

に示してほしい

(4) その他

- ・ 国立感染症研究所で日常行われている検査・研究の具体的な紹介
- ・ 今後も連携体制を取れるよう、研修会で交流を図ることが必要
- ・ 研修会における地研相互の意見交換もきわめて有用

等の意見が寄せられた。

表 2-1 1-1 に、要望等の概要を列記する。

表 2-1 1-1 設問 1 1-3 「インフルエンザ検査に関する技術研修の要望や意見」に寄せられた要望、意見

自治体の種類	要望、意見
指定都市	細胞培養に使用する MDCK 細胞の検定および定期的な分与による更新。高病原性鳥インフルエンザ <sup>a</sup> および新型インフルエンザ <sup>b</sup> 発生時における P3 施設内でのウイルス培養および分離・同定方法。
都道府県	ブロック（地域）ごとにレファレンスセンターが主体となって技術研修を定期的開催してはどうか（ブロック内の担当者との交流親睦、旅費の節約の意味からも）。
都道府県	前回参加した研修会の参加者は、半数以上が地衛研に異動して 2 年程度であった。地衛研内部での技術継承は当然されていくが、技術水準の維持を感染研がバックアップしていただきたい。
その他	主に新任者対象として定期的に（2 年に 1 度くらい）技術研修を少人数制（10 人前後）で開催してほしい。
都道府県	今後も分離ウイルスの同定の第一選択方法として HI 試験を推奨していくのであれば、実技研修を実施して手技の統一化（血球浮遊液の仕様濃度の統一と調整方法、凝集判定の目合わせ等）を図ってほしい。
その他	地方衛生研究所全国協議会に加入している施設は、全施設参加可能にして頂きたい。
都道府県	担当者の異動が多い場合は頻繁に技術研修が必要になるが、そうでない場合は検査法変更時で良い。
指定都市	薬剤感受性試験（IC50）の研修および各薬剤のコントロール株を配布してほしい
指定都市	細胞培養の技術研修があってもよい。
指定都市	高病原性鳥インフルエンザ検査に関しては、実際に実施する可能性は低いものの、いざという時に即時対応ができるよう準備が必要。人事異動等により検査技能及び知識の維持が難しい地衛研も少なからずあると思われるため、今後も定期的な研修開催を希望。
都道府県	H7, H9 亜型における Real time PCR 法の技術研修
指定都市	前回の研修は、検体の取扱いや抽出などウイルス検査における基本的内容について学び確認する良い機会となった。異動により担当者が変更となった場合には早期に受講（参加）することで効果が期待できる。
都道府県	リアルタイム PCR 検査がインフルエンザ検査と考えられがちなので、分離培養及び赤血球凝集試験と凝集抑制試験、中和試験等の技術研修も必要。
指定都市	大幅な人員の入れ替わり時期であり、暫くは毎年研修を行っていただくとよい。
都道府県	検査方法の変更がない場合、担当者が少ない地衛研では同じ研修に同じ担当者が行くことになるので効率が悪い（地衛研担当者同士での情報交換等全く意味がないわけではない。）。また、地衛研によって人事異動等による検査担当者の入れ替え頻度はまちまちであり、技術研修を何年かに一度といった開催方法では現状に即していない部分がある。（HIV の研修の様に毎年開催で、担当者が交代したなど必要な所属が手を挙げて参加する方法なども検討を。）
その他	（嘆かわしいことではあるが）人事異動による担当者の交代がしばしばおこるので、定期的な担当者養成プログラムが必要。

都道府県	薬剤耐性インフルエンザに関する技術研修会（IC50 等）を行ってほしい。
都道府県	MDCK 細胞培養およびインフルエンザウイルスの分離培養についての基礎的な研修会。
都道府県	技術研修会は、ありがたい。今後とも継続を希望。
指定都市	職員数削減や人事異動などで技術を持った職員の固定が困難になることが多い。季節性インフルエンザウイルス検査についても技術研修を希望。
指定都市	国立感染症研究所で、日常行われている検査・研究の具体的な紹介。遺伝子解析の研修。
その他	平成24年度のように旅費が支給される場合は出席できるが、そうでない場合は厳しい。実施予定が決まっているなら前年度9月までに教えて頂けると予算措置しやすい。
都道府県	転勤等で人員の入れ替わりがあるので、定期的に技術研修を開催してほしい。
都道府県	当所のように人員も少なく転勤も頻繁な衛研にとって、検査技術の維持は深刻な問題となっている。技術研修の定期的な開催を希望。
都道府県	国として分離株が必要であるならば、培養の方法についても統一的な、あるいは効率の良い方法を普及する必要がある。
都道府県	年に一回程度の国共済（旅費も含む）のインフルエンザウイルス研修会を実施して頂きたい。2～3人かの複数職員の検査体制をとりたいため。
指定都市	人事異動が多く、技術の継承が難しいため、H5N1に限らず数年に1回程度の研修を開催してほしい
都道府県	耐性検査やシーケンサーを用いる検査についても技術研修して欲しい。
都道府県	2009年のH1N1pdmによるパンデミックを乗り越えることができたのは、技術研修のおかげといっても過言ではない。今後とも研修の継続実施を希望。

## 2-1-2 地衛研におけるインフルエンザ検査体制全般や、地衛研相互及び国立感染症研究所をはじめとする他機関との連携等に関する意見

最後に検査体制全般に関する意見を求めたところ、担当レベルの具体的な提案（培養細胞の種類やHA・HI試験の反応条件設定等、試験検査実施に関する情報共有、衛微協等の機会における、感染研→地衛研に加えて地衛研相互の情報交換）、要望（例：陽性対照配付、遺伝子解析データベース GISAID の講習）に加えて、ウイルス検査体制維持の根拠となる通知発令や国からの予算措置、感染研等による基礎技術研修（細胞培養等）の実施要望がみられた。

表2-1-2-1に、各意見の概要を列記する。

表2-1-2-1 設問1-2に寄せられた意見、コメント

自治体の種類	意見、コメント、補足情報
指定都市	インフルエンザウイルスの遺伝子解析データベース（GISAID）をもっと使いやすくしてほしい（講習会、マニュアルの配布、日本語バージョン、感染研からの一括登録システム）
その他	検査機関の大小、人口の大小、地域特性をふまえた役割分担と、経費確保のための連携、データの有効活用のための連携を推進する必要がある。
指定都市	<p>&lt;HI試験について&gt; 今後のHI試験の目的が「抗原性の変化が捉えられないキットによる型の判定」のみであるならば、分離株の同定は他の方法（培養上清からの直接リアルタイムPCR等）でも良いのではないか。感染研とデンカ生研とで協力し、ある程度の抗原性解析が可能なキットを、有償でも良いので提供することできないか。</p> <p>分離株の中から遺伝子解析を実施すべき株を選定する際に抗原性の情報は有用、医療機関や保健所等から野外流行株とワクチン株の抗原性の相違についての問合せもあるので、HI試験によりある程度は抗原性の差異を観察できるキットの供給を希望。分離株に対して地衛研でできることが型判別のみというのは、心もとない。</p>
指定都市	<他機関との連携等について> 近年の衛生微生物技術協議会レファレンス関連会議は、感染研インフルエンザセンターから地衛研に対して非常に有益な情報を数多く提供していただいている。資料、スライド等、今後もよろしく願います。

