

「地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究」平成26年5月8日感染研

第一回研究班会議にむけて関連情報の提供  
(結核感染症課 中嶋)

(ポイント)

- 1 感染症法に基づく現在の自治体等における検査について
- 2 感染症法の見直しの動向
- 3 検査の精度管理の必要性について
- 4 自治体への病原体サーベイランスに関するアンケート
- 5 その他

1 感染症法に基づく現在の自治体等における病原体検査について

- ・近年、遺伝子検査技術の向上等により、患者診断と感染症対策に病原体の精密な検査が不可欠な状況
- ・一方、検査に係わる感染症法での規定は明確ではなく、一部は積極疫学調査(15条)に基づく調査の一環として実施(1~4類、麻疹等)され、局長通知により受身疫学調査として行われる検査もある(病原体定点でのインフルエンザ検査等)。
- ・また、検査の項目や頻度、適正な検査のための講習、精度管理等については、実施自治体に依存。

2 感染症法の見直しの動向

- ・現在、感染症部会にて、感染症法の見直しを検討中。
- ・今後、部会の提言を踏まえ、検体等の提供要請、検体の採取措置、検体等の検査の実施、検査の精度を確保するための基準の策定、定点医療機関等からの検体等の収集などを感染症法に位置づけること等を検討。

3 検査の精度管理の必要性について

- ・対策での重要性が増せば増すほど、国内外を問わず、正確な検査結果が求められる。
- ・感染症(法)分野では規定はないが、食品衛生(法)、水道(法)、臨床検査技師(法)等の、行政が実施する微生物検査についてはすでに一定の規定が導入済み(外部精度管理の規定等)。
- ・研究班等が実施した精度管理に関する調査結果、等々から、自治体間で相当な差がある現状を認識。
- ・感染症発生動向調査として全国一律に実施する病原体検査には、適切な基準に基づく実施が不可欠。

4 自治体への病原体サーベイランスに関するアンケート

- ・今後の適切な基準の検討の資料の一つとすべく、現在別配布案を策定中。

5 その他

○ 精度の管理の主項目 (※)は特に資金が不可欠なもの

- 1 管理体制
- 2 職員研修(※)
- 3 標準作業書
- 4 施設設備の基準(※)
- 5 検体搬送(※)
- 6 試薬の管理(※)
- 7 検査機器等のメンテナンス(※)
- 8 内部精度管理
- 9 外部精度管理
- 10 その他

○ 特にPCR検査のコンタミ防止

- 1 スペース分け①核酸抽出、②試薬調整、③核酸増幅、④検出
- 2 温度管理(データ記録)

H26年度厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)

地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と  
継続的実施のための事業体制の構築に関する研究(H26-健危-一般-001)

研究代表者 佐多徹太郎

研究分担テーマ:精度管理に関する技術的支援

国立感染症研究所  
感染症疫学センター第六室  
木村 博一

感染症疫学センター第六室(ウイルス研修室)の担当業務(事務分掌)

1. ウイルス性疾患の検査に関する情報の収集、解析および情報提供
2. 国内外の関連機関と連携し、公衆衛生におけるウイルス検査の技術向上・標準化等の支援および新規検査法の開発および研究(NoV標準物質の配布)
3. 公衆衛生に携わる公的機関の職員を対象にウイルス検査に関する講習の立案および遂行(短期研修ウイルス研修・細菌研修・新興再興感染症技術研修)

内部精度管理(施設内精度管理)

- ・管理用試料  
例:キット添付標準品を試験ごとに測定
- ・患者試料  
例:患者検体を最初と最後に測定

外部精度管理

- ・外部機関作成標準品を多施設で測定

検査の正確性と精密性を管理する

地研におけるウイルス検査における内部精度管理の現状(推定)

- ・細胞培養法:細胞ごとに既知の分離株(標準株)使用
- ・遺伝子検査法:当該ウイルスの分離株あるいは核酸使用
- ・抗原検査法:キット添付標準品を使用
- ・抗体検査法:キット添付あるいは既知の抗体価の血清使用
- ・電子顕微鏡:過去の陽性検体を使用

地研における現在のウイルス検査精度管理状況(推定)

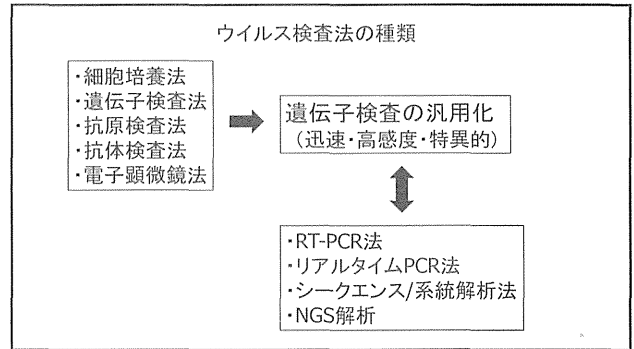
- ・大半の検査において、自家製あるいは試薬キット添付の標準品を用いて内部精度管理を行っている
- ・病院(臨床検査部)などで行っている外部精度管理はほとんど行われていない
- ・標準品の定期的配布もあまり行われていない  
(NoV, SaV, A型肝炎, インフルエンザなどに限定)

H26年度 ウイルス検査外部精度管理試験(案)

衛生研究所におけるウイルス検査の主な対象疾患

- ・感染症法関連(対象疾患:109疾患,ウイルス性疾患数56)
- 1. インフルエンザ
- 2. 麻疹・風疹
- 3. その他の呼吸器感染症(RSVなど)
- 4. 感染性胃腸炎(NoV, Rota, SaV)
- 5. AIDS
- 6. 急性脳炎(脳症)
- 7. ウイルス性肝炎
- 8. 手足口病・ヘルパンギーナ
- 9. 無菌性髄膜炎
- 10. その他原因不明疾患(ウイルス感染症疑い)

- ・食品衛生法関連
- 1. 食中毒(NoV, SaV, Rota etc.)



