

- ・シモンズクエン酸ナトリウム培地：使用説明書に従って作製する。
 - ・VP 半流動培地：使用説明書に従って作製する。
 - ・インドール試薬
 - ・VP 用試薬 A：6%アルファナフトール+エタノール溶液
 - ・VP 用試薬 B：0.3%クレアチン加 40%水酸化カリウム水溶液
 - ・チトクロームオキシダーゼ試験用ろ紙
- ④ 血清型確認用血清
- ・サルモネラ免疫血清セット（デンカ生研）など

4. 検査手順

1) 選択増菌培養（実施する場合）

- ① 送付試料をそれぞれの選択増菌培地に接種する。
- ② それぞれの選択増菌培地を $42 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、 22 ± 2 時間培養する。

2) 分離用寒天培地培養

- ① 培養後の選択増菌培地をよく攪拌する（実施した場合）。
- ② 1 エーズ量を、上記 3-②で示した分離用寒天培地に画線塗抹する。
- ③ 接種した寒天培地を $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 22 ± 2 時間培養する。

3) 確認培養

- ① 各分離平板に形成された定型的集落を 3 個以上釣菌し、TSI 培地、LIM 培地等に接種する。
- ② それぞれの培地を $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 22 ± 2 時間培養する。
- ③ 培養後、以下の結果が得られた場合サルモネラと推定する。

TSI 培地：高層部黄変（硫化水素産生の場合は黒変）、斜面部赤変、
ガス産生（高層部における気泡または亀裂の発生）

LIM 培地：培地全体が紫変（リシン陽性）、インドール反応陰性、運動性陽性

- ④ TSI 培地、LIM 培地において、上記のような定型的な性状とは一部異なる性状を示す非定型的サルモネラ属菌が疑われる場合は、以下の 4) に示す生化学性状試験を実施する。

4) 生化学的性状試験

- ① 上記の非定型的サルモネラが疑われる場合は、以下の（ア）～（ウ）に示した生化学的性状検査を実施する。

（ア）オキシダーゼ試験：チトクロームオキシダーゼ試験用ろ紙に菌を塗布し、1 分以内に深青色になれば陽性とする。

（イ）クエン酸：シモンズクエン酸ナトリウム培地に菌を塗抹後、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 22 ± 2 時間培養する。培地が深青色になれば陽性とする。

（ウ）VP：VP 半流動培地に菌を穿刺し、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 22 ± 2 時間培養後、VP 用試薬 A および B を滴下する。陽性の場合には数分後に試薬付近が赤色となる。1 時間経過後も赤色のままであることを確認する。

5) 血清型別

- ① サルモネラ属菌の性状を示した菌株については、サルモネラ免疫血清（デンカ生研）を用いたスライド凝集法による O 血清型別試験を行う。この際、菌塊については TSI 斜面上から採

取して実施する。

(ア) O 多価血清および O1 多価血清を用いて凝集試験を行い、凝集が確認されたら O 群単身血清を用いて当該菌の O 群を決定する。

(イ) サルモネラ属菌としての定型的な生化学性状を示したにかかわらず、いずれの血清にも凝集が見られないときは O 群型別不能とする。

6) 記載内容

① サルモネラ陽性が推定された場合は、O 群または O 群型別不能について記載する。その後 H 血清型別 (1 相→相誘導→2 相) を実施する。相誘導は、クレーギー管法や濾紙法などで実施する。

② H 血清型別により 1 相および 2 相が決定したら、*Salmonella* 抗原構造表 (Kauffmann-White Schema) に基づいて血清型を決定する。

③ 非定型的サルモネラが認められた時も同様に O 群型別までは実施するとともに、どの生化学的性状が異なっていたかも注意する。

「地衛研精度管理研究班」による平成 26 年度外部精度管理細菌検査結果報告書

平成 年 月 日

機関名

代表者氏名

検査責任者氏名

検査担当者氏名

住所 〒

TEL 番号

FAX 番号

連絡先 E mail

「地衛研精度管理研究班」による平成 26 年度外部精度管理細菌検査結果について、以下のとおり報告します。

検査実施日	該当する結果を○で囲んでください			
	サルモネラ属 菌の判定結果	試料 1	陽性	・ 陰性
		試料 2	陽性	・ 陰性

サルモネラ属菌陽性の場合の血清型：

試料 No. _____ 血清型 _____

サルモネラ検査

検体No.:

実施年月日	検査担当者	確認欄		
_____	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	送付容器および試料に異常が無いか確認	時間:
			↓	
_____	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	寒天培地()に画線塗抹	時間:
			寒天培地()に画線塗抹	時間:
			↓	
_____	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	典型的もしくは疑わしい集落を地	hrs培養 孵卵器:
			()に移植	温度:
				培養開始時刻:
				温度:
				培養終了時刻:
				温度:
			↓	
_____	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	培地、 培地の生化学性状判定	時間:
			↓	
_____	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	(同定キット等の実施)	hrs培養 孵卵器:
				温度:
				培養開始時刻:
				温度:
				培養終了時刻:
				温度:
			↓	
_____	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	判定	時間:

区分責任者		確認年月日	
-------	--	-------	--

血清型別(O抗原)

時間:



血清型別(H抗原:1相)

時間:



H相誘導



培養開始時刻:

温度:

培養終了時刻:

温度:

hrs培養 孵卵器:

血清型別(H抗原:2相)

時間:

その他の検査

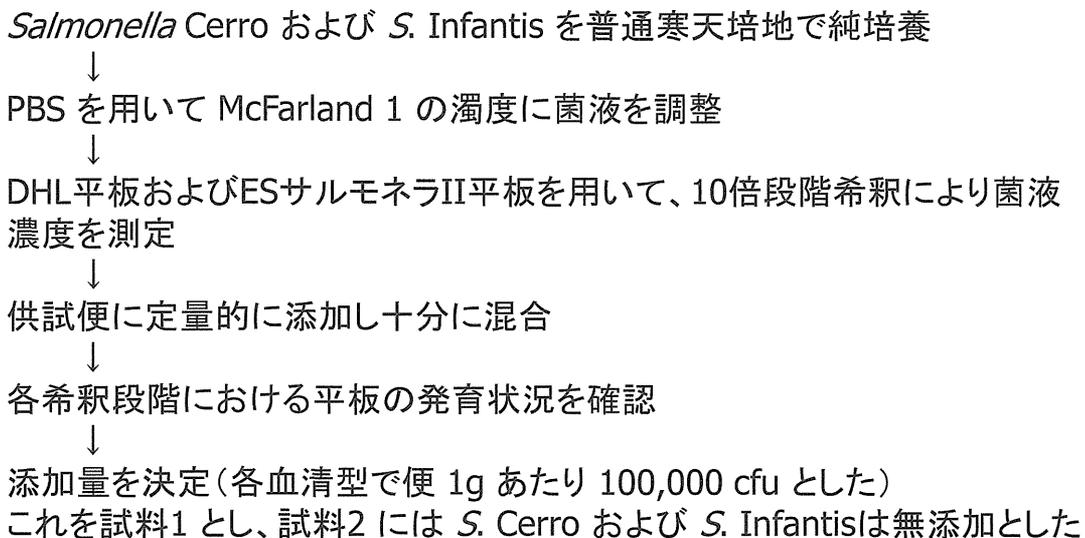
区分責任者		確認年月日	
-------	--	-------	--

検体管理記録簿

	検体番号					
	受付年月日					
	検査項目					
受領時の記録	検体受領年月日					
	検体の状態と検査目的の整合性	適／不適	適／不適	適／不適	適／不適	適／不適
	検体の状態	冷蔵・冷凍・常温	冷蔵・冷凍・常温	冷蔵・冷凍・常温	冷蔵・冷凍・常温	冷蔵・冷凍・常温
	検体の外観	適／不適	適／不適	適／不適	適／不適	適／不適
	受領者署名					
検体管理の記録	検査終了日					
	検査結果発行日					
	検体廃棄年月日					
	廃棄担当者署名					
	検査区分責任者 確認年月日署名					

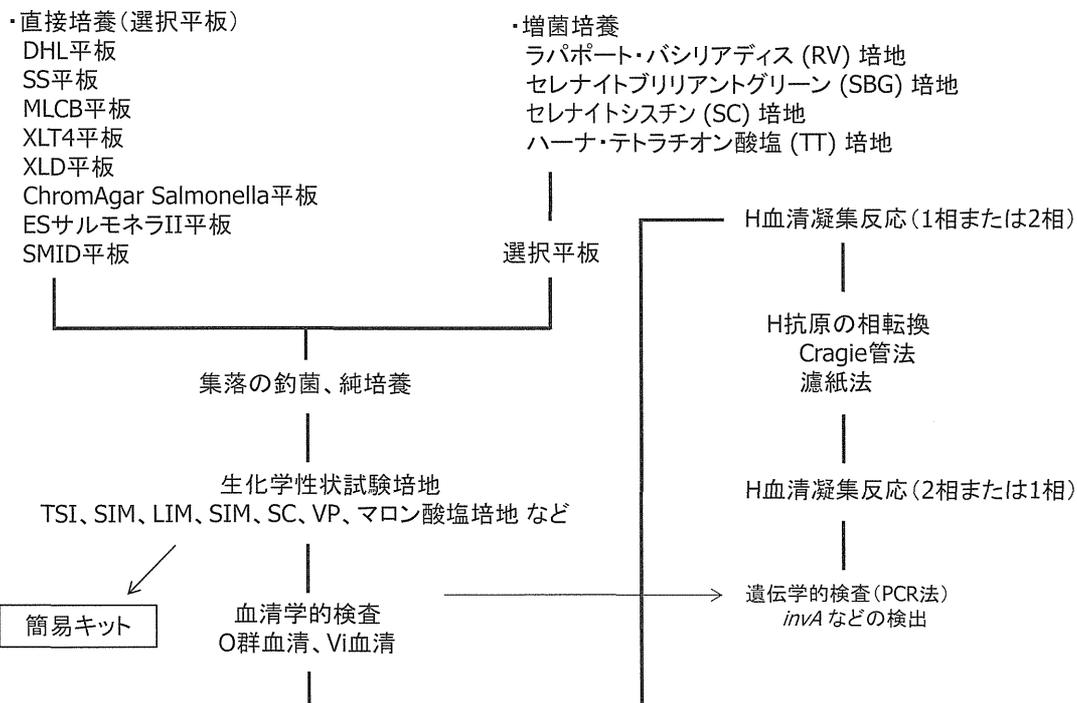
別添3

送付試料(サルモネラ属菌)の調整方法



別添7

試料からのサルモネラ属菌分離培養検査フロー



4. 地方衛生研究所への細菌検査に関する継続的外部精度管理導入に向けての試行と課題

研究分担者	大石和徳	国立感染症研究所
研究協力者	清水俊一	北海道立衛生研究所
	太田 嘉	横浜市衛生研究所
	磯部順子 佐多徹太郎	富山県衛生研究所
	勢戸和子	大阪府立公衆衛生研究所
	調 恒明	山口県環境保健センター
	世良暢之	福岡県保健環境研究所
	石岡大成、蒲池一成	国立感染症研究所

研究要旨 地方自治体の公的検査機関である地方衛生研究所に、細菌性感染症に関する外部精度管理を導入することを目的として種々の検討を行った。初年度の平成26年度については、まずは検討委員会として細菌検査に関する細菌小班を立ち上げ、今後の方針について検討を行った。その結果、平成26年度は、検査対象菌をサルモネラ属菌とすることにし、菌株の入手、試料の調整、臨床検体との混合、送付用一次容器の選択および試料の発送を国立感染症研究所村山庁舎で実施することとした。また、今年度の外部精度管理実施対象地方衛生研究所を、原則本研究班を構成する11機関として実施した。外部精度管理の結果は、すべての機関でサルモネラ属菌定性には問題なかったが、血清型については一部の機関で回答に不足が認められた。また、国立感染症研究所村山庁舎で準備、作製した検査試料を送付する工程で多くの課題が認められ、外部精度管理を今後継続して実施するためには、本年度の実施状況を踏まえて再考が必要であり、かつ、全国一斉に精度管理を実施するためには、第三者機関への委託も検討しなければならないことが示唆された。

A. 研究目的

感染症に関する病原体の実施体制や検査能力の向上に関することおよび調査、研究に関することは、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（以下、感染症法）に基づいて実施されている。地方自治体では主として地方衛生研究所（以下、地衛研）がその役目を担っているが、団塊世代の大量退職および人員削減などの影響で、日々の研究・検査業務の対

応に苦慮しているのが実情である。さらには、今般の感染症法の改正に伴い、感染症法で規定されている100種を超える病原体検査への対応も求められており、今後ますます地衛研における検査技術精度の維持および技術向上への対応が求められている。そこで、地衛研においてこれら病原体の検査に関する問題に対応するためには、全国規模での検査技術水準の維持・向上を図る必要がある、そのためには地衛研および

