付した 88 施設のうち、40 施設 (45.5%、2016 年 2 月 12 日時点) から回答を得た。質問内容及び回答は以下の通りである。

質問 1 結核菌株を受容した際、三次容器 (外装容器・段ボール箱) の開封を安全キャビネット内で行った。(回答数 40)

- | | |
|-------|---------------|
| 1 はい | 5 施設 (12.5%) |
| 2 いいえ | 35 施設 (87.5%) |

質問 2 三次容器 (外装容器・段ボール箱) までは安全キャビネット外で開封したが、二次容器は安全キャビネット内で開封した。(回答数 40)

- | | |
|-------|---------------|
| 1 はい | 22 施設 (55.0%) |
| 2 いいえ | 18 施設 (45.0%) |

質問 3 二次容器まで安全キャビネット外で開封した。(回答数 39)

- | | |
|-------|---------------|
| 1 はい | 12 施設 (30.8%) |
| 2 いいえ | 27 施設 (69.2%) |

質問 4 菌液の入った一次容器 (クライオチューブ) は安全キャビネット内で開封した。(回答数 40)

- | | |
|-------|---------------|
| 1 はい | 39 施設 (97.5%) |
| 2 いいえ | 1 施設 (2.5%) |

質問 5 菌液の入った一次容器 (クライオチ

ューブ) を開封する前に、蓋の裏に付いている菌を落とすため、軽く遠心した。(回答数 39)

- | | |
|-------|---------------|
| 1 はい | 19 施設 (48.7%) |
| 2 いいえ | 20 施設 (51.3%) |

質問 6 固形培地から菌をかき取る際、何を使用しましたか? (液体から調製した方は回答不要です) (回答数 28)

- | | |
|--------------|---------------|
| 1 使い捨てループ | 15 施設 (53.6%) |
| 2 白金耳 (再利用) | 8 施設 (28.6%) |
| 3 綿棒 (使い捨て) | 4 施設 (14.3%) |
| 4 その他 (具体的に) | 1 施設 (3.6%) |

質問 7 ボルテックス等で混合均質化した菌液を開封する際、どのくらい静置してから開封しますか? (回答数 38)

- | | |
|-------------|---------------|
| 1 直後 | 9 施設 (23.7%) |
| 2 10 ~ 20 分 | 23 施設 (60.5%) |
| 3 30 分以上 | 6 施設 (15.8%) |

質問 8 感受性試験を実施する際、N95 マスク (あるいはそれ以上) を着用していましたか? (回答数 40)

- | | |
|-------|---------------|
| 1 はい | 30 施設 (75.0%) |
| 2 いいえ | 10 施設 (25.0%) |

質問 9 感受性試験を実施する際、全ての工程を安全キャビネット内で実施しましたか? (回答数 40)

- | | |
|-------|---------------|
| 1 はい | 38 施設 (95.0%) |
| 2 いいえ | 2 施設 (5.0%) |

質問 9-2 上記の質問で「いいえ」と回答された方は、どのステップを安全キャビネット外で実施されたのでしょうか?

- MGIT チューブに分注までは、陰圧室内の安全キャビネット内で行い、閉栓後、同部屋内にある MGIT 培養機器へチューブをセットした。
- 接種用菌液の調整時、攪拌、静置後、おおよそ濁度（530nmO.D=0.1）に近づける時、安全キャビネット内では肉眼で見られないので、安全キャビネット外で室内の蛍光灯にかざして見た（ただし観察のみ）。