ウイルス検査精度管理(案)

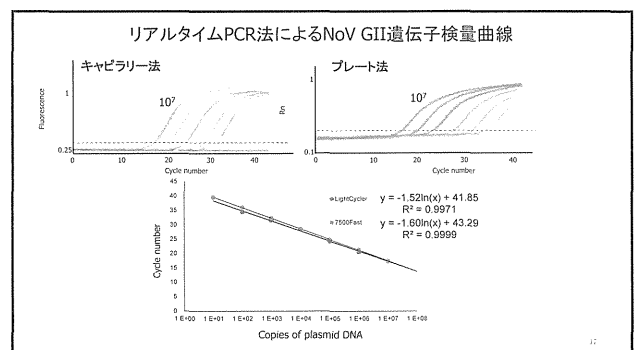
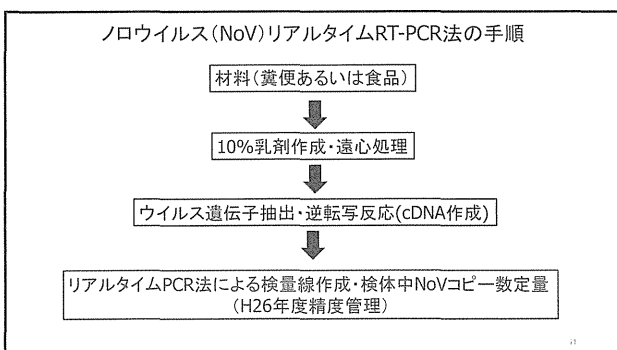
- ・模擬検体: ノロウイルス(NoV)
- ・材料: NoV cDNAあるいはNoV組み換えプラスミドDNA
- ・方法: 標準曲線作成と模擬検体のNoV遺伝子定量  
 食安監発第 1105001 号(平成15年11月5日)に準じて行う

- ・日常業務に数検体程度の追加試験で済む
- ・精度管理解析のための必要なデータが得られる
- ・一定の内部精度管理体制が確立されていると思われる

リアルタイムPCR法の特徴

- ・長 所
  1. 迅速・高感度・特異的
  2. ウイルス遺伝子の定量が可能
  3. 実験室内コンタミネーションが起りにくい
- ・短 所
  1. ある程度の熟練が必要
  2. 高コスト(試薬・機器)

地研のウイルス検査に汎用されている(特にNoVとインフルエンザ)



同一検査員による定量値の変動

某衛生研究所ウイルス検査歴3年  
同一糞便における3重測定値 (Mean±SE)

キャピラリー法:  $7.1 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$  copies/g (糞便)  
変動係数(CV): 4%

プレート法:  $7.1 \times 10^6 \pm 0.4 \times 10^6$  copies/g (糞便)  
変動係数(CV): 10%

H24年ウイルス研修時のNoV検査実習  
同一実検体および標準物質定量値が最大100倍(2log)の幅

短期研修ウイルス研修受講生の自己評価による受講時スキル(H24年度)

・4段階評価: 1.十分できる 2.おおむねできる 3.少しできる 4.できない

・問1: ウイルス検査診断の基本を理解しているか?

・問2: ウイルス検査診断に関連する感染症の基本を理解しているか?

問1に対する回答

4. できない	25.8%
3. 少しできる	64.5%
2. おおむねできる	6.5%
1. 十分できる	3.2%

問2に対する回答

4. できない	38.7%
3. 少しできる	58.1%
2. おおむねできる	3.2%
1. 十分できる	0%

収集データおよび解析について

- 標準曲線に関するデータ(各濃度3重測定)
  - 標準曲線図(平均値プロット図)
  - 曲線の関数式および相関係数(R value)
  - 各標準物質濃度別Ct値(NoV組み換えプラスミドDNA)
  - 使用試薬名と反応系
  - 測定装置(機種名や購入年など)
- 模擬検体に関するデータ
  - 測定生データ(3重測定の各々のデータ)

↓

得られたデータを統計学的常法によって解析

解析データの還元

- 解析データおよび報告書については研究代表者に一括還元

精度管理実施手順(案)の作成

- ウイルスラボの現場に精通した地衛研メンバー(研究協力者)と作成

H26年度厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)

地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と  
継続的実施のための事業体制の構築に関する研究  
(H26-健危-一般-001)

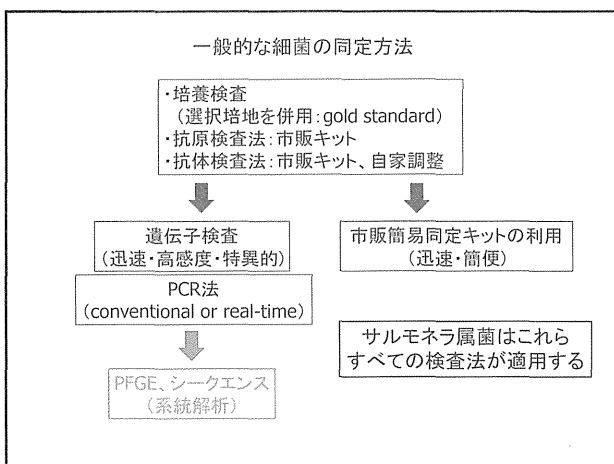
研究代表者 佐多徹太郎

研究分担テーマ:精度管理に関する技術的支援

国立感染症研究所  
感染症疫学センター第五室  
石岡 大成

地衛研において実施される細菌検査の主な対象病原体

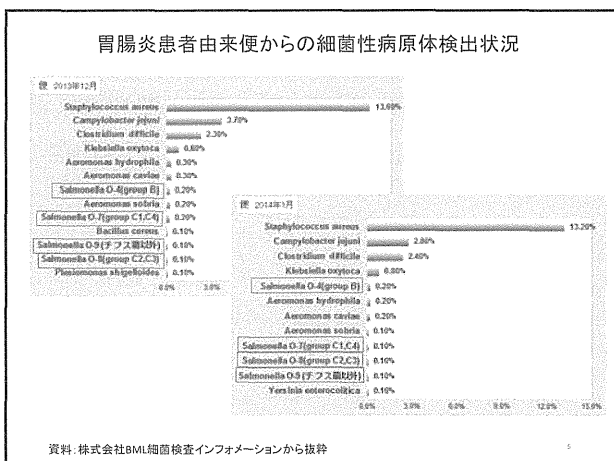
- ・感染症法関連
  1. 腸管出血性大腸菌
  2. コレラ菌
  3. 細菌性赤痢菌
  4. 腸チフス・パラチフス
  5. 結核菌
  6. レジオネラ属菌
  7. A群溶血性レンサ球菌
  8. 百日咳起因菌
  9. 細菌性髄膜炎起因菌
  10. その他原因不明疾患
- ・食品衛生法関連
  1. 病原大腸菌(腸管出血性大腸菌含む)
  2. コレラ菌(ビブリオ属菌含む)
  3. 細菌性赤痢菌
  4. カンピロバクター属菌
  5. サルモネラ属菌
  6. ウェルシュ菌
  7. その他腸管感染細菌



本邦における細菌性食中毒発生状況 (原因物質別)