国立感染症研究所（以下、感染研）が連携してこれらのことに対応する必要がある。

本分担研究では、地衛研に継続的な細菌検査に関する外部精度管理に導入するにあたり、問題点を定義して解決法について考察した。

B. 研究方法

1. 対象機関：細菌検査に係わる地衛研外部精度管理を実施する上で、候補とする機関を選定した。
2. 精度管理実施要領および手順書の検討：細菌小班でのディスカッションにより、平成 26 年度およびそれ以降に実施する外部精度管理対象病原細菌について検討した。
3. 精度管理実施時期の検討：本精度管理を実施する上で、適切な時期について検討した。
4. 候補病原菌および試料の調整：外部精度管理を実施する上で、どのような病原細菌が適切か、また、試料については、調整する場所や内容について検討した。
5. 送付用容器：臨床検体が便である場合、精度管理用試料を検査対象機関に送付する際の容器または培地について検討した。
6. 梱包作業および発送手段：感染研から地衛研へ病原体を含んだ試料を送付する場合の手段について検討した。
7. 外部精度管理実施後のアンケート：次回および継続的に精度管理を実施するために、外部精度管理実施後に、参加機関に対して意見や感想を求めた。

C. 結果

精度管理対象機関の選定

2014 年 4 月現在、地方衛生研究所全国協議会に加盟する地衛研は 79 機関であるが、本研究班または細菌小班において検討する事項が多いことから、初年度は本研究班内で希望する機関を対象に精度管理を実施することとした。

精度管理実施要領および精度管理実施手順書策定の方向性

細菌小班においてディスカッションを重ねた結果、精度管理の対象菌種をサルモネラ属菌とすることにした。この理由としては、サルモネラ属菌は、地衛研において食品検査の分野でも検査頻度の高い菌種であること、地衛研現有の培地や試薬等で検査が可能であること、さらには、サルモネラ属菌は環境条件が厳しい状況下でも死滅しづらい^{1, 2)}ことから、輸送上のメリットも得られることなどである。精度管理実施要領および精度管理実施手順書については、感染研が示している病原体検査マニュアルやその他の書籍³⁻⁶⁾を参考に策定した。これらは、標準的な実験室レベルで検査対応可能な範囲での手順書として作成した。また、別研究小班で実施しているアンケート調査で、感染症に関する細菌検査に関しては、SOP（標準作業手順書）などを整備している機関が多くなかったことから、精度管理実施手順書の補助的様式として、検査結果報告書、検査経過記録書、検体管理簿の作成についても検討した。しかしながら、実際の検査の方針としては、自施設においてルーチンで実施している方法を優先して実施してもらうこととした。

外部精度管理実施時期、候補菌株、試料調整機関の検討

細菌小班での協議の結果、本研究班は本年が初年度であることから試料の調整機関（実験室）は感染研村山庁舎感染症疫学センター細菌実験室とした。また、菌株についてはヒト由来株の場合、倫理審査の問題発生する可能性も考えられたので、上記実験室でストックしている鶏由来菌株を使用することとした。実施時期については、準備の都合上秋以降が考えられたが、感染研村山庁舎感染症疫学センターの業務の都合

上、11月後半から12月の実施となった。

送付用容器の検討

臨床の現場で採便する場合、種々の市販製品が用いられている。便をそのまま入れるタイプ、綿棒で採取した便を半流動培地に突き刺すタイプ、およびキャップの内部に付属した綿棒で採便して液体培地に溶かし込むタイプなどである。今回は定性試験であったが、将来的に定量試験を考慮した場合、液体培地に溶解する方が精度が確保できるのではないとの細菌小班で意見が出た。しかしながら、液体培地では、万一漏れた場合の後処理が大変であること使い慣れているという理由で、半流動タイプのシードスワブγ1号を選択した。

梱包作業および発送手段

細菌小班で検討した結果、感染研から地衛研に病原体を含む検体や試料を送付する場合は、ゆうパックを利用して送付することが妥当であるという結論になった。この方法は、通常地衛研から感染研に菌株等を送付している方法と同様に、国連容器およびオーバーパックとしてのジュラルミンケースを使用する方法である。パッキングが容易な専門業者を利用する方法も検討されたが、10倍弱のコストがかかることから今回は採用しなかった。

感染研村山庁舎からの地衛研に送付する場合、事前にバイオセーフティ管理室に届け出て発送の審査を受ける必要がある。全ての荷物について各々チェックしながら梱包するので、1つの荷物にならざるに時間を要する。今回は11機関に送付したが、時間の関係で発送日は平成16年12月5日が7機関、12月8日が4機関となった。

外部精度管理実施後のアンケート

参加11機関に対して、広く意見を求めるため

に、特に項目を設定せずアンケートを実施した(表1参照)。まず、今回の精度管理を実施するうえで選択した2種の血清型であるが、それらは *Salmonella Cerro* (以下、SC) および *S. Infantis* (以下、SI) であり、SIについては、サルモネラ属菌の鑑別指標となる硫化水素を産生しない株を使用した。この点について、現実はこの組み合わせでのアウトブレイク例がないのであれば、一般的な外部精度管理としての目的が曖昧となってしまったのではないかとの意見があった。また、SC株が単一クローンで無かったため、平板に発育した集落によって各機関でH抗原凝集パターンに違いが認められたことから、今回用いたSCは単一クローン株を配布すべきだったとの意見があった。さらには、頻繁に実施されているサルモネラ属菌の検査であっても、あまり遭遇しない血清型の場合は新たに試薬の購入が必要になるので、サルモネラ属菌以外にも検査可能かの事前確認が必要であること、そして、できれば研修を実施した後に精度管理を行うことが理想であるとの意見があった。今後の課題になるが、地衛研で検査実績の多い3類感染症の病原体についても実施検討が必要であるとの意見も認められた。このことは、検査法の手法を見直す機会になるので一般的な精度管理よりも良い機会となるとの意見にも関連するものと思われる。

一方、試料送付については、液体培地では万一の場合の対応に苦慮するため、シードスワブのような半流動培地の方が問題なくて良いとの意見が多く認められた。また、今回送付の際に一部の地衛研に非天地無用で送付されてしまったことから、送付件数が多い場合は細心の注意をもって梱包する必要性が認められた。