	可能であれば、各地衛研との情報交換の時間帯も設けられれば良い。
その他	地研協議会の会員でも、特別区が設置する試験所等は国の地衛研に該当しません。また前回のような新型インフルが発生しても、特別区は何も手出しができません。都道府県等の地衛研並みには対応できませんが、せめて自区管内の検査物について、PCRによる振り分け作業だけでも担当させていただければと考える。施設設備の状況にもよりますが、地域の役割分担として将来の検討課題として頂けますことを希望します。
都道府県	県内や近県では担当者レベルの意見交換や連携がよく取れている。
指定都市	何か起こった時に相談できるように、今後も連携体制を取れるよう、研修会で交流を図ることが必要。
指定都市	日本のように地衛研（地方自治体）と感染研（国）が連携してインフルエンザの検査・研究をシステム化している国は世界的にも少なく、多くの論文が作製可能である。これからもより強固に連携を深めていきたい。
都道府県	分離培養に用いる細胞の種類やHA・HI試験の反応条件はシーズンごとに検討が必要であるが、苦勞して検討している施設が多いと思う。感染研を中心として多くの地衛研が情報共有できれば、各施設で効率的に最適な反応条件を選択できるようになるのではないかと。
都道府県	感染研と地衛研との連携はよく機能している。
都道府県	PCRプライマーの変更やHA価の低いウイルスの情報など感染研からの情報提供は行われるようになってきた。それに比べると地衛研相互の情報共有、連携等の機会が少ない。
指定都市	緊急時等連携の必要性は感じるが、連携を前面に出すと、行革推進担当から統合合併してしまえとなりかねない。連携の前に、地域の拠点として地方衛生研究所の必要性を法的に定める等の措置がなされないと、統合問題がクローズアップされるだけ。
都道府県	本県では検査担当者の人材不足が否めず、大変苦勞している。国からもインフルエンザを含むウイルス検査の必要性を盛り込んだ通知等を出していただき、それに基づいて地方が人材を確保しやすくなるような策を講じて欲しい。
その他	感染研及び周辺の地衛研からは、平時には様々な技術的支援があり、感謝している。そのうえで、いわゆる新型インフルエンザが発生した時の確定診断の流れに「地方衛生研究所における全数検査」が求められると、平時とのギャップが大きすぎる。地衛研相互の連携を図ろうにも、インフルエンザの流行は前回のように全国各地で一斉に起こる可能性が高いので、人的応援は不可能。地衛研の設置に関する法的なバックグラウンドを整え、各地方自治体が形だけでなくきちんと機能できる体制を作っていただきたい。
都道府県	衛微協などで、もう少し時間に余裕を持って情報交換できる場があればいい。
指定都市	平成24年9月のような研修・研究会を定期的に行っていただきたい。前回、意見交換をするうえで他地方衛生研究所の苦勞・工夫などを聞くことが出来、大変勉強になった。
指定都市	ウイルス分離・培養に関する知識技術の研修会を希望。
その他	当所はウイルス培養ができない施設として設置されているので、県はじめ、他の地衛研に検査のことでご迷惑をおかけし、申し訳ありません。
その他	地方では財政状況厳しい昨今、旅費は削減の対象になっている。旅費も含めた技術研修会を、地衛研ないし感染研で開催して頂きたい。
都道府県	地衛研では、人事異動で専門的な技術者が育ちにくいので、出来るだけ簡単で誰でもできるような検査法を分かりやすくマニュアルに示して欲しい。

### 3 総括

2012年12月から2月にかけて実施したインフルエンザ検査体制に関するアンケートには、インフルエンザ流行期にもかかわらずほぼ全会員から協力を得られた。

1 機関あたりのインフルエンザ検査要員数及びリアルタイム PCR 機器数は、国際空港を擁する都府県と大都市を除く大半の機関において、検査要員 1-3 名、機器 1-2 台に集中していた。リアルタイム PCR 機器数及び機種は、試験検査の量的・質的能力を左右する。人員と同様、一部都府県と大都市を除いてインフルエンザ用に使用可能な機器保有台数は 1-2 台であった。当所もそうであるが、2 台を、食中毒（ノロウイルス・サポウイルス）、デングウイルス等の検査に対してプライオリティを考慮しながら、割当てに頭を悩ます状況となっている。

2012 年現在のインフルエンザウイルス検査体制をみると、PCR のみを行い分離培養を実施しない機関は 5 機関と少なく、かつ全て指定都市以外の市及び特別区の機関に集中していた。検査実績数の推移をみると、パンデミック第一波がみられた 2009/10 シーズンをピークに減少傾向にある。今後、全数検査若しくは重症例や薬剤耐性疑い等の理由でウイルスサーベイランスの必要性が増す局面も予想されるが、速やかにスケールアップが可能な人的・物的基盤体制が維持できているか、懸念される。2013 年 6 月に改正された新型インフルエンザ等対策ガイドライン（平成 25 年 6 月 26 日）に新たに策定された「I サーベイランスに関するガイドライン」中の検査項目に、PCR 検査と並んでウイルス分離が明記されたことが、ウイルス分離体制の維持強化につながることを願う。

精度管理を実施しているとの回答率は、22-50%の間にあり、高いとはいえないが、内部精度管理のみ実施している機関のなかには、実施していないとの回答が相当あったと思われる。地衛研における RT-PCR 検査が入院勧告等の根拠とされる可能性を考えると、外部精度管理の定期的な実施が可能となるよう感染研・地衛研のさらなる連携が望ましい。感染研による外部精度管理の実施希望が、複数の機関より寄せられている。今後精度管理を計画する場合は、事前に実施を希望する項目等に関する調査が必要である。

厚生労働科学研究 小田切班活動以外の外部精度管理としては、九州ブロック等において地域保健総合推進事業の一部として、検体配付を伴う模擬訓練が実施されていた。

2009 年新型インフルエンザ発生時に地衛研業務のなかでもっとも注目された PCR によるインフルエンザ遺伝子検出は、関心が高く研修の要望も高かった。一方で細胞培養やウイルス分離の基本に関する研修の要望もあった。地衛研として自前で人材育成が困難になりつつある現状をこれ以上悪化させない努力（例えば専門職員人事異動サイクルの長期化、等）が必要であるが、事態は逼迫しており、感染研との連携による研修機会等の確保が急務となっている。

最後に、本報告書が会員機関の機能強化に役立つことを、重ねて願う。

研究班（小田切班）

サポート地衛研

堺市衛生研究所報告（内野清子、田中智之）

### 堺市感染症発生動向調査によるインフルエンザ患者発生状況（図1）

2012/13 シーズン、当市の週別定点あたり患者数は、全国よりも1週遅く立ち上がり、2012年第51週に1.0を超えた。全国のピークは2013年第4週で定点あたり36.4と警報レベルを超えたが、当市は第6週で定点あたり27.1に達したが、警報レベルには至らなかった。当市の流行期間は2013年第20週、定点あたり1.79までの22週間であった。

2013/14 シーズン、全国では第51週から立ち上がりを見せ、第5週34.4と増加が続いている。当市での立ち上がりは第2週から急激な立ち上がりを見せ、第5週には30.6となった。しかし、次週には25.0と減少に転じ、以下減少の一途をたどった。

### インフルエンザウイルス分離・検出状況（図1.2.）

2012/2013 シーズンの検体数は29検体であった。2011/12、2012/2013 シーズンはA亜型とBの分離割合がおおよそ半分であった。

2013/2014 シーズンでは2月10日までに64検体の検査依頼があった。2013/2014 シーズンは過去2シーズンで分離がみられなかったAH1pdm09が多数分離された。分離株はAH1pdm09が41(72%)、H3が10(18%)、B Victoria 系統が4(7%)、B Yamagata 系統株が2(4%)、合計57株が分離(分離率89%)された。現在までA亜型が90%と殆どを占めている。

### AH1pdm 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

抗インフルエンザ薬耐性株の検出は国立感染症研究所「A/H1N1pdm09 H275Y 耐性株検出法」に従って実施した。

2013/2014 シーズンに分離されたAH1pdm41株はすべて薬剤感受性株H275と判定された（2月10日現在）。

### インフルエンザサーベイランスの必要性

当市では、近年、感染症発生動向調査におけるインフルエンザ検体採取などに消極的な現状であった。しかし、新型インフルエンザの脅威に対処するためにも通常の季節性インフルエンザサーベイランスは重要であるとの観点から、医師会、保健所、堺市感染症情報センターの関係各機関が協議した。

その結果、

(1).毎年10月から翌年3月末まで、堺市医師会協力の元にインフルエンザ毎日報告を実施

した。当感染症情報センターが週毎の集計を医師会に還元している。

(2). インフルエンザウイルス定点への検体採取の理解と協力を要請した。すなわち、インフルエンザ流行立ち上がり早期、流行期、終息期に焦点を合わせ、適宜検体採取を行

い衛生研究所で分離を含めたウイルス学的検査・解析を行い、ウイルス学的情報を還元、ウイルス情報の共通再認識を開始した。その結果、検体採取は昨シーズンのおよそ2倍に増加した。当市のインフルエンザ流行の実態把握がより詳細になり医療機関や社会的現場への貢献が大きくなった。

図1.感染症発生動向調査インフルエンザ患者報告数とウイルス分離数  
(2014年2月10日現在)