質問 10 検査室内に適切な消毒薬が常備されているでしょうか？（回答数 40）

- | | |
|-------|--------------|
| 1 はい | 39 施設（97.5%） |
| 2 いいえ | 1 施設（2.5%） |

質問 10-2 上記質問に「はい」と回答された方は、具体的な消毒薬の名前を記入してください。（回答数 35）

以下に回答のあった消毒薬等の名称を列記

<一般的に結核菌に有効>

- 消毒用エタノール（70%）
- イソプロピルアルコール
- 消毒用アルコール
- ウェルセプト（エタノール 83% ほか）
- サニコット EQ（酒精綿）
- ミルトン（次亜塩素酸ナトリウム 1.1%）
- 次亜塩素酸ナトリウム溶液
- ポロナック SQ（次亜塩素酸ナトリウム）
- ハイポライト（次亜塩素酸ナトリウム）
- ヤクラックス D 液（1% 次亜塩素酸）
- ピューラックス（次亜塩素酸ナトリウム 6%）
- テゴー 51（アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩 30%）

- エルエイジー 10 液（アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩）
- ハイジール（アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩 10%）
- クレゾール
- アクセルプリベンション（加速化過酸化水素）
- グルタルアルデヒド
- 5% フェノール

<一般に結核菌に無効>

- 第 4 級アンモニウム塩環境クロス（塩化ベンザルコニウム?）
- ヒビソフト（クロルヘキシジングルコン酸塩 0.2%）
- グルコン酸クロルヘキシジン

質問 11 安全キャビネット内でガスバーナーを使用しましたか？（回答数 40）

- | | |
|-------|--------------|
| 1 はい | 12 施設（30.0%） |
| 2 いいえ | 28 施設（70.0%） |

質問 12 手袋は使用していますか？（回答数 40）

- | | |
|-------------|--------------|
| 1 使用していない | 2 施設（5.0%） |
| 2 二重で使用している | 35 施設（87.5%） |
| 3 二重で使用している | 3 施設（7.5%） |

質問 13 廃棄物を処理する際のオートクレーブ温度と時間を教えてください。

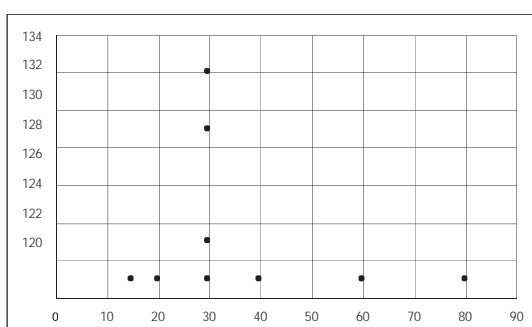
（回答数 39）

温度

- | | |
|-----------|--------------|
| 120 未満 | 0 施設（0.0%） |
| 121 ~ 130 | 38 施設（97.4%） |
| 131 ~ 140 | 1 施設（2.6%） |
| 141 以上 | 0 施設（0.0%） |

時間	施設数 (割合)
10 分未満	0 施設 (0.0%)
10 ~ 20 分	19 施設 (48.7%)
21 ~ 30 分	13 施設 (33.3%)
31 ~ 40 分	3 施設 (7.7%)
40 分以上	4 施設 (10.3%)

オートクレーブ時間と温度の関係を図 1 に示した。



縦軸 (温度:) 横軸 (時間: 分)

図 1

質問 14 プロスミック MTB-I (MIC マイクロプレート) を使用した方は、結果観察の際どのように見られましたか? (回答数 8)

- | | |
|-------------------------|-------------|
| 1 上から見て観察 | 0 施設 (0.0%) |
| 2 下から見上げて観察 | 0 施設 (0.0%) |
| 3 反射鏡を使って目下で下側からの反射像を観察 | 8 施設 (100%) |
| 4 その他 (具体的に) | 0 施設 (0.0%) |