表 1 検査実施機関からの意見

- ・検査の手法を見直す機会となった
- ・定期的な外部精度管理は必要
- ・他機関の病原体検査法を知りたい
- ・検査機会の少ない菌種については精度管理に向かない
- ・施設によっては準備が必要となる(事前調査が必要)
- ・研修を実施してから精度管理を実施することが必要
- ・赤痢菌、コレラ菌など、3類感染症について、毒素の検出も含めて実施すべき
- ・再検査を行っても検証実験の様な結果が得られない
- ・陽性検体を混合する場合は別の菌種にするべき
- ・ブロック単位等で精度管理の研修が必要
- ・今回の精度管理は意味合いが曖昧である
- ・検体の送付はシードスワブで問題ない(液体培地でなくてよい)
- ・試料の送付に一部難があった
- ・地衛研に病原体を送付するのにラボフロア図、配置図は不要では
- ・一般的な外部精度管理ではなかった
- ・頻繁に起こりえる組み合わせにするべき

考察

感染症法の改正が行われることにより、地衛研は多くの病原体の検査に対応しなければならなくなった。そのため、病原体の公的検査機関である地衛研に外部精度管理を導入することは必要不可欠であると考えられる。今回細菌検査に関する地衛研外部精度管理の導入について検討および実施したところ、種々の解決しなければならない課題が認められた。

第一に検査対象菌種である。今回はサルモネラ属菌を検査対象としたが、この理由は食品検査も含めて検査頻度が高いという理由からであった。同様に、腸管出血性大腸菌、赤痢菌およびコレラ菌などの同定および毒素産生性の確認試験についても、検査頻度から考えると必要であると考えられる。一方、アンケート結果にもあったように、検査頻度の少ない菌種については経験不足から精度管理には不適切であるとの意見があり、これらの菌種の精度管理を実施する場合は、事前に研修会開催するべきとの意見も認められた。これらのことから、細菌検査に関する外部精度管理は、菌種によって臨機応変な対応が必要であることが示唆された。また、対象菌株の入手方法であるが、ATCC などの標準株を購入する方法だけでは十分とは言えない。これについては、地衛研および感染研とのネッ

トワークを利用して、外部精度管理委員会などの細菌部門が必要とする菌株の分与依頼および収集を行うことが必要であると思われる。

次に、試料の調整および発送についてであるが、通常これらの二つの作業を行う機関は同一であると考えられる。平成 26 年度現在、地方衛生研究所全国協議会に加盟している機関は 79 機関である。仮に、これらの機関すべてが外部精度管理への参加を希望し、同一期日に到着するように試料を作製および送付しなければならないとするならば、その作業量は膨大であることは想像にたやすい。今回は 11 機関のみへの発送であったため、感染研村山庁舎感染症疫学センターにストックしているジュラルミンケースでの対応が可能であったが、79 個となると対応は難しい。今回でさえ不測の事態により 2 便に分割発送となってしまった。したがって、上記作業を一箇所の機関で対応することは事実上不可能であると考えられる。感染性のある細菌をコストに考慮して送付するためには、国連容器およびジュラルミンケースを利用したゆうパックしか方法がないのが現状である。この課題については次年度への懸案事項となるが、方向性としては、ブロック別の実施、試料は一機関で作製して各ブロック長がブロック内の機関に送付する案などが考えられる。しかしながら、外部精度管理の観点および担当機関の業務負荷量を考慮すると、試料作製から配布までを外部の専門機関に委託することも視野に入れる必要があると考えられた。

今回のサルモネラ属菌に関する精度管理全体を通じての意見を求めたところ、SC が単一クローンでなかったことから、結果の過程に差異が生じたことの指摘があった。このようなことを避けるためにも、出所のはっきりした菌株を用いるべきであり、試料の調整および検証についても十分注意して行う必要がある。また、今回の 11 機関でさえ、増菌培地使用の有無、培養温

度の違いなど、サルモネラ属菌の検査法に少なからず差異が認められたことから、これらのことが結果にも影響を与えたことが示唆される。したがって、全機関を対象にサルモネラ属菌をはじめとして細菌感染症に関する検査法について調査する必要があると思われた。

D. 結論

地衛研外部精度管理を継続して実施するためには、地衛研と感染研が密に連絡を取り合って推進していくことが必要である。今回、地衛研の中でも研究班を構成する 11 機関のみ精度管理ではあったが、精度管理を今後全国展開していく上でいくつかの課題が見つかったことは重要なことである。そこで、これららの課題に対して少しずつ修正を重ねながら、種々の病原細菌の精度管理に対応していくことが必要であると考えられた。

参考文献

1. Foster JW, Spector MP. How Salmonella survive against the odds. *Annu Rev Microbiol.* 1995. 49:145-174.

2. Haysom IW, Sharp K. The survival and recovery of bacteria in vacuum cleaner dust. *J R Soc Promot Health.* 2003. 123(1):39-45.
3. 社団法人日本食品衛生協会. 厚生労働省監修. 食品衛生検査指針微生物編. 2004. p180-191
4. 小栗豊子(編). 臨床微生物検査ハンドブック 第4版. 三輪書店. 2011. p45-93
5. 善養寺浩, 坂井千三, 寺山武ら. 腸管系病原菌の検査法 第4版. 1985. 医学書院. P35-96
6. 財団法人日本公衆衛生協会. 厚生省監修. 微生物検査必携 細菌・真菌検査 第3版. 1993. B2-B40, D43-55

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産の出願・登録状況

なし

外部精度管理(細菌検査)導入に関する検討事項

対象疾患	<ul style="list-style-type: none">・ 地衛研が扱う感染症の中で、検査頻度の高い細菌性疾患は何か・ 対象疾患の検査方法は何か（培養法、遺伝子検査など）
試料作製	<ul style="list-style-type: none">・ 試料の形態をどうするか（喀痰、模擬便、スワブ、血液、菌株、DNA など）・ 試料は誰が作製するか・ 検体の種類、検体数をいくつにするか・ 保存試料の精度管理方法をどうするか（温度、時間による検査結果への影響）
試料送付	<ul style="list-style-type: none">・ 日通航空など輸送業者を選定するか・ ゆうパックを利用する場合、国連容器やジュラルミンケースはどこが用意するか・ 試料の送付はいつ、誰が、どこから行うのか （全機関に一斉に送付することは可能か）・ 輸送時の温度管理（冷蔵、冷凍、常温）、時間管理に関する検証はどうするか
検査方法	<ul style="list-style-type: none">・ あらかじめ作成した作業手順書に従って実施するのか・ 当該外部精度管理の検査が各機関で可能かどうか・ 厚労省調査（病原体サーベイランス）と整合性があるか
解析方法と評価	<ul style="list-style-type: none">・ 検査結果の解析方法や評価を誰がまとめるか・ 参加機関への結果のフィードバック方法はどうか・ 思わしくない検査結果を示した機関に対する提言などについてはどうか
費用	<ul style="list-style-type: none">・ 地衛研での検査費用（試薬、培地、消耗品など）はどこが負担するか・ 輸送に係る費用はどこが負担するか
その他	<ul style="list-style-type: none">・ 研究班終了後は、本外部精度管理をどこが主体で継続するか・ 対象細菌のコンタミネーションかどうか判定可能か・ 全機関が参加するのかまたは希望機関のみか