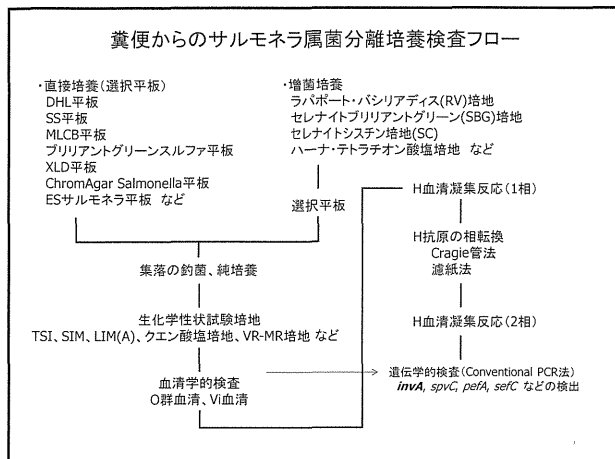
	総数		
	事件	患者	死者
サルモネラ属菌	34	861	-
ブドウ球菌	29	654	-
ポツリス菌	-	-	-
腸炎ビブリオ	9	164	-
腸管出血性大腸菌(VT産生)	13	105	-
その他の病原大腸菌	11	1007	-
ウェルシュ菌	19	854	-
セラチス菌	8	98	-
エルシニア・エンテロコリチカ	1	52	-
カンピロバクター ジェジュニ/コリ	227	1551	-
ナグビブリオ	3	446	-
コレラ菌	-	-	-
赤痢菌	-	-	-
チフス菌	-	-	-
パラチフスA菌	-	-	-
その他の細菌	7	263	-
総数	361	6055	-

厚生労働省食中毒統計(2013年)から抜粋



胃腸炎患者由来サルモネラの血清型(H県の状況)

血清型	2009	2010	2011	2012	計	血清型	2009	2010	2011	2012	計					
04群	12	16	10	11	49	Hadar					4	4				
	3	7	4	5	19	Licfield	4	2	4	12	22					
	18	8	2	6	34	Manhattan	1	1	4	5	11					
	7	6	1		14	Nagoya	1	1			2	4				
	1	9		4	14	Narashino				2	2	4				
					1	Newport	2	3	2	14	21					
					2	Yokohama					1	1				
					2	Kottbus					1	1				
					1	1	Enteritidis	24	41	27	15	107				
					1	1	Miyazaki					1	1			
					6	6	Panama					1	1			
					7	4	4	15				1	1			
					1	4	1	6	03, 10群	Falkensee	1	1	1			
					1	1	1					1	1			
					12	9	25	16	62	Meleagridis		1	1			
					1	1	1					1	1			
					1	1	1					1	1			
					1	1	1					1	1			
					1	1	1					1	1			
					3			3								
					2			2								
					1			1								
					6	8	9	23	016群	Hvittingfoss				1	1	
					1			1								
					1	4	2	2	9	028群	Soumbedioune	1			1	1



### サルモネラ属菌の培養で用いられる培地類

<b>前増菌培地</b> ・Enterobacteria Enrichment Mannitol Broth ・Buffered Peptone Water など	<b>増菌培地 (Tetrathionate系)</b> ・Hajna Tetrathionate Broth ・Tetrathionate Broth など
<b>増菌培地 (Rappaport-Vassiliadis系)</b> ・Rappaport-Vassiliadis R10 Broth ・Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth ・Rappaport-Vassiliadis Enrichment Broth など	
<b>選択分離培地</b> ・Desoxycholate-hydrogen sulfide-lactose agar ・CHROMagar Salmonella ・Brilliant Green Sulfide Agar ・Double Modified Lysin Iron Agar	・SS Agar ・MLCB Agar ・XLD Agar ・ESサルモネラ培地 など

### 細菌検査精度管理 (案)

- ・材料: 模擬臨床検体 (疑似糞便)
- ・対象病原体: サルモネラ属菌  
候補血清型: *Salmonella* Typhimurium, *S. infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Cerro* など
- ・方法: 培養法によるサルモネラの同定および血清型別を各地衛研における標準作業手順書(SOP)に従って実施する

- ・ルーチン検査の一環として検査可能である
- ・各地衛研でSOP作成済みと考えられる
- ・各地衛研における使用培地、培養条件および検出感度の調査

### 模擬検体の送付方法

1. 一次容器  
スクリュウキャップチューブを使用 (パラフィルムでシール)
2. 二次容器、三次容器  
国連容器を用いて吸収剤を入れ、緩衝材で固定
3. 四次容器  
各地衛研から事前に送付 (二次および三次容器も含めて)

(参考) ゆうパック送料 80サイズ(片道)

東京 → 北海道	(1230円)
東京 → 新潟	(930円)
東京 → 大阪	(1030円)
東京 → 鹿児島	(1340円)
東京 → 沖縄	(1440円)

### 収集データおよび解析について

使用培地、SOPに関するデータ収集

- ・各増菌培地、選択平板の使用状況および組み合わせ
- ・培地による検出感度
- ・使用試薬名およびメーカー
- ・機器の機種、メーカー など

平成26年(2014年)6月16日

平成26年度厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)

「地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究(H26-健危-一般-001)」班

## ウイルス・細菌合同小班会議

日時：7月14日(月) 13:30から16:30(予定)

場所：国立感染症研究所・戸山庁舎・共用第三会議室(前回と同じ会議室です)

プログラム(案)(5分の質疑応答時間を含む)

1. 挨拶等 (13:30-13:35)
2. 感染症検査における外部および内部精度管理の先行事例等について (13:35-15:10)
  - 1) インフルエンザウイルス (13:35-13:55)

影山 室長  
(感染研インフルエンザウイルス研究センター)
  - 2) 麻疹ウイルス (13:55-14:15) 

駒瀬 室長(感染研ウイルス3部)
  - 3) レジオネラ (14:15-14:35) 

森本 研究員(北海道衛生研)
  - 4) 感染症検査精度管理の導入経験 (14:35-14:55)

勝見 部長(仙台市衛生研)
  - 5) 国際および国内の現況 (14:55-15:10)

吉田 主任研究官(感染研ウイルス2部)
3. 休憩 (15:10-15:30)
4. 班員から提出された検討項目集計結果・ほか (15:30-16:00)
  - 1) ウイルス (15:30-15:45) 

木村 室長(感染研疫学センター)
  - 2) 細菌 (15:45-16:00) 

石岡 室長(感染研疫学センター)
5. (16:00-16:30 予定) 総合討論：今後の進め方について
6. 事務連絡 ほか(17時まで会場は押さえてあります)