質問15 今回の薬剤感受性試験外部精度評価実施中にヒヤリ・ハット事例があったら教えてください。

- ディスポ白金耳を使用した、ループ内の液が弾けたり、分注の際に分注後の泡が弾けたりした。
- 薬剤感受性の判定をしようと、プロスミ

ックMTB-I の入ったジャーを開けたら、パネルに入っているはずの菌液が漏れていた。

D . 考察

薬剤感受性試験外部精度評価を実践した施設を対象に、必須プロセスのバイオセーフティ手順実施状況についてアンケート調査を行った。三次容器 (外装容器) までの開封を安全キャビネット (Biosafety Cabinet : BSC) 外で実施している施設が 9 割近くあり、結核菌であることが自明である検体の取扱としては問題があると考えられた。また二次容器の開封も 3 割以上の施設が BSC 外で実施しており、輸送中の菌液の漏れがあった場合相当な危険があるものと思われた。一次容器の開封時に蓋の内側の菌液の飛散を防ぐため、一旦軽く遠心して静置してから開封するのが安全であるが、この点 5 割程度の施設がこの手順を実施していた。また、結核菌を採取する際は使い捨てループの使用が勧められるが、この点およそ 1/4 の施設が白金耳を再利用しており、火炎滅菌等使用法によっては潜在的なエアロゾル発生の可能性が考えられた。実際に BSC 内でガスバーナーを使用する施設が 12 施設 (30.0%) 認められている。エアロゾル発生後の静置時間についても不十分と思われる施設が 2 割以上あり、リスク軽減のため 15 分程度の静置時間を確保する必要が考えられた。個人防御は特に結核菌等のエアロゾル感染菌では重要と考えられるが、N95 マスクの使用について「否」と回答した施設が 10 施設 (25.0%) あり、個人防御の方策について精査の必要があると考えられた。検査工程のすべてを BSC 内で実施している施設が殆どであったが、1 施

設が濁度調整のため BSC 外で懸濁液を取り扱っていた。検体の落下や破損の可能性があり、BSC 内に黒い紙を持ち込んで白濁状態を見やすくするなど、検体を BSC の有効範囲内に出さない方法を工夫する必要性があると思われた。消毒薬については、およそ適当な（結核菌に対して有効な）薬剤が準備されていたが、一部塩化ベンザルコニウムなど結核菌に無効とされる薬品も挙げられており、適正化が必要と思われた。

オートクレーブの使用は殆どの施設で 121、15 ~ 30 分で使用されていた。以前の当研究班の研究成果として、オートクレーブを行うバッグの密封状況やボリュームによっては被験体の中心まで十分に湿熱が届かない場合も示されており、特に 15 分という時間が結核菌の滅菌に（通常の使用状況下で）適正かどうか検証する必要性が考えられた。ヒヤリ・ハット事例は殆ど報告されていなかったが、BSC 内でエアロゾルを発生させている可能性が示唆される事例があった。感受性試験の手順として回避不可能な可能性があり、确实・適正な BSC 使用と個人防御が必要と考えられた。もう一例は MIC マイクロプレートのシーリングが不十分であり、さらに振動あるいはインキュベーションによる圧力上昇で菌液が漏れた可能性がある。マイクロプレート全体をジャーに入れて培養しており、BSC 内部で適正に取り扱われていれば感染リスクは低いものと考えられた。薬剤感受性試験の実験室内工程のバイオセーフティ手順の調査を試みた。検査過程そのものはほぼ適正な防御態勢で BSC を用いて行われていると思われたが、一部に感染対策が不十分と思われる状況が認められた。検査工程以前

に輸送検体の開封に対する安全対策が不十分な施設が多いと思われ、適切な標準手順書の作成やトレーニングが必要と考えられた。

E . 結論

結核菌薬剤感受性試験外部精度評価という検体輸送と検査の総合プロセスについて、バイオセーフティ手順の評価のためのアンケート調査を行った。検査の過程はほぼ安全に行われていると思われたが、大量のエアロゾル発生が想定される検査法としては一部に対策が不十分と思われる施設が認められた。また、全体として輸送された検体の開封について、検体の漏れの可能性に対する警戒が不十分であると思われた。標準手順書の整備などを通じて安全性の確保に努める必要があるものと考えられた。

F . 健康危険情報

薬剤感受性試験外部精度評価に使用したパネルテストサンプルの作成は全て安全キャビネットを使用して実施し、輸送にはゆうパック（四重包装）を規定に従って使用した。

G . 研究発表

なし

H . 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）なし