5. 外部精度管理に関する要綱案等の作成について

研究分担者 佐多徹太郎（富山県衛生研究所）平田宏之（名古屋市衛生研究所）、
平田輝明（福岡県保健環境研究所）、山本容正（大阪府公衆衛生研究所）、
岡野素彦（北海道立衛生研究所）、岸本壽男（岡山県環境保健センター）、
倉根一郎、大石和徳、宮崎義継（国立感染症研究所レファレンス委員会）
研究協力者 水野哲宏（横浜市衛生研究所）、田原なるみ（東京都健康安全研究センター）、
末吉利幸（山口県環境保健センター）、磯部順子、綿引正則（富山県衛生研
究所）

（体制小班員：地衛研全国協議会精度管理部会員と国立感染症研究所の分担者そして研究協
力者）

研究要旨 地衛研において望ましい外部精度管理調査の仕組みを検討するために、地衛研がこれ
まで行ってきた精度管理に関する事業を調査したところ、平成9年度の報告書に精度管理に関す
る報告書が存在し、その当時の状況でかなり良好な報告書がまとめられていた。一方、他の精度
管理事業等を参考にして、今回外部精度管理に関する要綱の素案を提示した。平成9年度の報告
書に記載された精度管理に関する内容のうち、現在の状況でも応用可能な点は利用し、今回の地
衛研の感染症検査の実態調査、ウイルスおよび細菌の外部精度管理調査の結果を加えて、外部精
度管理の要綱案をまとめるための資料が得られた。また、感染症検査や精度管理の考え方、地衛
研の強化に関する経緯、試料の配布方法、研修の状況をまとめたので、これらをもとにして、次
年度に外部精度管理の要綱案を作成する。

A. 研究目的

本研究は、地方衛生研究所(以下地衛研)の微生物検査の技術水準を維持するために、外部精度管理の手法を導入し、全国的な仕組みを構築し、地衛研全国協議会として継続的に実施することの妥当性の評価を目的としている。どのような外部精度管理の仕組みがあれば目的を達成することができるのかを検討し要綱案としてまとめるには、精度管理の実施に関する課題を把握し解決することが必要となる。ひとつは、現時点での地衛研の感染症検査に関する実態を把握すること、そしてもうひとつは実際に外部精度管理を行い、実施上の問題点や解決すべき課題を明かにすることである。前者については「感染症

検査の精度管理に関する実態調査」としてアンケート調査を行い、その結果については別の報告書にまとめた。後者については、木村および石岡研究分担者らを中心としたウイルス・細菌小班によるウイルスおよび細菌の外部精度管理に関する報告書がある。実際の外部精度管理を行い解決すべき課題を明かにして報告書にまとめた。

これらをもとに、また他の研究事業等の結果も踏まえて、望ましい外部精度管理の仕組みをまとめていく予定である。本年度はこれまでの精度管理に係わる研究等の活動、これまでの地衛研における精度管理に関する研究事業等を参考として素案をまとめ、班員で検討した。次年

度は地衛研全国協議会が行う外部精度管理事業としての骨組みの追加と肉付けを、さらに外部精度管理モデル事業を追加して行い、実際に即した案を提示したい。

B. 研究方法

1. 「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）」が施行された平成10年前後からこれまでに、地衛研が行ってきた精度管理関連事業等について、国立保健医療科学院のデータベースおよび地域保健研究事業等の厚労科研の報告書を用いてその内容等について調査をおこなった。

2. 地衛研感染症検査の外部精度管理要綱案についてまとめるために、精度管理に関する必要事項およびその事業について調査した。今回行った感染症検査の実態に関するアンケート調査や外部精度管理モデル事業から得た課題等を組み込むために、要綱に記載すべき項目等について検討した。

（倫理面の配慮）

個人情報を取り扱わない。

C. 研究結果

1. 地衛研における精度管理に関する活動について

研究報告書等から調べることができた精度管理に関する研究活動には下記の1)平成3年から11)の平成25年までに記載があった。平成3年ころから地衛研の全国協議会で行政検査の質の向上を図ることが試みられてきた。そして平成9年度末の「行政検査における精度管理システム構築に関する研究（衛籐繁男 神奈川衛研）」においてかなりまとめられた。今から17年前の現感染症法施行前で、時代背景は現在とは異なっているものの、大変参考になるものと思われた。この報告書は神奈川県衛生研究所から借用しpdfファイル化し班員に配布し今後の議論に役立てることにした。さらに必要に応じてほかにも配布できるようにした。平成10年に「感染症法」が施行され

たが、外部精度管理は事業化されなかった。以後、地域保健関連の研究事業で、健康危機管理対応の模擬訓練の形で、地全協支部レベルで行われてきた。最近では、国立感染症研究所のレファレンス委員会の各レファレンス担当等で必要に応じた外部精度管理調査が試行されている。たとえば、インフルエンザウイルス、麻疹・風疹、レジオネラ、結核、ノロ・エンテロウイルス、日本紅斑熱等である。ウイルスはPCRやリアルタイムPCRが中心で、細菌では分離とPCRによる。いずれの調査でも、参加した地衛研の担当者は概ね役立ったと好評であるとともに、研修等の必要性が指摘されている。以下、精度管理に関する活動報告の概要をまとめた。

1) 平成3年から5年度「地方衛生研究所および保健所における行政検査の質の向上に関する研究（衛籐繁男 神奈川衛研）」で、2分野における外部精度管理を試行した。

2) 平成6年から8年度「行政検査における精度管理システム構築に関する研究（衛籐繁男 神奈川衛研）」において、外部精度管理（細菌の同定・型別、インフルエンザウイルスを配布し型別、またウイルス分離と型同定、糞便由来の虫卵の同定など）を試行的に行い、恒常的実施の基礎資料（実施方法、結果の集計、評価方法等）の収集につとめ、組織、機能、内部精度管理マニュアルについて提言。以下、H8の総括研究報告書から抜粋した。