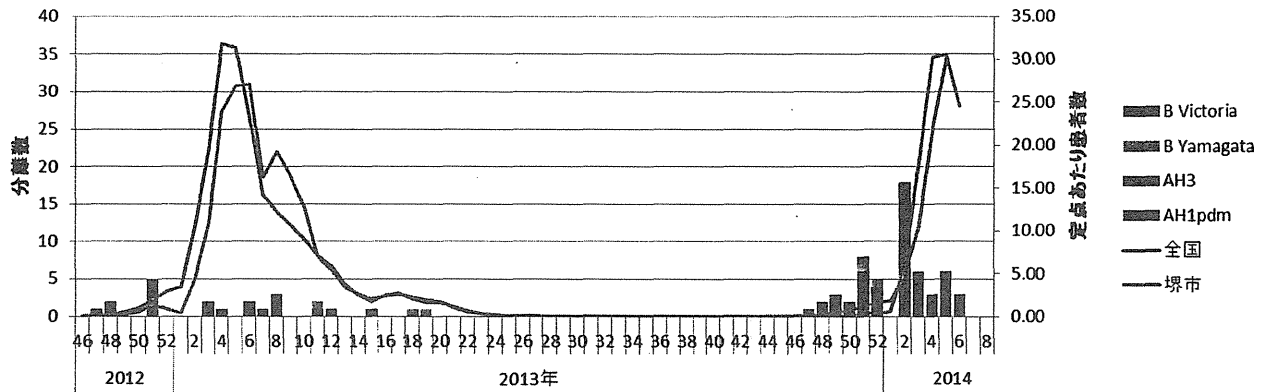
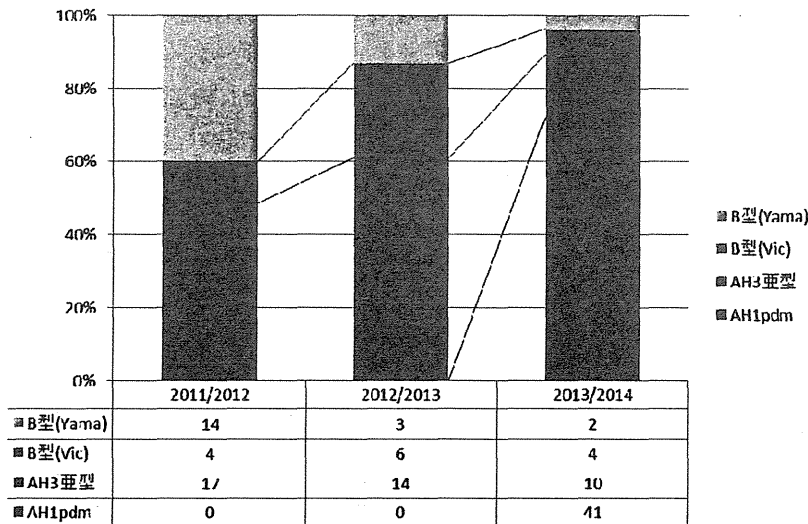


図2.インフルエンザウイルス分離状況(2014年2月10日現在)



## インフルエンザウイルス核酸検出検査(リアルタイム RT-PCR 法)

### 第 1 回全国地衛研外部精度管理(EQA)実施結果について

分担研究者：影山 努 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター室長

研究協力者：高山 郁代 同上 研究員

中内 美名 同上 主任研究官

高橋 仁 同上 主任研究官

#### 研究要旨

新型インフルエンザの発生時は、感染拡大防止策の実施のため、全国の地方衛生研究所において新型インフルエンザに対する PCR 検査の実施が求められている。全国で適切に新型インフルエンザの確定検査が実施できるよう、地方衛生研究所においては、その検査体制の整備が急務となっている。本研究では地方衛生研究所が行うリアルタイム RT-PCR 法を用いたインフルエンザウイルスの核酸検出検査の精度向上を目的とした外部精度管理(EQA)評価を、全国 74 カ所の地方衛生研究所を対象に行った。

#### A. 研究目的

「新型インフルエンザ等対策特別措置法」が平成 24 年 5 月 11 日に公布され、新型インフルエンザの発生時は、感染拡大防止策の実施のため、全国の地方衛生研究所において新型インフルエンザに対する PCR 検査の実施が求められる事になり、全国で適切に新型インフルエンザの確定検査が実施できるよう、地方衛生研究所においては、その検査体制の整備が急務となっている。

近年、海外においては H5N1 や H7N7 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスや H3N2 亜型のブタインフルエンザウイルスなど、ヒトへの感染が散発的に発生している。平成 25 年 3 月には新たに H7N9 亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染例が、同年 11 月には H10N8 亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が中国で初めて報告され、同年 6 月には H6N1 亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が台湾で初めて報告された。

これらのウイルスを起源とするヒトからヒトへ感染する新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されており、わが国においても、新型インフルエンザ発生時における早期検査体制の構築のため、平時の間に地方衛生研究所にてインフルエンザ核酸診断検査を正確に行える環境を構築しておく事が重要となっている。

本研究では、その体制づくりの一環として、全国 74 カ所の地方衛生研究所に対してリアルタイム RT-PCR 法を用いたインフルエンザウイルスの核酸検出検査について、検査精度の客観的な評価およびトラブルシューティングによる検査精度向上を目的とした外部精度管理(EQA)を行った。

#### B. 研究方法

全国 74 カ所の地方衛生研究所に対して、実施要項(添付資料 1)、検査方法等に関するアンケート、結果記入ファイルの配布を行い、配布済みの H5 および H7 亜型

するアンケート、結果記入ファイルの配布を行い、配布済みの H5 および H7 亜型検出用陽性コントロールを利用した H5 および H7 亜型定量的検査を実施するように依頼し、検査結果を集計して高病原性鳥インフルエンザ (A/H5N1) および鳥インフルエンザ (A/H7N9) 診断検査の実施体制整備の確認と各診断検査の検査精度向上のための EQA 評価を行った。

### C. 研究結果

全国 74 カ所の地方衛生研究所で行った試験結果および感染研で行った試験結果を集計し、各地方衛生研究所の検査結果について詳細な解析を行い、「結果の解釈について(添付書類 2)」、「アンケートおよび結果記入ファイルからの集計(添付書類 3)」および各地方衛生研究所向けの「解析結果」をそれぞれ送付した。また、問題が推定された場合は、トラブルシューティングのための参考として、解析結果にコメントを記入し、個別にフィードバックを行った。

### D. 考察

これまで国立感染症研究所が示した「高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル」および「鳥インフルエンザ A (H7N9) ウイルス検出マニュアル」に記載の Type A (M 遺伝子)、H5 および H7 検出用のプライマー配列およびプローブ配列、試薬、反応条件は、感染研の環境で一定の検出感度・特異性を担保しているが、各地方衛生研究所が使用している検出装置や試薬類は同一ではなく、検出装置のメンテナンス状況や試薬類の保管状況あるいは検査手技や検査手順の違いなどにより環境が大きく異なるため、検査結果も異なる可能性がある。そのため、各施設で行う検査結果の正確性、安定性評価などについては精度管理を行って、確認する事が重要である。

リアルタイム RT-PCR 法を用いた H5 および H7 検出検査は、検出装置、プライマー・プローブ、試薬、陽性コントロール、

検査手技や検査手順に問題があると、正確な検査が行えなくなる可能性があり、今回の EQA では、全国に配布した H5 および H7 検出用陽性コントロールを共通の標準品として、Type A 検出、H5 および H7 検出の定量的リアルタイム RT-PCR の検査結果を評価する事で、これらの検出系において精度の高い検査が行えているか、行えていないとすればどこに問題があるか、その原因を特定(特定できない場合は推定)することを目的に検査結果の解析を行った。

なお、今回の EQA ではこれらの陽性コントロールに問題がない事を前提にして評価を行うため、保管中の陽性コントロールに何らかの問題があった場合(指定濃度に調製されずに保管されている場合、ピペッターの不備など何らかの原因で指定濃度になっていなかった場合、凍結融解の繰り返しによる劣化あるいは冷凍庫の不調など保管状況が適正でなく劣化した場合など)あるいは EQA 実施時に陽性コントロールの希釈や試薬調製の量が正確でなかった場合(希釈時に均一に混ざっていなかった場合やピペッター分取量が不正確だった場合など)は、正確な評価を行う事が難しい。一方で、明らかに保管していた陽性コントロールあるいはプライマー・プローブに問題があった場合は、感染研で保管された陽性コントロールを新たに配布する、新しいプライマー・プローブを配布するなどしてトラブルシューティングを行ってもらい、問題の解決に繋がったケースも多く、本 EQA はリアルタイム RT-PCR 法を用いた H5 および H7 検出検査の精度管理に有用であったと考えられた。

### E. 結論

陽性コントロールに何らかの問題があり、①精度管理がうまく行えないケース、②ピペッターに問題がある場合あるいは手技が安定しないケース、③陽性コントロールの希釈あるいは反応試薬の分取を正確にできなかったケース、④凍結融解



の繰り返しによりプライマー・プローブ等試薬に何らかの問題があったケース、⑤リアルタイム PCR 機器のメンテナンス不備により機器の測定が正確ではなかったケース、など原因は様々であり、精度の高い検査が行えない可能性がある地方衛生研究所もいくつかあったが、本 EQA によりトラブルシューティングを行い、問題点を改善することにより、検査精度の向上を図った地方衛生研究所もあり、本 EQA の効果が確認された