発表はパワーポイントでお願いします。配布資料(A4用紙に6枚ずつのスライド両面印刷)を30部お願いします。班会議資料とさせていただきます。

演題名は仮題です。23日(月)午前中までにお知らせください。

# 「地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究」

## ウイルス・細菌合同小班会議 概要

平成 26 年 7 月 14 日、感染研 共用第三会議室 13 時～17 時 00 分

### 1. 佐多研究代表者より挨拶および概略説明(配布資料 1)

研究体制の説明および今後のタイムスケジュール説明、また、実施計画と小班の目的を示唆（予算の項目を追加）

### 2. 原田地域保健専門官（厚労省）

本研究は大切な事業と認識しており、勉強させていただきたい。

### 3. 影山感染研究室長（インフルエンザウイルス精度管理について）(配布資料 2)

WHO の EQA でも検体が届かないことがある。また、解析結果から問題があるか否かは把握できるが、原因の特定は困難な場合が多いなど、課題は多い。インフルエンザに関しては、行動計画のなかで「地方衛生研究所における PCR 検査等を実施する体制を整備する・・・」とあるので、検査技術の正確性を評価する必要がある。これまで、3 回の EQA を実施し、H25 は全国規模での試行を計画している。アンケートの結果から、SOP を作成していない機関があること、問題点が明らかになっても改善不可能であった場合が多かった、参加費用の問題などの課題が見えた。年ごとに検討項目が変わるので、継続的に参加することが大事であり、制度化する必要があるが、まだ、方法の検討段階である。

### 4. 駒瀬感染研究室長（麻疹ウイルス精度管理について）(配布資料 3)

麻疹は全例検査であり、可能な限り地研で検査を実施する。レファレンスセンターにおける IgM ELISA 検査では 90%の正解率であった。麻疹検出用のリアルタイム PCR による検査では、検量線が引けるかどうか、試験法の違いによる特異度の違い、判定保留などの問題に加え、RNA での送付にも大きな課題が認められた。

→WHO から「地研も見たい」といわれている。

→RNA は送付に問題がある。シリコン処理など、工夫が必要である。

### 5. 森本北海道衛研主査（レジオネラ属菌における精度管理調査について）(配布資料 4)

たとえば民間検査で陰性で公的機関検査で陽性などといった場合、精度管理が必要であることから、精度管理調査による検査技術の確認が必要となっている。一方、地研へのアンケート結果から、多くの機関でレジオネラ検査に対し、不安であるという実態がある。研究班で実施してきた調査から、生菌で配布することの困難さが明確になり、昨年度からバイオボールを用いた調査に切り替えた。地研で実施されている方法は多様であり、標準検査法についても検討が必要であることがわかってきている。

→バイオボールの形状、取り扱い方法について説明追加願いたい。

### 6. 勝見仙台市衛生研究所部長（仙台市における感染症検査精度管理について）(配布資料 5)

食品 GLP の導入に伴い、環境、水質、感染症など、検査業務全般に対して GLP 体制を導入した。問題点としては、区分責任者は検査できないためマンパワーが不足すること、SOP 以外の方法では検査しないため検査法が限られること、新しい検査法を取り入れるのに時間がかかること、SOP 以外の検査法による成績書は出せない、機器対応の予算が膨大になっているなど、問題がある。



→感染症には標準法がないが、検査方法は何を根拠にどうやって決めたか？

方法は病原体検査マニュアルなどで決めたが、根拠に乏しく、別の方法では検査しない。してはいけないことになっているので、問題だと感じている。

→逸脱した方法で結果が出た場合には結果は出さないのか？

行政からの依頼検査なので、方法も指定されており逸脱することはない。仮にそのような場合には、成績書はかけない。

#### 7. 吉田感染研主任研究官（ポリオウイルス）（配布資料6）

感染症対策における検査機能強化は国際的な流れとなっている。日本の検査ラボの歴史は、受益者負担に係る分野は財源もあり制度化が進んだのに対し、感染症は保険のみが財源なので、制度化が遅れた。健康危機に対応するために検査体制の強化と信頼性の確保が大事であるが、そのためには日常的に菌を取り扱うことが必要である。

→検査がきちんとできているか、チェックするシステムが無いので、必要だと考える。

#### 8. 木村研究分担者（ノロウイルスの精度管理要綱等について概要説明）（配布資料7）

→他のウイルスを対象とした場合にも利用できるような方法論の作成を希望。

→臨床検体からの検出やウイルス分離なども調査対象に加えるべきでは？

→実施要領の通りに検査すると、試薬代など非常に高くなるので、検査法について一考願いたい

→精度管理はこのような体制の中で行われるので、予算が必要である。行政に説明して確保してほしい。今回は強制参加ではないので、できないと思ったら手を挙げなくても構わない。

#### 9. 石岡研究分担者（サルモネラの精度管理について概要説明）（配布資料8）

いろいろな培地があるから、検査手法を中心に調査したい。病原体発送のところで、システム上のハードルがあって、多検体を送付するのは難しい。

→サルモネラそのものは感染症対象ではないので、手順のところを中心に調査するのはどうか？郵送とか、研修など、検討事項を他に求めるべき。

→北海道は保健所等まで距離が長いため、検体輸送時の温度管理が難しい。

→温度の変化、病原体の性状の変化を一度確認すべきではないか。国連容器使用時には、病原体名を明記することになっているが、それでは精度管理調査にならないと考えられる

→細菌小班は、細かい決め事が必要なため、石岡さんがこれらの意見をまとめて、新しい案を作成し、8月中に一度会議を開催することとなった。

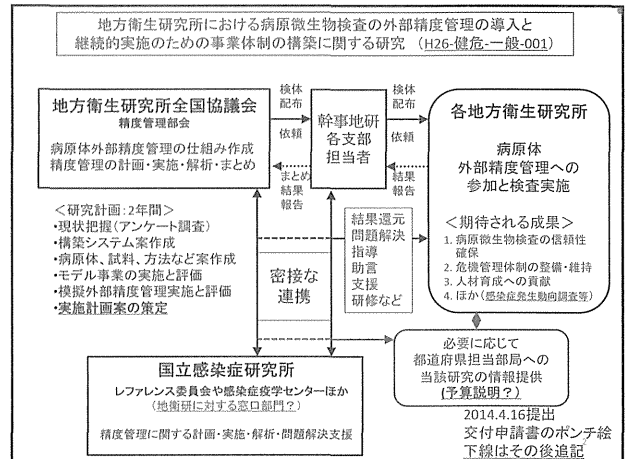
#### 10. 代表者挨拶

早急に「精度管理に関するアンケート」調査票を作成し、配布する予定。その結果を参考に、実施方法を再検討し、次年度は調査を実施する予定。今後ともよろしくお願ひしたい。