1. はじめにに項の記載の一部には、内部精度管理や精度管理システムにコントロールされた、科学的に精度高く、信頼性が保証された検査情報を行政に提供、それにもとづく行政措置が執られることが強く求められている。地方衛生研究所設置要綱(平成9年3月14日厚生省発健政第26号)に行政検査の精度管理実施が定められた。

2. 研究方法として、5実行委員会（細菌系、ウイルス系、寄生動物系、食品系；食品添加物・農薬、水道系）を組織した。調査日程、調査項目を

決定。調査参加協力依頼書を、主任研究者と地全協会長の連名で2回送付した。調査項目、試料配布日、結果報告締切日を記載した文書を配布し、試料購入、調整、作成を実行委員会の協力監督のもとに行い、70地衛研にゆうパックで発送した。普通および速達郵便も利用した。ウイルス検体は氷冷輸送のために宅配便を利用した。結果はファイルで受取り、データベースソフトに読み込んだ。配布試料調査として、試料受領年月日、検査開始日、終了日、送付容器・試料破損の有無、試料配布方法、検査項目、回答期間、その他の問題点・意見等について行った。実行委員会で回答の集計および解析を行った。さらに調査の実施方法や回答票の形式の問題点について議論し、回答票の様式を再検討した。試料送付については、菌株は二重構造のメーリング用容器に入れた。寄生動物系試料の糞便は高圧滅菌、虫卵等はホルマリン固定したものを利用しバイオハザード対策した。送付中の破損はなかったが、ドライアイス不足が指摘された。対象分野の選定、委員会の編成、試料作製や配布方法、回答回収と解析、地衛研の業務でできる範囲の試験検査を検討し、回答期間を分野別に、そして通常業務との兼ね合いから実施時期を考慮した。

3. 外部精度管理調査の実施

a) 細菌では、H6年度は *Vibrio cholera nonO1*, *Yersinia enterocolitica*, *Plesiomonas shigelloides*, *Bacillus cereus*, *Enterotoxigenic Escherichia coli* の5病原菌を配布し、同定・型別結果を求めた。H7年度は *Enterohemorrhagic Escherichia coli*/*Verotoxin producing Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholera O1*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella Typhimurium* の7病原菌を試料とした。

b) ウイルスでは、4株のインフルエンザウイルスを配布し、型別の結果を報告するよう依頼。鶏卵と細胞を使った分離と型同定を目標とした。

c) 寄生動物では、糞便由来の虫卵（回虫、鞭虫、肺吸虫、肝吸虫）、原虫シスト（ランブル鞭毛虫）の計5種を加えた疑似検体を配布し同定報

告を依頼。結果は正答率が悪かった。研修および検査マニュアルとともに標本配布、検査体制整備への要望が高かった。

3) H9年度の報告書（2）の3年目の総括研究報告書「行政検査における精度管理システム構築に関する研究（衛籐繁男 神奈川衛研）」には、「精度管理システムの目的は、地方衛生研究所の強化による公衆衛生への貢献で、内部精度管理活動推進の支援体制、外部精度管理事業、レファレンスシステム、研修・教育システムおよび情報システムから構成される」とまとめられ、〈行政検査における精度管理システムの構築に関する提言〉が行われた。この報告書は各地衛研でも見当たらないところもあるため pdf ファイル化を行い研究分担者に配布し資料とした。以下一部を引用する（表1-4）。

A. はじめに：H9.3の地衛研設置要綱には試験検査業務に関して行政検査の精度管理が定められている。精度管理の構築は急務で、本研究を総括して精度管理システムの構築を提言する。

B. 行政検査の特性(一般の検査と異なる特徴)：

1) 社会性：検査結果は個人にとどまらず一般社会や広く国内外社会にまで波及する（複数地域での発生、行政・法律上の処置、行政上・国際問題化の要素）。よって検査結果の再現性・整合性・信頼性が要求され、事例の解析には他地域の情報が不可欠。

2) 能動性：検体の選択は結果に関わるので、検査実施側が被験者や物を選択する

3) 集団性：多くの場合集団を対象として検査する。

4) 多様性：検体の種類がヒト由来のみならず、食品や環境由来のことまで多岐にわたる。よって処理法・検査の進め方が複雑になる。

またレファレンス機能を担う。さらに、地衛研の検査は、1) 高度の技術・知識を要する検査、2) 希少事例の検査、3) 研究レベルで行

われる技術・手法を利用する検査があるため、精度管理の確立は困難な場合が多いが、こういった状況に応じた精度管理システムをめざすことが必要。

C. 提言事項

- ① 活動. 1) 内部精度管理(個々の検査機関で実施)、2) 外部精度管理(内部精度管理の機能チェックと検査機能を第三者的立場から評価)、3) レファレンス(情報や標準株標準品、特殊項目の集中実施、試薬等の品質、検査法の検討など)、4) 研修・教育、5) 公衆衛生情報システム 概略(図1)

- 1) 国立試験研究機関が行政検査の精度管理システムの中核となる役割を担うことが期待される。1) 合同委員会、2) 精度管理システム、(1) 外部精度管理調査：実施は合同委員会、試料は国研と地研で作業、予算は国研、(2)研修の実施：外部精度管理の結果にもとづく研修、(3)公衆衛生情報システム、(4)内部精度管理実施の支援、(5)レファレンスセンター機能の整備・拡充、(6)地方における検査機関の精度管理業務の支援

- ② 精度管理システムの構築は、行政検査の質の向上を意図するのみならず、国民の健康と財産を守ることを目的とする。国レベルの事業は不可欠である。

- ③ 外部精度管理調査：1. 実行委員会組織、調査、問題点指摘・実施方法の評価等、2. 試料作製配布は国立試験研究機関で調整し梱包し配布、3. 回答の回収、4. 結果の参加施設への還元(菌株は参考株として利用)、5. 調査票の配布(試料受領月日、検査開始日と終了日、送付容器・試料の破損の有無、試料配布法、検査項目、回答期間、その他の問題点・意見など)。内部精度管理の重要性と外部精度管理調査の必要性が認められた。

- ④ 内部精度管理マニュアル作成と標準作業書案の作成(様式のみ)

- ⑤ 研修：恒常的実施。ブロックごとに実施。国立公衆衛生院の特別コースと希少感染症検

査技術研修会があるが分野すべてをカバーしているわけではない。限られた人数しか受講できない。そして新興再興感染症への対応が必要。見直しと新しい研修システムの構築が望まれる。