新型インフルエンザウイルスが出現した直後は、検出用試薬の開発が間に合わずに、除外診断(例えば Type A 陽性、H1pdm 陰性、H3 陰性の場合、新型インフルエンザが疑われる)が検査の中心になる可能性もあるため、日頃ウイルスサーベイランスで行っている亜型同定検査が正確に行えることが非常に重要であり、本 EQA のような精度管理はその確認にも有用である。日頃の検査において検査精度が維持されていなければ、新型インフルエンザが発生した際にも、精度の高い検査が行えず陽性例の見逃しや偽陽性例など誤った結果を出す可能性が非常に高くなるため、新型インフルエンザ発生時の感染拡大防止を行うための初動対応を確実にするためにも、各地方衛生研究所において精度の高い検査体制を常に維持するためにも、今後も EQA の実施は重要と考えられる。

今回の EQA では H5 および H7 亜型検出用陽性コントロールを用いた精度管理しか行っておらず、B 型または A 型インフルエンザウイルスの他の亜型検出に関する精度管理についてはまだ行っていない。今後、未知検体を用いた EQA などにより、H5 および H7 亜型以外の検出系の精度管理も必要である。その際に検体数を多くすると、精度管理できる範囲も広がりより有効な EQA の実施が可能となるが、一方で各地方衛生研究所の EQA にかかる負担も大きく、また対象施設も 74 カ所と多く解析数が膨大となり、解析を行う側にも大きな負担がかかる。検体数を増やし

たより詳細な EQA の実施は困難な状況であるが、毎年、少しずつ段階的にかつ継続的に EQA を実施する事でも、精度管理向上の効果は得られると考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Nobuhiro Takemae, Tung Nguyen, Long Thanh Ngo, Yasuaki Hiromoto, Yuko Uchida, Vu Phong Pham, Tsutomu Kageyama, Shizuko Kasuo, Shinichi Shimada, Yasutaka Yamashita, Kaoru Goto, Hung Vo Van, Do Thi Hoa, Tsuyoshi Hayashi, Aya Matsuu, Takehiko Saito. Antigenic variation of H1N1, H1N2 and H3N2 swine influenza viruses in Japan and Vietnam. Archives of Virology 158(4):859-876, 2013
- 2) Tsutomu Kageyama, Seiichiro Fujisaki, Emi Takashita, Hong Xu, Shinya Yamada, Yuko Uchida, Gabriele Neumann, Takehiko Saito, Yoshihiro Kawaoka, Masato Tashiro. Genetic analysis of novel avian A(H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013. Euro Surveill. 18(15). 20453-20468, 2013. Erratum in: Euro Surveill. 18(16):20459, 2013.
- 3) Miho Kobayashi, Ikuyo Takayama, Tsutomu Kageyama, Hiroyuki Tsukagoshi, Mika Saitoh, Taisei Ishioka, Yoko Yokota, Hirokazu Kimura, Masato Tashiro, Kunihisa Kozawa. Novel Reassortant Influenza A(H1N2) Virus Derived from A(H1N1)pdm09 Virus Isolated from Swine, Japan, 2012. Emerg Infect Dis. 19(12):1972-1974, 2013

### 2. 学会発表

#### 国内会議

- 1) 大場邦弘, 田中智子, 小田智三, 高山郁代, 中内美名, 影山 努. マイクロ流路チップを用いた Direct RT-LAMP 法によるインフルエンザおよ

- びRS ウイルス感染症診断の臨床的検討. 第 62 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 東京. 2013 年 10 月
- 2) 林 健太, 加藤昭生, 大場邦弘, 小鍛冶雅之, 高橋 仁, 高山郁代, 中内美名, 影山 努. インフルエンザ A/H3N2 感染を契機に発症した横断性脊髄炎の 4 歳男児. 第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 札幌. 2013 年 10 月
  - 3) 影山 努, 高橋 仁, 高山郁代, 中内美名, 田代真人, 大場邦弘, 改田厚, 久保英幸. Direct RT-LAMP 法によるマイクロ流路チップを用いたインフルエンザおよび呼吸器感染症ウイルスの同定について. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
  - 4) 改田 厚, 久保英幸, 山元誠司, 入谷展弘, 天羽清子, 影山 努. 乳幼児呼吸器感染症からのコロナウイルス検出. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
  - 5) 高橋 仁, 田中仁喜, 西村研吾, 高山郁代, 中内美名, 永田志保, 小林美栄, 藤博幸, 大西和夫, 横田(恒次)恭子, 田代真人, 影山 努. H5 HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H5N1 インフルエンザ迅速診断法構築の検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
  - 6) 高山郁代, 中内美名, 高橋 仁, 田代真人, 影山 努. 鳥インフルエンザ A(H7N9) ウイルス検出系の構築および喀痰検体の前処理についての検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
  - 7) 小林(石原)美栄, 高橋 仁, 西村研吾, 高山郁代, 大西和夫, 板村繁之, 影山努, 横田(恒次)恭子. H5N1 インフルエンザウイルス高感度検出系開発に向けた H5HA 特異的抗体のエピトープ解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
  - 8) 中内美名, 高山郁代, 高橋 仁, 大場邦弘, 田代真人, 影山 努. B 型インフルエンザウイルス Victoria 系統・Yamagata 系統の real-time RT-PCR 法を用いた識別検出法の構築. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月
- 国外会議
- 1) Atsushi Kaida, Hideyuki Kubo, Nobuhiro Iritani, Koh-ichi Takakura, Jun-ichiro Sekiguchi, Minoru Ohyama, Urara Kohdera, Masao Togawa, Kiyoko Amo, Masashi Shiomi, Seiji P Yamamoto, Kaoru Goto, Atsushi Hase, Tsutomu Kageyama. High Proportion of Multiple Infections with Respiratory Viruses in Young Children with Acute Respiratory Tract Infections. European Congress of Virology 2013. Lyon. September. 2013
  - 2) Hitoshi Takahashi, Kazuo Ohnishi, Kengo Nishimura, Ikuyo Takayama, Mina Nakauchi 1, Shiho Nagata, Yasuko Tsunetsugu-Yokota, Masato Tashiro, Tsutomu Kageyama. Development of monoclonal antibodies specific for H5 HA and their application to rapid detection of influenza A/H5N1 virus. Options for the Control of Influenza VIII, Cape Town, 5-10 September 2013.
- G. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得  
該当なし
  2. 実用新案登録  
該当なし
  3. その他  
該当なし

# インフルエンザウイルス核酸検出検査(リアルタイム RT-PCR 法)

## 第 1 回全国地衛研外部精度管理(EQA)実施要項

### EQA の実施について :

平成 25 年 6 月 7 日に「新型インフルエンザ等対策政府行動計画」が政府より示され、新型インフルエンザ等が発生した際は、地方衛生研究所を設置する地方公共団体で PCR 検査等を実施する事が定められました。有事の際にも正しい検査結果を得るためには、日頃から検査の精度を管理・維持する事が重要と考えられます。

平成 23、24 年度には、本 EQA に先駆けて 11 か所のコアおよびサポート地方衛生研究所を対象とし、「リアルタイム RT-PCR 法を用いたインフルエンザウイルスの核酸検出検査」について EQA を実施しました (厚生労働科学研究費補助金「地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究」主任研究者 小田切孝人)。この EQA で問題点が明らかになったケースでは、トラブルシューティングを行って問題点を改善する事により検査精度の向上を図る事ができました。

WHO でも各国・地域の National Influenza Center (NIC)に対して EQA を行っていますが(参考資料 ; <http://www.who.int/entity/wer/2013/wer8804.pdf>)、各 NIC により検出方法が異なっているため、型・亜型同定の同定精度および検出感度の把握を主眼とする EQA のみが実施されています (未知の検体 10 サンプルについて型・亜型の同定を行う)。しかしこの EQA では、型・亜型検出結果の正誤を確認するだけで、問題があった場合の詳しい原因究明までは行われないため、トラブルシューティングを行って検査精度の向上を図る事は難しいと考えられます。

一方、国立感染症研究所が示した H5 および H7 亜型検査診断マニュアルに記載のプライマー配列およびプローブ配列、試薬、反応条件は、国立感染症研究所にて一定の検出感度・特異性については担保しています。全国に配布した共通の陽性コントロールに対して定量的検査を伴う EQA を実施する事により、診断系に問題があった際は、検出装置、試薬(プライマー・プローブを含む)、手技等のどこに問題があるのか、原因追究が比較的容易に行えると考えています。