平成26年度厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
「地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究(H26-健危-一般-001)」班  
ウイルス・細菌合同小班会議  
7月14日(月)13:30から16:30(予定)  
国立感染症研究所・戸山庁舎・共用第三会議室

プログラム  
1. 挨拶等 (13:30-13:35)  
原田 地域保健専門官(厚生労働省健康局がん対策・健康増進課地域保健室)  
2. 感染症検査における外部および内部精度管理の先行事例等について (13:35-15:10)  
1) インフルエンザウイルス (13:35-13:55) 影山 室長(感染研インフルエンザウイルス研究センター)  
2) 麻疹ウイルス (13:55-14:15) 駒瀬 室長(感染研ウイルス3部)  
3) レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み (14:15-14:35) 森本 主査(北海道衛生研細菌グループ)  
4) 感染症検査精度管理の導入経験 (14:35-14:55) 勝見 部長(仙台市衛生研)  
5) 国内外のウイルス検査室における信頼性確保の概要 (14:55-15:10) 吉田 主任研究官(感染研ウイルス2部)

3. 休憩 (15:10-15:30)  
4. 職員から提出された検討項目集計結果-精度管理実施の案について (15:30-16:00)  
1) ウイルス (15:30-15:45) 木村 室長(感染研感染症疫学センター)  
2) 細菌 (15:45-16:00) 石岡 室長(感染研感染症疫学センター)  
5. 総合討論(16:00-16:30予定) 今後の進め方について  
6. 事務連絡 ほか(17時まで会場は押さえてあります)

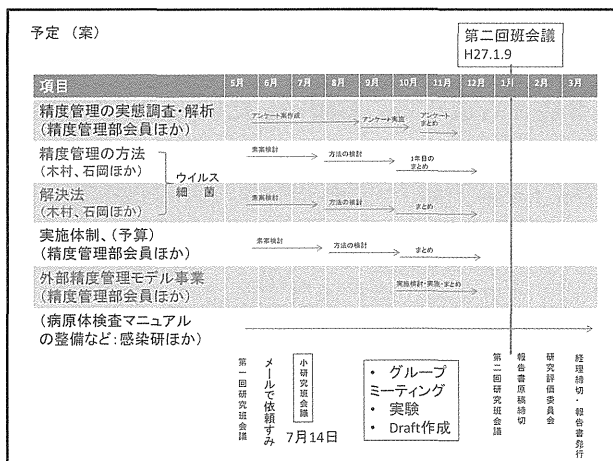


分担表(案) 2014.7.14

担当小グループ	とりまとめ	担当
体制小班 精度管理実施要領(案)作成	佐多(富山) 12名	平田宏(名古屋) 平田輝(福岡) 山本(大阪) 岡野(北海道) 水野(横浜) 末吉(山口) 岸本(岡山) 田原(東京) 倉根・宮崎・大石(感染研)
ウイルス小班 精度管理法・精度管理実施手順(案)および標準検査法(案)作成	小澤(群馬) 12名	木村・野田(感染研) 柴田(名古屋) 貞升(東京) 藤井・岸本(岡山) 塚越・小林(群馬) 佐多(富山) 宮崎・駒瀬(感染研)
細菌小班 精度管理法・精度管理実施手順(案)および標準検査法(案)作成	調(山口) 11名	石岡(感染研) 世良(福岡) 勢戸(大阪) 清水(北海道) 太田(横浜) 四宮(愛媛) 佐多・磯部(富山) 大石・蒲地(感染研)
実態調査(アンケート調査)	佐多(富山)	各小班担当者全員
影山、森本、勝見、吉田 原田、中嶋、福島、梅木		

分担表(案) 2014.7.23

担当小グループ	とりまとめ	担当
体制小班 精度管理実施要領(案)作成	佐多(富山) 12名	平田宏(名古屋) 平田輝(福岡) 山本(大阪) 岡野(北海道) 水野(横浜) 末吉(山口) 岸本(岡山) 田原(東京) 倉根・宮崎・大石(感染研)
ウイルス小班 精度管理法・精度管理実施手順(案)および標準検査法(案)作成	小澤(群馬) 14名	木村・野田(感染研) 柴田(名古屋) 貞升(東京) 藤井・岸本(岡山) 塚越・小林(群馬) 勝見(仙台) 佐多(富山) 宮崎・駒瀬・影山・吉田(感染研)
細菌小班 精度管理法・精度管理実施手順(案)および標準検査法(案)作成	調(山口) 11名	石岡(感染研) 世良(福岡) 勢戸(大阪) 清水・森本(北海道) 太田(横浜) 四宮(愛媛) 佐多・磯部(富山) 大石・蒲地(感染研)
実態調査(アンケート調査)	佐多(富山)	各小班担当者全員
厚労省 原田、中嶋、福島		



- 実施計画(案) 本研究班の成果物として期待(せねばならぬ) 20140714
- 地衛研の精度管理の実態(アンケート調査の解析)  
(地衛研は感染症法に関連する精度管理が必要)  
→ アンケート項目の提出依頼(班員等全員へ):6月20日まで  
→ とりまとめ中、班員に配布し意見聴取予定。
  - 外部精度管理実施要領(案)ないし精度管理実施要綱(案)  
→ 要綱案の素案の項目の提出依頼:6月27日まで  
そしてメール等を利用して立案予定(体制小班)
  - 外部精度管理の適切な方法(実験結果も含む)ないし精度管理実施手順(案)  
→ ウイルス・細菌小班的キックオフ班会議を7月14日に開催  
論点項目の提出依頼:6月27日まで、先行研究班の研究概要と議論  
→ これまで地衛研で行ってきた精度管理に関する研究報告の収集
  - (病原体検査マニュアルの改訂:標準的検査法?優先順位?精度管理?)  
→ 宮崎班?別途?検討開始?
- ○本外部精度管理事業は、地衛研における微生物検査の技術的水準の維持・向上のために、外部精度管理の手法による全国的な仕組みを構築し、地方衛生研究所全国協議会が主体となって、継続的に実施するための体制整備・構築し、その妥当性を評価する
- ○外部精度管理の導入に向けて種々の課題の抽出と整理を行うことを今回の研究目的とする