- 4) 平成6年度～8年度の厚生科学研究費補助金による「地方衛生研究所の機能強化に関する研究：主任研究者、大月邦夫、群馬県衛生環境研究所長」の分担研究「都市における地研の役割と保健所との関連について：分担研究者、江部高廣、大阪府立公衆衛生研究所長」の報告書にも類似した地方衛生研究所の精度管理に関する提言が記載されている。

(H10-16については資料が入手できなかった)。

- 5) H17-18年度健康科学総合研究事業「健康危機発生時の地方衛生研究所における調査および検査体制の現状把握と検査等の精度管理体制に関する調査研究」今井俊介 奈良県保健環境研究センター

感染性のない組換えノロウイルス VLP の電子顕微鏡を利用した精度管理をドイツコッホ研究所の精度管理システムを導入して行った。ほか略。H18年度では、ボックスウイルス、SARS ウイルスを試料とした。

- 6) H18 地域保健総合推進事業「健康危機管理における地方衛生研究所の広域連携システムの確立(織田 肇 地全協会長)」

各地域ブロックで高度検査講習を含む専門家実務研修を実施した。ブロック研修会のなかで、H18年度は、レプトスピラ、腸管出血性大腸菌、電顕によるウイルス粒子の検出、LAMP法による病原微生物検出、H19年度は、VNTRによる結核菌、結核のQFT、鳥インフルエンザのPCR、O157とカンピロバクターの検査が行われた。

- 7) H20 地域保健総合推進事業「科学的根拠に基づく政策決定を支援するための地方衛生研

研究所の試験研究機能の強化及び情報ネットワークの構築（前田秀雄 地全協会長）」

地域専門家会議では微生物部門の担当者が参加し、情報交換とネットワークの構築をはかった。病原体としては、リケッチャ症、レジオネラ症、麻疹、特定病原体管理、病原体レファレンス、人獣共通感染症などがテーマになった。模擬訓練では、麻疹ウイルス検査の精度管理や鳥インフルエンザ感染疑い例の発生に伴う検査等が行われた。研修会では結核の VNTR、対策マニュアル策定では、新型インフルエンザ対応マニュアルについて検討した。

- 8) H22 地域保健総合推進事業「科学的根拠に基づく政策決定を支援するための地方衛生研究所の試験研究機能の強化及び情報ネットワークの構築（小澤邦壽 地全協会長）」

微生物部門の地域専門家会議として、麻疹の検査法、結核菌検査、細菌専門家の連携、結核の疫学に関する研修、病原性大腸菌、レジオネラ菌を対象とした。模擬訓練では、レジオネラ菌株の遺伝子型別が行われた。意見交換としてレジオネラ菌の内部精度管理の困難さが指摘され議論された。

- 9) H23 地域保健総合推進事業「地方衛生研究所の検査研究機能の強化及び疫学情報連携ネットワーク体制の構築」（小澤邦壽 地全協会長）」

地域専門家会議として、病原性大腸菌、腸管出血性大腸菌、ロタウイルス、カビ、ボツリヌス、粘液胞子虫・住肉胞子虫といった寄生虫がテーマとなった。模擬訓練として、麻疹ウイルス、インフルエンザウイルスの精度管理が行われた。麻疹感染疑い例の咽頭ぬぐい液を想定した模擬検体を配布し、RNA を抽出、RT-PCR 方による HA, N 遺伝子の検出。2種類のウイルスを用いた模擬検体を配布し検査機能等を検証。

- 10) H24 地域保健総合推進事業「地方衛生研究所の検査研究機能の強化及び疫学情報連

携ネットワーク体制の構築」（小澤邦壽 地全協会長）」

麻疹および風疹ウイルス遺伝子検出の精度管理、クドア及びザルコシステイスの検出および定量検査の精度を検証した。下痢症患者の糞便から分離菌（赤痢菌、大腸菌など）を同定し、健康危機発生時の対応を検証した。インフルエンザウイルス模擬検体2種類(AH1, AH3)の同定試験を行った。

- 11) H25 地域保健総合推進事業「地方衛生研究所の検査研究機能の強化及び疫学情報連携ネットワーク体制の構築」（小澤邦壽 地全協会長）」

日本紅斑熱リケッチャの Duplex realtime PCR 陽性対照検体を配布し検査した。インフルエンザウイルス AH5, AH3 の模擬検体を配布し、検査機能と迅速体制を確認。

2. 地方衛生研究所における感染症検査に係わる精度・品質管理実施要綱（H26年一次案）表5に精度管理部会に提案したものを示した。分担者の了解を得て今後改訂していくことになった。とくに項目のカッコ内ないし疑問符のついている部分について、次年度の研究事業での検討を踏まえて、骨格部分の再検討とともに、肉付けしていくことになった。

D. 考察

1. 地方衛生研究所における感染症検査の精度・品質管理実施要綱作成にむけて

感染症検査の外部精度管理に関する実態調査に寄せられたご意見のなかに、「健康被害拡大防止のための法に基づく措置（食中毒の行政処分含む）や治療法等、その後の対応に与える検査結果の影響が大きいもの、及び撲滅を目指している感染症については、特に、当該検査に係る信頼性確保は必須であり、そのシステムの構成要素として外部精度管理は重要である」とあり、「事業」として通知・実施していただくこと」が必要であること、さらに、「随分以前に同じような精度管理事業を行なった記憶があります。その際、検査技

術の向上に寄与したと思われたものの、その後、継続されていません。そのことが本事業の遂行の難しさを物語っているようにも感じます。今後、継続的な実施を考える上では、その時の総括を生かされると良いと思います。」という意見があった。その報告書を探したところ、平成9年3月に、神奈川県衛生研究所の衛籐繁男先生が研究代表者となって地衛研でおこなった保健医療福祉地域総合調査研究事業「地方衛生研究所の機能強化に関する研究」のうち分担研究報告書「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」にその記載があることが判明した。この内容等も含めて外部精度管理を考えていくことが確かに重要と思われたので、研究班会議でも紹介し一部は議論したので、今回、報告書に概要を述べ、今後の検討に生かしていくことにした。そのため、報告書は pdf 化して班員等に配布してある。