本 EQA では、定量的検査を伴った H5 および H7 亜型検査診断検査を実施していただき、高病原性鳥インフルエンザ(A/H5N1)および鳥インフルエンザ(A/H7N9)診断検査の実施体制整備の確認と各診断検査の検査精度の向上が目的となります。「3\_結果記入ファイル(Excel ファイル)」内の「試薬調製手順記入欄」および「5\_アンケート(Excel ファイル)」は、EQA で問題が生じた際に、原因究明を行うための参考に利用します。回答については、一部保留していただいても差し支えありませんが、EQA の結果に問題が生じた際は、あらためて未記入カ所へのご回答をお願いする場合や、新たに質問させていただく場合があります。回答欄は大半が選択式となっておりますので、できるだけ全ての項目にご回答にいただきますようご協力をお願いいたします。また、それぞれのファイルへの「入力例」を作成しました。各ファイルへの入力の前に「入力例」をご一読くださいますようお願いいたします。

本 EQA は平成 25 年度 厚生労働科学研究費補助金「地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と技術開発に関する研究」(主任研究者 小田切孝人)により行います。

## EQA の実施要項：

### 1. 実施スケジュール

- ・測定期間： 実施要項到着日ー平成 25 年 10 月 31 日
- ・結果報告およびアンケートの締切：平成 25 年 10 月 31 日
- ・集計報告： 平成 25 年 12 月頃より順次

### 2. 配布書類：

- ・1\_実施要項(本紙) (Word ファイル)
- ・2\_鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出マニュアル(第 2 版) (PDF ファイル)
- ・3\_結果記入ファイル(Excel ファイル)：「入力例」は同ファイル内の別シートに記載
- ・4\_アンケート入力例(PDF ファイル)
- ・5\_アンケート(Excel ファイル)

### 3. パネル検体

EQA で使用するパネルは以下に示す通りです。

- ① TypeA/H7 (マーカー入) 陽性コントロール RNA：(以降 H7PC と記します)  
平成 25 年 7 月に感染研より配布済み
- ② TypeA/H5 (マーカー入) 陽性コントロール RNA：(以降 H5PC と記します)  
平成 24 年 9 月、感染研より高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)同定技術研究会にて配布済み
- ③ 各所で使用している陰性対象 (滅菌蒸留水等)

### 4. 測定方法

1) 各所で保管してある H7PC および H5PC を、配布済みの各ウイルス検出マニュアル内の「陽性コントロールの管理・使用について」に従って、それぞれ  $10^{-1}$ ～ $10^{-4}$  希釈までの 10 倍段階希釈液を作製して下さい。

2) 作製した 10 倍段階希釈液および陰性対象(各所でお使いのもの)について、H7PC に対しては TypeA と H7、H5PC に対しては Type A と H5 のリアルタイム RT-PCR 法にて、各サンプルの Ct (Cp)の測定を行って下さい。

\*本実施要項と同時に、6 月 21 日に配布した「2\_鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出マニュアル(第 2 版)」を再配布いたします。H5 ウイルス検出法については、感染研ホームページに掲載されている「高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル(第 3 版)」を参照下さい([http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/avian\\_influenza\\_2003.pdf](http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/avian_influenza_2003.pdf))。

### 5. 結果入力

1) 「3\_結果記入ファイル(Excel ファイル)」の「結果記入欄\_入力例」シートおよび「試薬調製手順記入欄\_入力例」をご一読下さい。

2) 測定した Ct (Cp) 値は小数第 1 位まで算出し、「3\_結果記入ファイル(Excel ファイル)」の「結果記入欄」シートへ、Ct (Cp) 値および検査時のレイアウト (各希釈系列・陰性対象の位置とプライマー・プローブの型・亜型を入力)を、「結果記入欄\_入力例」シートを参考

にして入力して下さい。

3) 検査を行った際の試薬調製手順(反応試薬の調製、陽性コントロールの希釈等)の詳細を、「3\_結果記入ファイル(Excel ファイル)」の「試薬調製手順記入欄」シートへ、「試薬調製手順記入欄\_入力例」を参考にして入力して下さい。

4) 入力後の「3\_結果記入ファイル(Excel ファイル)」のファイル名を「結果入力 2013\_地衛研名」に変更して下さい

(備考) 機器を複数台所有している場合、全ての機器を対象にする必要は必ずしもありませんが、複数台で同時に検査を行う場合でかつ希釈した陽性コントロールが同じ場合は、「結果記入欄」シートの特記事項にその旨を明記したうえで、「結果記入欄」シートおよび「試薬調製手順記入欄」シートをコピーして、それぞれの結果および試薬調製手順を入力して下さい。また、2回以上の検査を行いかつ希釈した陽性コントロールの作製日時が異なる場合は、「3\_結果記入ファイル(Excel ファイル)」をコピーして陽性コントロールの作製日時ごとに結果および試薬調製手順をそれぞれ別の「3\_結果記入ファイル(Excel ファイル)」に記入して下さい。この場合、ファイル名を変更する際に、通し番号を付けて下さい。(例：「結果入力 2013\_国立感染症研究所 1」「結果入力 2013\_国立感染症研究所 2」)

#### 6. アンケートへの回答

各地衛研で行っている検査方法や使用しているキット等、陽性コントロールの希釈に使用した試薬および器具について「5\_アンケート(Excel ファイル)」がありますので添付の「4\_アンケート入力例(PDF ファイル)」をご一読の後、入力例を参考にして「アンケート入力欄」シートへご回答下さい。

アンケート入力後の「5\_アンケート(Excel ファイル)」のファイル名は「アンケート 2013\_地衛研名」に変更して下さい。(例：「アンケート 2013\_国立感染症研究所」)。

#### 7. 上記 5、6 で作成したファイルを電子メールに添付して、下記へお送り下さい。

なお、電子メールの「件名」には「EQA2013 結果\_地衛研名」をご記入下さい。

**E-mail : eqa\_influenza@nih.go.jp**

ご質問等は下記へお問い合わせ下さい。

国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター 第2室

**E-mail : eqa\_influenza@nih.go.jp**

電話 : 042-561-0771 (代表)

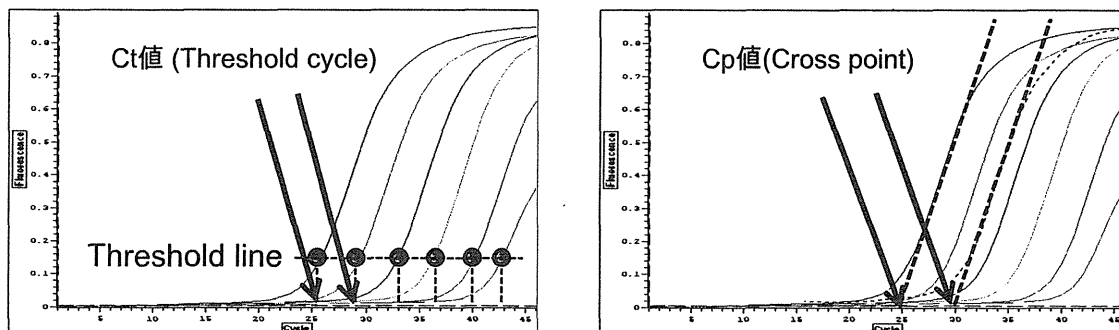
(042-848-7166 直通)