20140714から今後：  
ウイルス・細菌 小班  
精度管理法・精度管理実施手順(案)および標準検査法(案)作成を目的で課題を抽出

?模擬?外部精度管理?モデル事業? 実施への準備の私案

1. 今回提示されたウイルスと細菌の案についてとりまとめ  
→ なぜ今回の案を実施するの理由を明確に記載。
2. この案について、実施に際して添付するアンケート等の検討(反応や意見を集約)
3. 手順書の各検討項目(?選択枝案)の検討  
→ その手順書案における標準検査法の検討  
→ たとえば、検体作成、送付、検査法、評価・解析法、費用負担、実施時期、など。
4. 研究班で行われる予定の外部精度管理実施案を除く、以後の精度管理案の選択と作成
5. 外部精度管理用試料の検討(病原体毎に異なる?)
6. 対象地衛研の選択案の検討(たとえば、精度管理部会の地衛研、ほか地衛研)
7. その後、結果還元、報告書、問題点の克服の方法(報告会や研修など)
8. コストの見積もり(予算へ向けて)

7

平成26年7月9日 13-16時 国立保健医療科学院  
平成26年度厚生労働科学研究費補助金  
健康安全・危機管理対策総合研究事業説明会

1. 開会
2. FA事務局、関係者の紹介
3. わが国の健康危機管理対策、健康安全・危機管理対策総合研究事業の概要
4. 国立保健医療科学院FAの運営推進体制
5. 健康安全・危機管理対策総合研究事業の概要
6. 事務手続き上の注意事項  
適切な研究費取扱い→不正事案 数十件の処分あり  
交付制限期間の延長、善感注意義務違反にも適用
7. わが国の健康・医療分野における研究開発の動向
8. 健康安全・危機管理研究の発展に向けた意見交換会
9. 質疑応答、閉会

8

旅費についての連絡(富山県の基準です)

会議終了後、東山宛に以下のものをお送りください。

送り先: 939-0363 富山県射水市中太閤山17-1  
富山県衛生研究所所長室 東山宛

電話: 0766-56-5506(代表)

メール: toyamaeiken\_do@vanilla.ocn.ne.jp

\* 写しをメール添付で送っていただき、後程こちらからお送りする旅費精算請求書とあわせて原本を郵送していただいても構いません。

- 航空機ご利用の場合... 搭乗券、領収書(往復料金の内訳を明記したもの)
  - 鉄道で往復割引等ご利用の場合... 領収書
  - 前後に別の会議ご出席の場合... パック旅行の領収書、詳細資料
    - ・ 前泊の場合... 宿泊料、復路運賃をお支払します。
    - ・ 班会議当日泊の場合... 往路運賃をお支払します。
- パック旅行をご利用されなかった場合はお知らせください。

平成26年7月14日 佐多 班会議

## 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) 外部精度管理(EQA)について

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

影山 努

2014, 89, 37-44 No. 475

**World Health Organization**  
Weekly epidemiological record  
Relevé épidémiologique hebdomadaire

Organisation mondiale de la Santé 24 JANUARY 2014, 89th YEAR / 24 JANVIER 2014, 89<sup>e</sup> ANNÉE  
No. 475, 2014, 89, 37-44  
http://www.who.int/wer

**Contents**

37 Detection of influenza virus subtype A by polymerase chain reaction: WHO external quality assessment programme summary analysis, 2013

**Sommaire**

37 Récapitulatif de l'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux de type A par amplification génique, 2013

**Detection of influenza virus subtype A by polymerase chain reaction: WHO external quality assessment programme summary analysis, 2013**

**Introduction**

Global influenza virological surveillance has been conducted through the WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) for over 60 years. Currently 141 institutions in 111 Member States are recognized by WHO as National Influenza Centres (NICs). The laboratory network also comprises 6 WHO Collaborating Centres, 4 WHO Essential Regulatory Laboratories and ad

**Récapitulatif de l'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux de type A par amplification génique, 2013**

**Introduction**

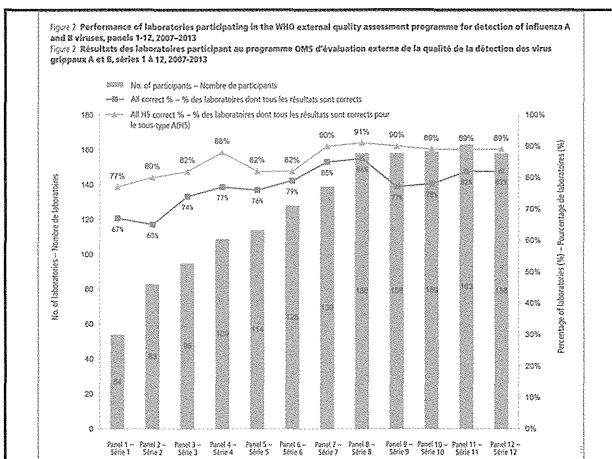
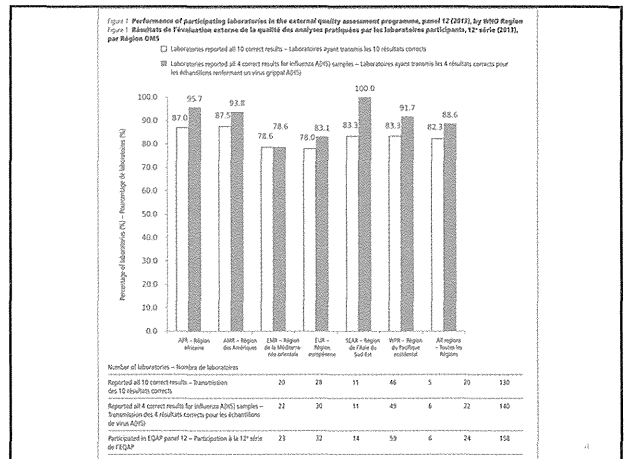
Depuis plus de 60 ans, le Système mondial OMS de surveillance de la grippe et de riposte (GISRS) assure la surveillance virologique de la grippe au niveau mondial. On compte actuellement dans 111 États Membres 141 institutions reconnues par l'OMS comme Centres nationaux de la grippe (NICs). Le réseau de laboratoires comprend aussi 6 centres collaborateurs de l'OMS, 4 Laboratoires essentiels de réglementation et des groupes spéciaux mis en

Table 1. Panel composition and results of the WHO external quality assessment programme of National Influenza Centres and other laboratories for detection of influenza A and B viruses, panel 12 (2013).

Tableau 1. Composition de la série et résultats de l'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux A et B par les centres nationaux de la grippe et autres laboratoires, 12<sup>e</sup> série (2013).