2. 地衛研における精度管理に関する活動

1) 感染症検査と「精度管理」について

a) 感染症検査： 感染症の検査は、人から採取された検体（臨床検体）にどのような病原体が存在するかどうかを明らかにすることである。検査で明らかにされた病原体がその人の病気の原因となっていることが、これまで知られている知見に照らして、臨床的にそして科学的に、合理的に説明しうるはずである。臨床検体に病原体が陽性か陰性かの結果が基本であることから、検査は定性的であって、決して定量的なものではなく、数値では表せない。定量データは感染症の症状の程度と関連すると理解されている。ところが最近では遺伝子検査が迅速性や簡便性の点から利用されるようになり、検査機器の進歩もあって、定性とともに半定量的な結果が得られるようになってきた。さらに最新の機器では定量的な結果さえ得られるようになってきている。一方、感染症検査にとって、これまで通り、病原体の分離同定は必須で、分離した病原体の性状解析は、患者の正しい診断、検査法の開発、病態の解析、治療やワクチン開発のためにも重要であることはいうまでもない。これらはいずれもが定性的な検査である。

b) 精度管理： 「精度管理」は一般的に知られ

ているものの、感染症検査の領域ではあまり行われてこなかった。しかし細菌感染症に対して抗生物質が、ウイルス感染症に対して抗ウイルス剤などが効果的に使われるようになり、検査の正確性は治療の成否に関わるようになった。そして検査結果の正確性、信頼性、その品質を保証するために、「精度管理」が必要とされている。しかし、もともと「精度」は真度とともに数値で表される分析法の性能のひとつで、他にも性能を表すパラメータは多くあるとされている。精度 precision は個々の分析値のばらつきを示すもので、真度 trueness は分析値の平均値が真の値と一致している程度と定義されている。感染症検査は数値で表現される分析法ではないので、感染症検査の「精度管理」はほかの検査の場合とは同じではないが、便宜上、ここでは「精度管理」とよぶことにした。

c) 外部精度管理： 感染症の検査結果の正確性や信頼性、検査法と結果の品質が保証できるようにするために、個々の検査機関で行う内部精度管理と、第三者機関の評価により他の機関との比較が主な目的となる外部精度管理がある。持続的に管理することと、検査担当者の研修が必要である。外部精度管理を行った後の研修は効果的と言われている。多数の検査担当機関が全く同一の試薬、設備、機器を持ち使用するわけではないことから、外部精度管理の多くは技能試験となる。とはいえ、感染症法に定める人への法的行動制限等を行う場合は可能な限り、食品検査の公定法的な感染症検査が導入されてしかるべきであろうが、実際、該当する感染症は多くはない。

d) 「外部精度管理」という和名：通常、External quality assessment の和訳として外部精度管理があると考えてきた。しかし、上述した点からみると適切とは言いがたい。文献等をみているといろいろあるようで、外部品質保証・評価・管理、外部信頼性評価、外部精度評価等の文言もある。管理は control と思われるが、必ずしもそうではない。一方、精度管理は、食品衛生法等で使われる GLP を思い浮かべる方も多いようだ。しかも最近では国際的ルールの関係で harmonization がいわれている。どこかで整合性を問われそうであるが、和

名は少しニュアンスを変えてもいいのではないかと考えてみた。たとえば、外部精度管理を「外部機関による当該地衛研の感染症検査の優良性評価」ということと理解できなくもない。次年度にもう一度検討してみたい。

e) 感染症法等：感染症法第三条には、「国及び地方公共団体は、教育活動、広報活動等を通じた感染症に関する正しい知識の普及、感染症に関する情報の収集、整理、分析及び提供、感染症に関する研究の推進、病原体等の検査能力の向上並びに感染症の予防に係る人材の養成及び資質の向上を図るとともに、社会福祉等の関連施策との有機的な連携に配慮しつつ感染症の患者が良質かつ適切な医療を受けられるように必要な措置を講ずるよう努めなければならない。略」とあり、また第九条の基本指針の七には、「病原体等の検査の実施体制及び検査能力の向上に関する事項について定めるとある。病原体検査能力の向上には外部精度管理は欠かせない。地衛研の担当課とこの法律の意図するところをどう考えるのか今一度議論が必要かもしれない。

3. 地方衛生研究所設置要綱等

地方衛生研究所は、昭和51年9月10日の厚生省発衛第173号の厚生事務次官通知により現行の設置要綱が示された。その後、平成9年3月14日の厚生省発健政第26号の厚生事務次官通知により、「地方衛生研究所設置要綱」が改正され、(2) 地方衛生研究所の試験検査業務について、試験検査に不可欠な標準品及び標準株を確保・提供するなどレファレンスセンターとしての役割を担うとともに、行政検査等の精度管理を行うものとしていることとされた。平成9年の衛籐班の報告書は同時期にまとめられた。平成10(1998)年10月2日に法律114号として、いわゆる感染症法が施行され、翌年には、「感染症発生動向調査事業実施要綱」が平成11(1999)年3月19日 健医発第458号として、厚生省保健医療局長通知がだされた。平成13年には、地域健康危機管理ガイドラインにより、地方衛生研究所は、地域における科学的かつ技術的中核機関として、

関係行政機関と緊密な連携の下に、業務を通じ、公衆衛生の向上に重要な役割を果たしてきているので、保健所等と連携して、未知の原因物質の分析特定を迅速かつ精確に実施するとされた。平成24年7月31日に厚生労働省告示第464号として、地域保健対策の推進に関する基本的な指針の一部を改正する件として、地方衛生研究所の機能強化として、サーベイランス機能の強化や迅速な検査体制の確立と検査精度の向上が求められていることを踏まえ、地域における科学的かつ技術的に中核となる機関として地方衛生研究所の機能の一層の充実強化を図ることとされた。ここではじめて告示という法令文に「地方衛生研究所」という文言が記載された。法律、政令、省令があつて告示で、国の機関の告示は、官報に掲載する方法によって行われ、その後法令全書にも収録され、法令としての性格を持つ告示は必要に応じて「改正」されたり「廃止」されたりすることがある。感染症法制定前後から18年目の今に至るまで、通知からそして告示に至るまで、地方衛生研究所の検査体制や検査精度の向上が常に言われてきている。

4. 精度管理調査の試料(病原体)の配布

平成19年6月1日から施行された改正感染症法の第十一章には特定病原体等について記載がある。生物テロに使用されるおそれのある病原体等であつて、国民の生命及び健康に影響を与えるおそれがある感染症の病原体等の管理の強化のため、一種病原体等から四種病原体等までを特定し、その分類に応じて、所持や輸入の禁止、許可、届出、基準の遵守等の規制が設けられている。三種病原体まで運搬の届出を公安委員会に行う必要があり、その搬送容器にもルールがある。四種以下は基準の遵守である。厚労省は、「特定病原体等の安全運搬マニュアル」による講習を行っている。国立感染症研究所では、平成19年6月29日に病原体等安全管理規程(改訂第三版)が発行され、内規として、平成19年8月から「病原体等の輸送・運搬に関する取扱要領」を定めて感