

B 羊膜の加工及び微生物学的安全性試験に関する標準書

平成 22 年 9 月 22 日 作成

平成 23 年 8 月 23 日 改訂

平成 25 年 7 月 1 日 改訂

平成 28 年 5 月 10 日 改訂

1.0 目的

本標準書は、羊膜移植等臨床応用される羊膜の品質を確保することを目的として、京都府立医科大学内の再生医療・細胞治療センターに付置される組織バンクが定める。

2.0 適用範囲

本標準書は、未加工羊膜の細切加工、微生物学的安全性試験実施事業者への委託、細切加工羊膜の保存に係る作業に適用する。

3.0 未加工羊膜の細切加工

3.1 試料の採取と、未加工羊膜の絨毛膜剥離

3.1.1 微生物学的安全性試験用の試料の採取

加工予定の未加工羊膜を、前日に、超低温槽(マイナス 80℃)から薬品保管庫(プラス 4℃)へ移動させ、解凍する。

ステンレスバットに生理食塩水約 250ml を入れ、そこに、清潔操作で未加工羊膜を移す。角型培地瓶に残された保存液に、注射用生理食塩水を必要に応じて添加し、均一に混ぜる。これを外部検査会社の指定した容器にシリンジを使って規定量移し、微生物学的安全性試験を行う。

検査項目は以下の通りとする。

淋菌：増菌培養

ガルドネレラ：増菌培養

一般細菌固定(ラクトバチルス、ビフィドバクテリウムを含む)：増菌培養

抗酸菌：42 日培養

クラミジア DNA：タックマン PCR

マイコプラズマ：(同定：M. genitalium /M. hominis/U. parvum/U. urealyticum)

単純ヘルペス(1 型、2 型) DNA：PCR

アデノウイルス DNA：PCR

ステンレスバットの未加工羊膜は、絨毛膜側を上面にし、指先で羊膜を均一に広げ、表面を撫でるようにして、絨毛膜及び付着血液を除去する。次に、生理食塩水を取り除き、これに新たに生理食塩水約 250ml を加える。

付着した血液、及び絨毛膜を完全に取り除くことができるまで、この操作を 2～4 回繰り返す。

最後の操作後の生理食塩水を、外部検査会社の指定した容器に、シリンジを使って規定量移し、微生物学的安全性試験を行う。 検査項目は 3.1.1 と同様とする。

3.2 羊膜の目視検査と細切加工、保存用検体の採取

目視観察及び指先の感覚による観察にて、血管跡、微孔の有無、凹凸の様子を把握する。血管跡や微孔の無い、均一な領域の羊膜を、手術用のメス等で約 3 × 3 cm 角に裁断する。

細切後の残余羊膜の一部をバイアルチューブに納め、蓋をする。バイアルチューブに、機構又は羊膜採取施設が付与した識別番号を記載した上で、微生物学的安全性試験用として、バンク内の超低温槽に保管する。

保管期間は 20 年とするが、その後も可能な限り長期間保管する。

3.3 加工羊膜の外観検査

裁断した羊膜を、ゲンタマイシン添加リン酸緩衝生理食塩液 (PBS (-)) 約 30ml を入れた 100mm 径のペトリディッシュに移し、肉眼にて外観検査を行い、以下の規格に適合しているものを加工羊膜とし、不適合のものは学内規則に従って廃棄する。

検査部位	検査項目	規格
上皮側	血管跡, 微孔の有無	血管跡・微孔が無いこと
絨毛膜側	繊維状組織の有無	繊維状組織が無いこと
	血管跡, 微孔の有無	血管跡・微孔が無いこと

3.4 加工羊膜の洗浄

加工羊膜をゲンタマイシン添加リン酸緩衝生理食塩水 (PBS (-)) 約 30ml を入れた 50ml 遠心チューブに、20 枚以下/1チューブ の枚数で移し、チューブローターを用いて 10rpm で約 5 分間回転させることで洗浄する。洗浄後の生理食塩水は無色透明でなければならない。洗浄後の生理食塩水が白濁等を示した場合には、無色透明になるまで洗浄操作を繰り返す。

洗浄後、さらにこれらの加工羊膜を、羊膜保存液約 30ml を入れた 50ml 遠心チューブに、20 枚以下/1チューブ の枚数で移し、チューブローターにて 10rpm で約 5 分間回転させ、洗浄を終了する。使用する羊膜保存液は、「A 羊膜採取に関する標準書」 3.2.1 の④項の通りとする。

3.5 加工羊膜の充填

羊膜保存液で洗浄した加工羊膜を、新たな羊膜保存液 1ml を入れた 2ml バイアルチューブに 1 枚ずつ入れて、蓋をする。

蓋の外側にワセリンシートを巻きつけて、密栓する。

3.6 組織番号の付与と表示

3.6.1 組織番号の付与

組織番号は、次の通りに付与する。

K P U M O O (西暦年下2桁) — O O O (その年の何番目に加工されたものか) — O O (枝番号)
例) K P U M 15-010-45 (2015年に10番目に加工された羊膜の45番)
「その年の何番目に加工されたものか」は、3桁表示とし、001から始める。
「枝番号」は2桁表示とし、01から始める。

3.6.2 ラベルの貼付

3.5で得られた加工羊膜充填バイアルチューブの1管ずつ、それぞれに、組織番号(その年の何番目に加工されたものか、まで。)と、加工年月日を記載する、または、これらを記載したシールやテプラを貼付する。

例)

K P U M 15-010 2015.09.27

枝番号は、バイアルチューブのキャップ上部に記載、または、キャップ部分にはめ込む専用の紙に書き込んで表示することもできる。

例)

45

3.7 保存

バイアルチューブに納められた加工羊膜は、加工前の羊膜毎に専用のケースに入れ、バンク室内にある超低温槽内で保存される。

超低温槽は、4つのパーティションに区切られ、それぞれが引き出し式のアルミ箱で8つのスペースに分けられている。ひとつのスペースに保存する羊膜は、原則として、専用ケースひとつとする。また、加工前羊膜、検査結果が整っていない羊膜、移植用の羊膜は、それぞれ別のパーティションで保管する。

超低温槽内で羊膜を保管する場所が変わった場合には、バンク員は「羊膜保存場所リスト」を更新し、超低温槽のドアに掲示する。

3.8 微生物学的安全性試験用試料の保存

3.7まで加工された羊膜は、バイアルチューブ1本を、微生物学的安全性試験用に、組織バンクの超低温槽内で保存する。

保管期間は20年とするが、その後も可能な限り長期間保管する。