Influenza viruses - Virus grippaux	Strain/Clade# - Souche/Clade#	Sample number - Nombre de l'échantillon	Copies/µl* - Copies/µl*	No. (%) of laboratories correctly identifying sample (n=152) - Nombre (%) de laboratoires identifiant correctement l'échantillon (n=152)
A/IS05/11	2.3.2.1	V01-2013	7.62	145 (95.4)
A/IC/01/11	2.3.2.1	V04-2013	7.27	144 (95.4)
A/IS/01/11	2.3.2.1	V05-2013	1.13-1.10 <sup>†</sup>	153 (96.7)
A/IS/01/11	2.3.2.1	V10-2013	9.21-4.10 <sup>†</sup>	152 (96.2)
A/WH/10/09/09*	A/California/7/2009 like virus - Virus analogues à A/California/7/2009	V09-2013	6.81-1.10	154 (97.5)
A/WH/02/11	A/Victoria/361/2011 like virus - Virus analogues à A/Victoria/361/2011	V07-2013	3.79-4.10	155 (98.1)
A/WH/02/11	A/Hong Kong/193/2009	V06-2013	8.63	153 (96.2)
Influenza B - Grippe B	B/ribnane/50/2009 like (Victoria) (Brisbane/10/2009) like virus - Virus analogues à B/ribnane/50/2009 (Victoria) (Brisbane/10/2009) like (Victoria)	V02-2013	6.94-4.10	153 (96.8)
Influenza B - Grippe B	B/Wisconsin/02/99 like (Dinagata) (Brisbane/10/2009) like virus - Virus analogues à B/Wisconsin/02/99 like (Dinagata) (Brisbane/10/2009) like (Dinagata)	V08-2013	3.68-1.10	151 (95.6)
Negative - Négatif	NA - NA	V03-2013	NA - NA	154 (97.5)

\* The nomenclature of A/WH/10/09/09 was based on the HA gene. For additional information, see [http://www.who.int/influenza/laboratory\\_network/whn09n10/](http://www.who.int/influenza/laboratory_network/whn09n10/).  
 † Reported by real-time RT-PCR using a range of concentrations and 27°C - Mesuré par PCR en temps réel après 3 jours de conservation à 27°C.  
 ‡ With nucleotide change detected (32213) in the HA gene at 10774 amino acid substitution resulting with highly reduced reagent:substance ratio but by polymerase - Avec détection de la modification nucléotidique (32213) sur le gène HA résultant d'un substituer de 10774 acides aminés à une forte réduction de l'ratio réactif:substance par l'amplification. NA, Not applicable - NA, Sans objet.



## WHOのEQA

- 各国地域のNICが対象
- 不活化ウイルス10サンプル
- ウイルスRNAの検出および型・亜型同定を行う
- 薬剤耐性株のスクリーニング
- 検査方法の指定はない(WHOマニュアル、in house、市販キット、CDCキット、etc.)
- 問題があるかどうかを把握できるが、トラブルシューティング(原因の特定は難しい)

## EQAの意義について

データに関する信頼性の維持・向上のための品質保証体系で基本的には誤差要因の解析とそれを取り除くことを目的とする。

- 検査精度の客観的な評価
- トラブルシューティング
- 検査精度の向上

(検査成績のランク付けが目的ではない)

## 新型インフルエンザ対策行動計画の改定について

### ◆背景・目的

平成21年に発生した病原性の低い新型インフルエンザ(A/H1N1)への対応を通じて得られた多くの貴重な知見や教訓を踏まえるとともに、病原性の高い新型インフルエンザが発生した場合でも適切な対応が図れるよう新型インフルエンザ対策行動計画の改定が行われた。

### ◆検討経緯

2010年 6月10日 新型インフルエンザ(A/H1N1)対策総括会議 報告書 公表  
2011年 2月28日 新型インフルエンザ専門家会議 見直し意見 公表  
2011年 8月15日 新型インフルエンザ及び鳥インフルエンザ等に関する関係省庁対策会議(局長級) 改定案決定  
2011年 9月20日 新型インフルエンザ対策関係会議  
(新型インフルエンザ対策閣僚会議において新型インフルエンザ対策行動計画の改定を決定)

## 「新型インフルエンザ対策行動計画」の改訂 (平成23年9月20日)

### 5.サーベイランスに関するガイドライン(新設)について ウ.新型インフルエンザ発生時に強化するサーベイランス

#### (イ)ウイルスサーベイランス

##### ① 目的

新型インフルエンザ発生時には、平時から行うウイルスサーベイランスに加え、患者発生サーベイランスにおける全数把握患者及び学校サーベイランス等でのウイルス検査を実施することで、インフルエンザウイルスの型・亜型、抗原性、抗インフルエンザウイルス薬への感受性等を調べることで、診断・治療等に役立てる。

##### ② 実施方法

患者発生サーベイランスにおける全数把握患者及び学校サーベイランス等でのウイルス検査を原則として地方衛生研究所にて実施する。検査する検体数については、地域の実情に応じて可能な限りにおいて行う。

## 6.医療体制に関するガイドラインについて

### (1)発生前から進めるべき医療体制の整備

#### ウ. 検査体制の整備

##### (ア)検査体制の整備

- 国は、新型インフルエンザに対する迅速診断キットの開発を支援する。
- 国は、都道府県等に対し、地方衛生研究所における新型インフルエンザに対するPCR検査等を実施する体制を整備するよう要請し、その技術的支援を行う。

## 精度管理

内部精度管理  
(施設内精度管理)  
Internal Quality Control (IQC)

施設内部で精度管理を行うこと

標準試料(既知濃度)を用いた繰り返し測定によって測定値が許容範囲に含まれているかどうかを確認する

外部精度評価  
(施設間精度管理)  
External Quality Assessment (EQA)

他施設と比較して検査技術・正確度を評価すること

個々の検査施設を対象に共通条件のもとに広域で測定結果を調査する

## リアルタイムRT-PCR法を用いた インフルエンザウイルス核酸検出検査の精度管理

- 検体からのRNA抽出について(試薬・方法)
- rRT-PCRについて(試薬・装置)
- rRT-PCRの検出感度・特異性について
- 検査室で生じる問題(操作ミス・コンタミ・記載ミス、技量の違いなど)
- 検査結果の解釈の違いなど

M遺伝子:A型  
NS遺伝子:B型  
HA遺伝子:H1, H1pdm, H3, H5, H7  
(Primer/Probe配列、反応試薬は共通)

目次

インフルエンザ診断マニュアル  
(第2版)

(平成24年3月)