担当 : 影山/高山/中内

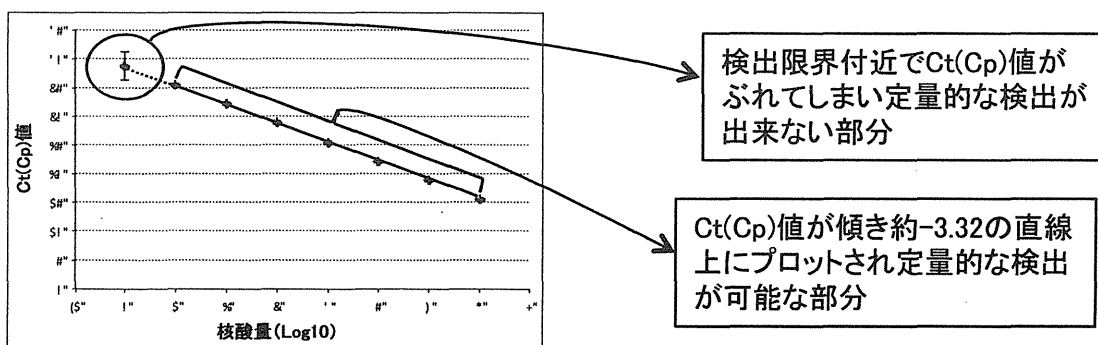
## 結果の解釈について

### 1. 定量的リアルタイム RT-PCR について

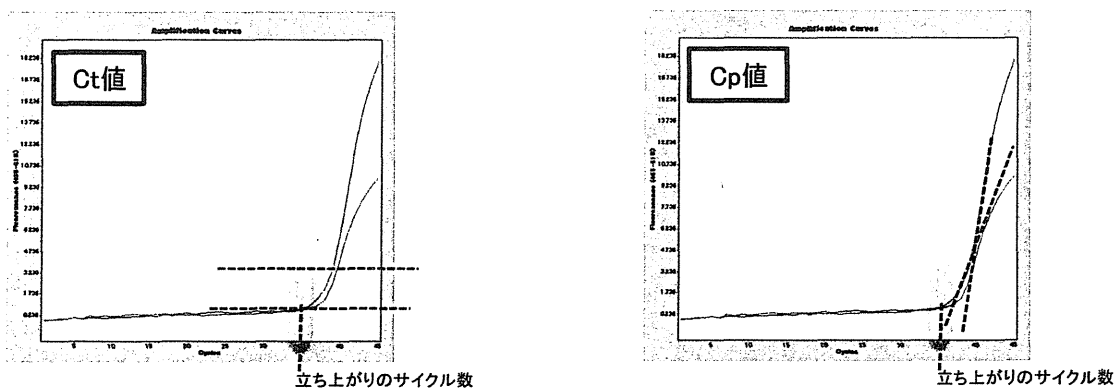
#### 1-1. 原理



Ct 値は Threshold line とシグナルとの交点の Cycle 数 (上左図)、Cp 値は指数増幅期の回帰曲線と横軸 (ベースライン) との交点の Cycle 数 (上右図) を表します。本 EQA で行った TypeA, HA(H5, および H7)検出系は、試薬、プライマー、プローブに問題が無い場合、増幅シグナルはシグモイドカーブを描き、核酸量(Log10)と Ct(Cp)値の間には相関性が見られ、PCR 増幅効率が 100%の場合には理論上傾き約-3.32の直線上にプロットされます (下図)。



#### 1-2. 各検出系間の Ct 値(Cp 値)の乖離について



全ての検出系は、検出系の種類が異なっても、ターゲット核酸のコピー数が同じ場合、シグナルの立ち上がりのサイクル数がほぼ同じになるよう構築しています。上左図のように、Threshold line を青線のところに引くと2つの検出系間の Ct 値は乖離しませんが、赤線のところに引くと少し乖離が見られます。また、上右図のように、Cp 値でも乖離が見られます。これは、検出系の種類によって、シグモイドカーブの形がそれぞれ

異なるためです。データの解析時に必ずシグナルの立ち上がりのサイクル数とシグモイドカーブをご確認下さい。

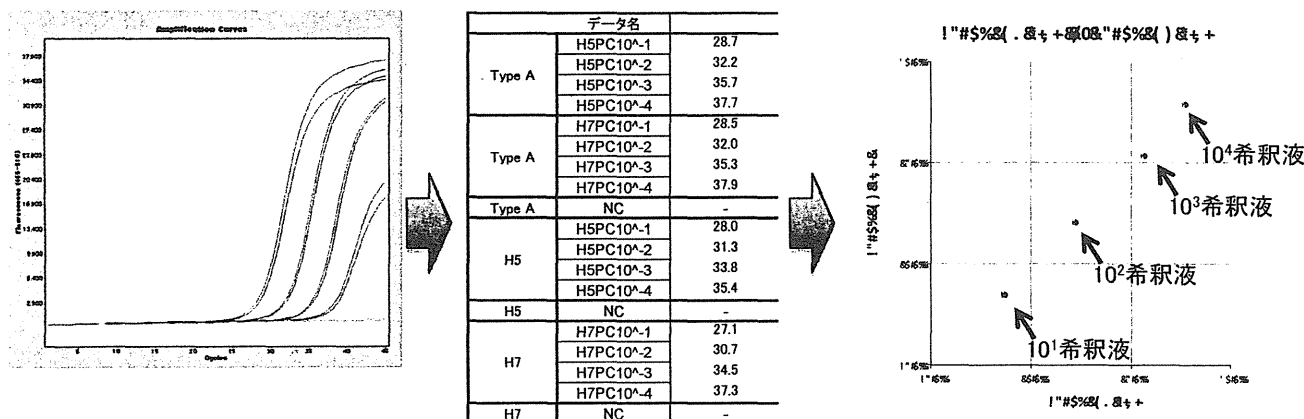
## 2. 結果の解析方法について

### 2-1. EQA で用いた陽性コントロールについて

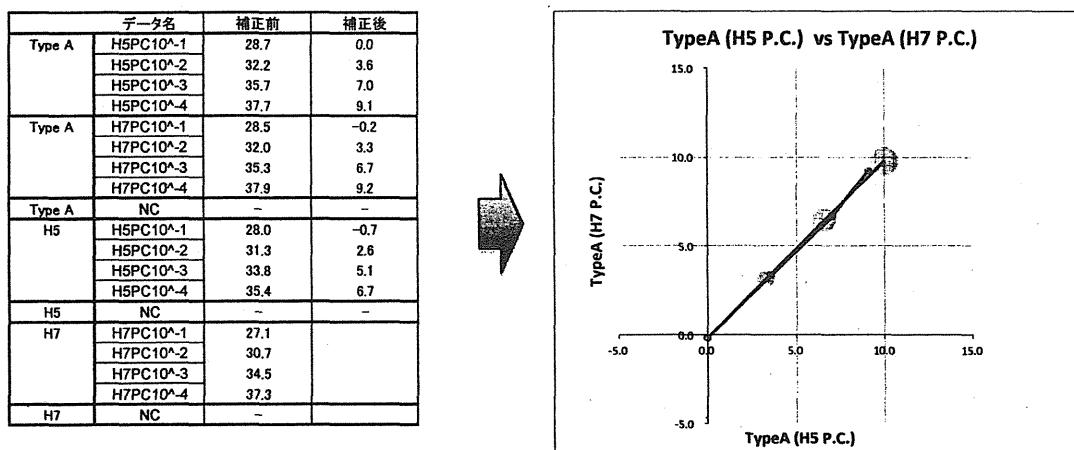
今回の EQA では、10 倍階段希釈した陽性コントロールをテンプレートとし、定量的リアルタイム RT-PCR 法を実施して、各検出系の Ct(Cp)値を比較することで精度の高い検査ができていますか解析を行いました。配布した各陽性コントロールに含まれる M 遺伝子 (TypeA 検出系のターゲット遺伝子) と HA 遺伝子のコピー数はほぼ同じで、検出系に問題がない場合、各陽性コントロールの  $10^1 \sim 10^3$  希釈液までは必ず定量的に検出できる濃度となっています。すなわち、陽性コントロールを 10 倍階段希釈していくと、 $10^1 \sim 10^3$  希釈液までは、PCR 増幅効率が 100% の場合は、理論上約 3.32 ずつ Ct(Cp)値が増加しますが、 $10^4$  希釈液は検出限界付近の核酸量のため、検出できない、あるいは検出できたとしても、検査ごとに Ct(Cp)値が変動する可能性があります。

### 2-2. TypeA 検出系の 2 種類の陽性コントロール間での比較

TypeA 検出系を評価するために、2 種類の陽性コントロール間の TypeA 検出系の Ct(Cp)値を相対的に比較しました。H5 陽性コントロールと H7 陽性コントロールに含まれる M 遺伝子のコピー数はほぼ同じなので、各希釈液の Ct(Cp)値は、理論上どちらもほぼ同じ値となります (下図)。



今回の解析では、H5 陽性コントロールの  $10^1$  希釈液の Ct(Cp)値を「0」に換算し、各 Ct(Cp)値をプロットしたグラフを作成しました (下図)。



TypeA 検出系に問題がなければ、H5 陽性コントロールと H7 陽性コントロールに含まれる M 遺伝子のコピー

一数はほぼ同じなので、2種類の陽性コントロールの  $10^3$  希釈液までの Ct(Cp)値の間に乖離はなく、H5 陽性コントロールの  $10^1$  希釈液の Ct(Cp)値を起点とした 45 度の対角線（グレーの直線）上に、PCR 増幅効率が 100%の場合には理論上約 3.32 の間隔でプロット（グレーの円の中心点）されます。また、理論上 PCR 増幅効率が 90%以上の場合は検査の精度に問題がないと考えられ、その Ct(Cp)値の範囲をグレーの円で示しました。 $10^4$  希釈液は検出限界付近の核酸量となり定量的な検出ができないため、示したグレーの円から外れる場合もあります。

### 2-3. TypeA 検出系の 2 種類の陽性コントロール間での比較から分かる問題点

各陽性コントロールに含まれる M 遺伝子のコピー数はほぼ同じなので、理論上赤の破線で示した原点を起点とした対角線上にプロットされます。

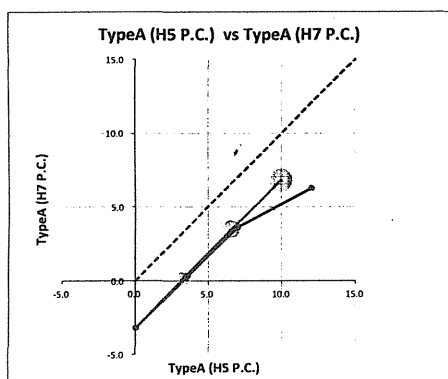


図 1  $10^1$  希釈液の結果が原点にプロットされない

左図の場合、すべての希釈液で、TypeA (H5 P.C.)の Ct(Cp)値が TypeA (H7 P.C.)の Ct(Cp)値よりも大きく、赤の破線より下にプロットされています。これは、H7 陽性コントロールと比べ H5 陽性コントロールに問題があるためと考えられ、H5 陽性コントロールが凍結融解の繰り返しにより劣化した、保管中に劣化した、マスターストック作製時に指定の濃度になっていなかったなどの可能性があります。

逆に、すべての希釈液で、TypeA (H7 P.C.)の Ct(Cp)値が TypeA (H5 P.C.)の Ct(Cp)値よりも大きく、赤の破線より上にプロットされた場合は、H7 陽性コントロールに問題があると考えられます。

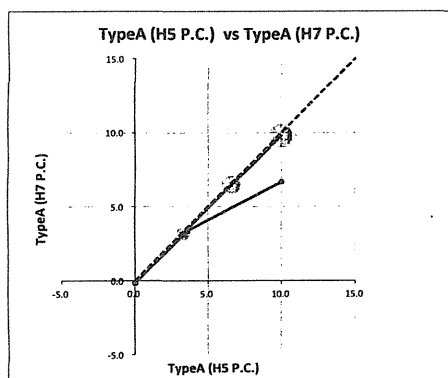


図 2  $10^2$  から  $10^3$  希釈液の結果が、グレーの直線上にプロットされない（例で示した図は  $10^3$  希釈液のみずれた場合です）

左図の場合、 $10^2$  希釈液まではグレーの直線上に 3.32 の間隔でプロットされていますが、 $10^3$  希釈液以降、グレーの直線上にプロットされなくなっています。これは、両方の陽性コントロールが、凍結融解の繰り返しにより劣化した、保管中に劣化した、マスターストック作製時に指定の濃度になっていなかったなどの可能性があります。また、TypeA 検出系において、プライマー、プローブの劣化により検出感度の低下が見られた可能性も考えられます。

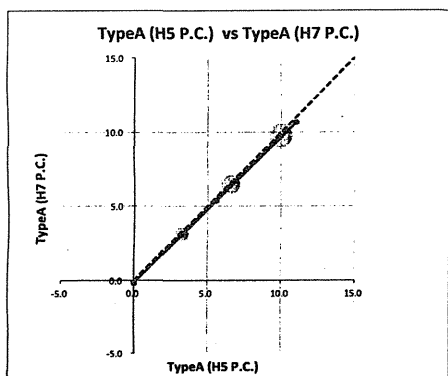


図 3  $10^2$  から  $10^3$  希釈液の結果が、グレーの円から大きく外れている

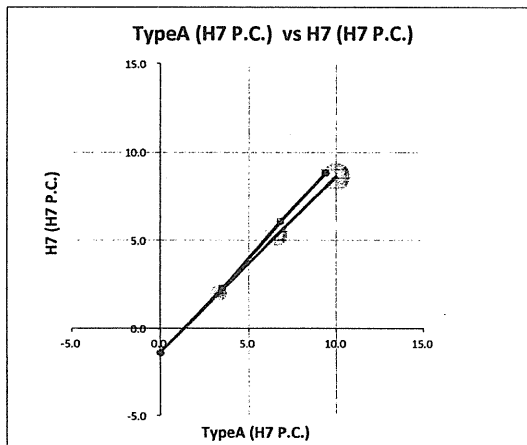
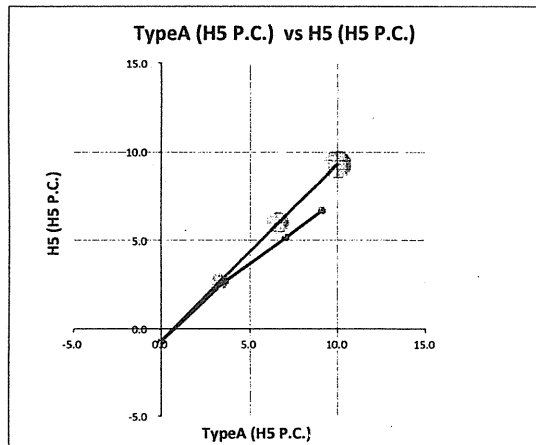
左図の場合、各希釈液の Ct(Cp)値はグレーの直線上にプロットされていますが、3.32 より大きな間隔でプロットされています。これは、反応試薬中のプライマー、プローブの濃度調整が正しくなかった、あるいはプライマー、プローブの劣化により TypeA 検出系において定量的な測定ができなくなってしまった可能性があります。



## 2-4. 各陽性コントロールにおける TypeA 検出系と各 HA 検出系の比較

TypeA と H5 検出系を評価するために、H5 陽性コントロールの TypeA 検出系と H5 検出系の Ct(Cp)値を相対的に比較しました。今回の解析では、TypeA 検出系の  $10^1$  希釈液の Ct(Cp)値を「0」に換算し、各 Ct(Cp)値をプロットしたグラフを作成しました（下図左）。H5 陽性コントロールに含まれる M 遺伝子と HA 遺伝子のコピー数はほぼ同じなので、各希釈液の Ct(Cp)値は、理論上どちらもほぼ同じ値となります。

TypeA と H7 検出系の評価についても、上記と同様に H7 陽性コントロールの TypeA 検出系と H7 検出系の Ct(Cp)値を相対的に比較するため、TypeA 検出系の  $10^1$  希釈液の Ct(Cp)値を「0」に換算し、各 Ct(Cp)値をプロットしたグラフを作成しました（下図右）。



TypeA および HA 検出系に問題がなければ、各陽性コントロールに含まれる M および HA 遺伝子のコピー数はほぼ同じなので、各陽性コントロールの  $10^3$  希釈液までの Ct(Cp)値の間に乖離はなく、H5 もしくは H7 陽性コントロールの  $10^1$  希釈液の Ct(Cp)値を起点とした 45 度の対角線（グレーの直線）上に、PCR 増幅効率が 100% の場合は理論上約 3.32 の間隔でプロット（グレーの円の中心点）されます。また、理論上 PCR 増幅効率が 90% 以上の場合は検査の精度に問題がないと考えられ、その Ct(Cp)値の範囲をグレーの円で示しました。 $10^4$  希釈液は検出限界付近の核酸量となり定量的な検出ができないため、示したグレーの円から外れる場合もあります。

## 2-5. 各陽性コントロールにおける TypeA 検出系と各 HA 検出系の比較から分かる問題点

各陽性コントロールに含まれる M および HA 遺伝子のコピー数はほぼ同じなので、理論上赤の破線で示した原点を起点とした対角線上にプロットされます。

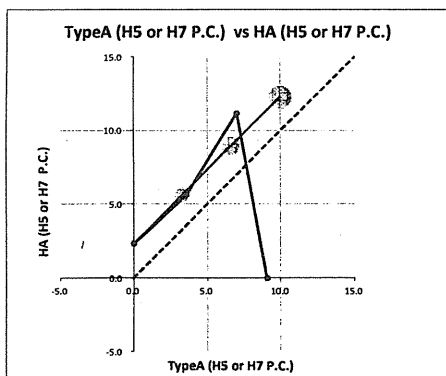


図 4  $10^1$  希釈液の結果が原点にプロットされない

左図の場合、すべての希釈液で、HA 検出系の Ct(Cp)値が TypeA 検出系の Ct(Cp)値よりも大きく、赤の破線より上にプロットされています。これは、HA 検出系に問題があるためと考えられ、HA 検出系において、プライマー、プローブが凍結融解の繰り返しにより劣化した、保管中に劣化した、ストック作製時に濃度調整が正しくなかったなどの可能性があります。

逆に、TypeA 検出系の Ct(Cp)値が HA 検出系の Ct(Cp)値よりも大きくなり、赤の破線より下にプロットされた場合は、TypeA 検出系に同様

の原因あると考えられます。

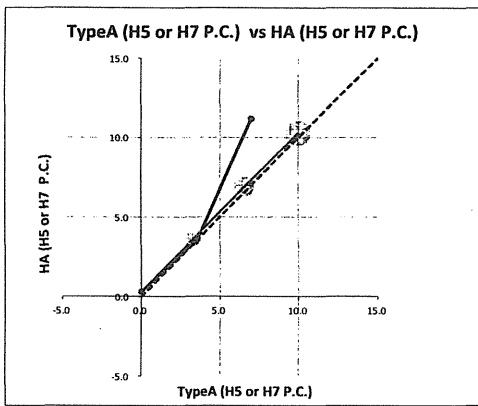


図5 10<sup>3</sup>希釈液の結果が、グレーの直線上にプロットされない

左図の場合、10<sup>2</sup>希釈液まではグレーの直線上に3.32の間隔でプロットされていますが、10<sup>3</sup>希釈液以降、グレーの直線上にプロットされていません。これは、陽性コントロールが、凍結融解の繰り返しにより劣化した、保管中に劣化した、マスターストック作製時に指定の濃度になっていなかったなどの可能性があります。また、一方の検出系において、プライマー、プローブの劣化により検出感度の低下が見られた可能性も考えられます。

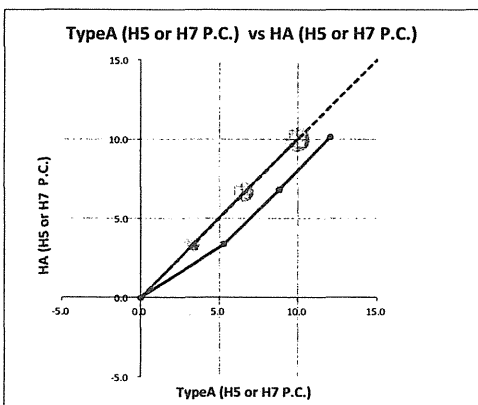


図6 10<sup>1</sup>から10<sup>3</sup>希釈液の結果が、グレーの直線と平行にプロットされない

左図の場合、TypeA 検出系において、Ct(Cp)値の間隔が3.32より大きくなっています。反応試薬中のプライマー、プローブの濃度調整が正しくなかった、あるいはプライマー、プローブの劣化により、TypeA 検出系において正確な測定ができなくなってしまった可能性があります。逆に、HA 検出系において、Ct(Cp)値の間隔が3.32より大きくなっている場合は、HA 検出系において同様の理由から定量的な測定ができなくなってしまった可能性があります。

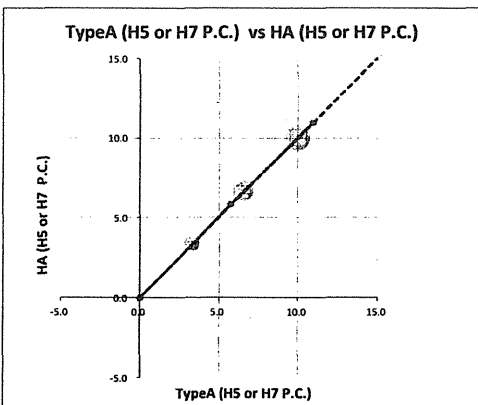
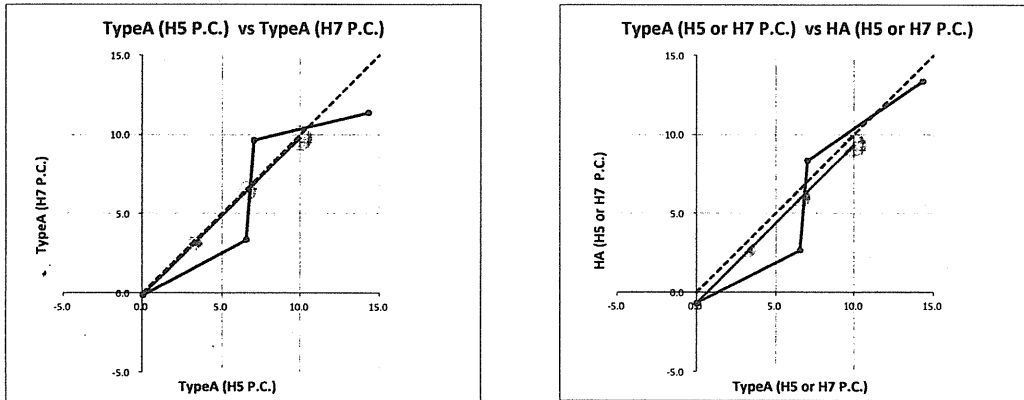


図7 10<sup>2</sup>から10<sup>3</sup>希釈液の結果が、グレーの円から大きく外れている

左図の場合、両検出系において各希釈液のCt(Cp)値はグレーの直線上にプロットされていますが、3.32より大きな間隔でプロットされています。これは、両方の検出系において、反応試薬中のプライマー、プローブの濃度調整が正しくなかった、あるいはプライマー、プローブの劣化により定量的な測定ができなくなってしまった可能性があります。

## 2-6. 陽性コントロールの希釈系列が正確に作製できていない

図8(下図左)、9(下図右)の場合、各希釈液の Ct(Cp)値の差が等間隔ではなく、対角線から大きくはずれてプロットされています。正確に希釈系列が作製できていない可能性があり、この場合は、今回の EQA では正確な評価が難しくなります。また、一方の陽性コントロールの 10 倍階段希釈が正確でない場合は、前述の図5のようにプロットされ、両方の陽性コントロールの 10 倍階段希釈が正確でない場合は、前述の図3のようにプロットされることもあります。



今回の EQA の評価は、今回送付した「解析結果 2013\_地衛研名(Excel ファイル)」の「解析結果」シート中の解析図とアンケート結果から総合的に行いました。「解説」シート中の<解析結果へのコメント>および<その他コメント欄>をご参照下さい。

この「結果の解釈について(PDF ファイル)」と「アンケート、結果記入ファイルからの集計(PDF ファイル)」も参考に、問題があった場合にはトラブルシューティングを行って頂きますようお願い致します。

アンケートおよび結果記入ファイルからの集計

今回の EQA に参加された 74 地衛研からのアンケートおよび結果記入ファイルの項目を集計し、いくつかの結果を下記にまとめました。

1. 陽性コントロールの保管について

1-1. TypeA/H7(マーカー入)の保管について

図1 TypeA/H7(マーカー入)の保管温度

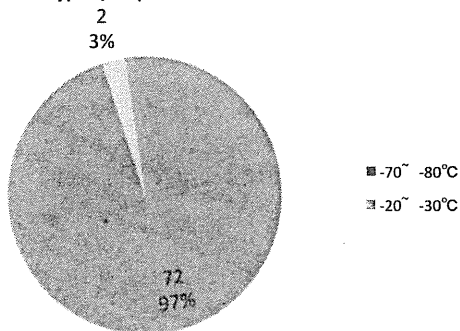
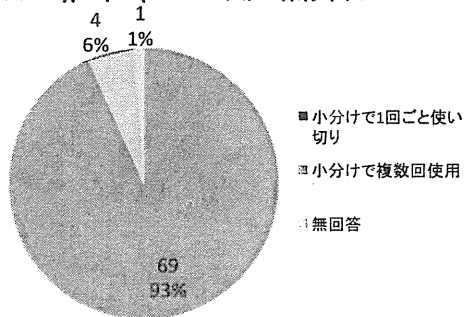


図2 TypeA/H7(マーカー入)の保存単位



1-2. TypeA/H5(マーカー入)の保管について

図3 TypeA/H5(マーカー入)の保管温度

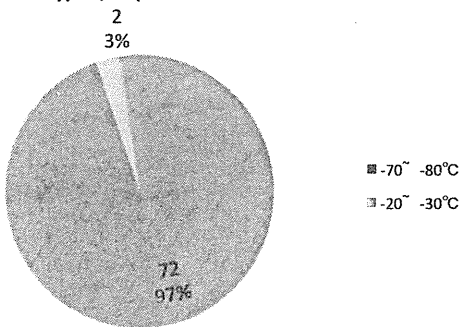
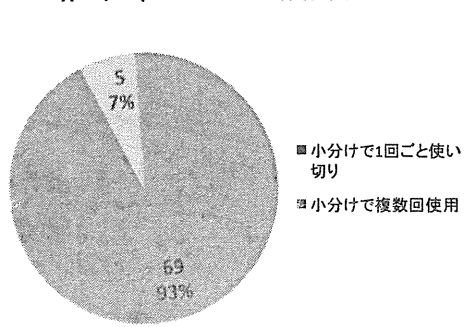


図4 TypeA/H5(マーカー入)の保存単位



<コメント>

-20~-30°Cで保管をされている場合は、冷凍庫に自動霜取り機能のないもの（メディカルフリーザー等）を使用されているか、ご確認ください。

また、小分けで複数回使用されている場合、凍結融解により劣化につながる可能性があります。