Part I インフルエンザおよびインフルエンザウイルス検査法の概要

1. 概要 4
2. 対応するインフルエンザウイルス 4
3. 臨床検査 5
4. 検査の進め方 5

Part II ウイルス分離と検定

1. インフルエンザウイルス分離のための臨床検体 8
2. ウイルス分離検体の検定方法 8
3. 培養検定法によるインフルエンザウイルスの分離 8
4. 顕微鏡を用いたインフルエンザウイルスの検定 13
5. 免疫検定法(ELISA)によるインフルエンザウイルスの検定 17
6. ウイルス遺伝子増幅法によるインフルエンザウイルスの検定 21
7. 迅速診断のためのインフルエンザウイルスの検定 24

Part III インフルエンザウイルスの遺伝子解析

1. 遺伝子解析の意義 28
2. 遺伝子解析の手法 28
3. 遺伝子解析のデータベース 28

Part IV インフルエンザの疫学

1. 流行の発生 31
2. ウイルス変異と流行の発生 31

Part V 最新のインフルエンザウイルスの検定

1. 最新鋭検査法の概要
  - A. NA遺伝子増幅法を用いた遺伝子解析による検定 39
  - B. Real-time RT-PCR法による遺伝子解析による検定 41
2. 最新鋭検査法の概要
  - A. M2NA遺伝子を用いた遺伝子解析 66
  - B. NA遺伝子増幅法を用いた遺伝子解析 68

目次

高病原性鳥インフルエンザ  
診断マニュアル  
(第3版)

(平成24年3月)

Part I 高病原性鳥インフルエンザの概要

1. 高病原性鳥インフルエンザの概要 3
2. 検査の進め方 4
3. 検定方法の概要について 4

Part II ウイルス検査

1. インフルエンザウイルス検査の概要 10
2. ウイルス検査の概要 10
3. 臨床検体からウイルス検査のためのウイルス分離 12
4. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
5. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
6. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
7. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
8. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
9. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
10. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
11. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
12. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
13. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
14. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
15. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
16. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
17. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
18. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
19. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
20. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
21. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
22. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
23. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
24. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
25. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
26. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
27. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
28. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
29. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12
30. ウイルス遺伝子増幅法によるH5N1ウイルスの検定 12

目次

鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルス  
検出マニュアル  
(第2版)

(平成24年6月更新)

1. 臨床検体またはウイルス培養検体のRNAの抽出(※) 3
2. リアルタイム RT-PCR法による鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスの検定 4
3. Genescreen法による鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスの検定 4
4. 別検体としたH7N9遺伝子コントロール(検出用)の使用について 8
5. RT-LAMP法による鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスの検出方法(※) 13

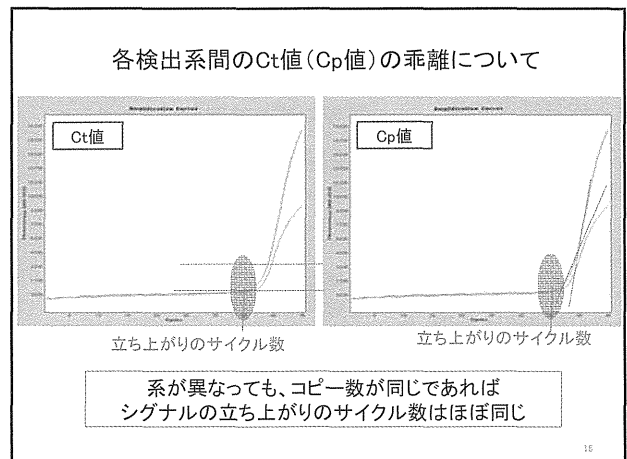
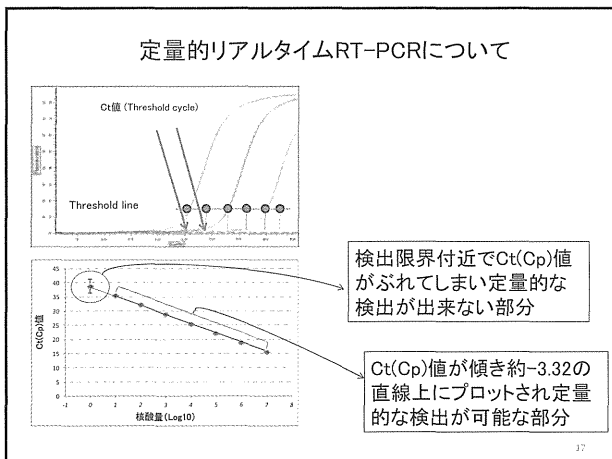
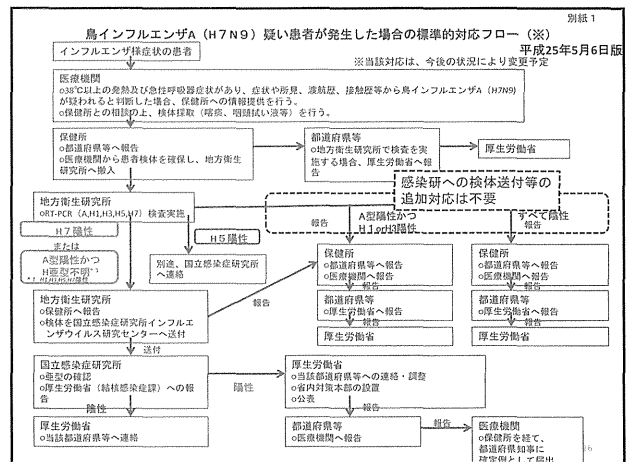
※1. 検出限界

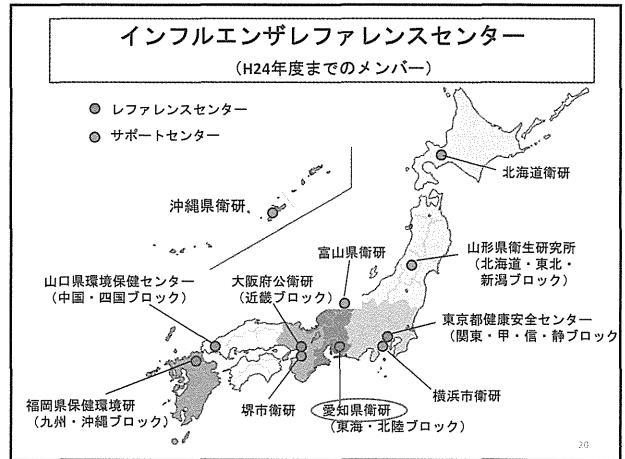
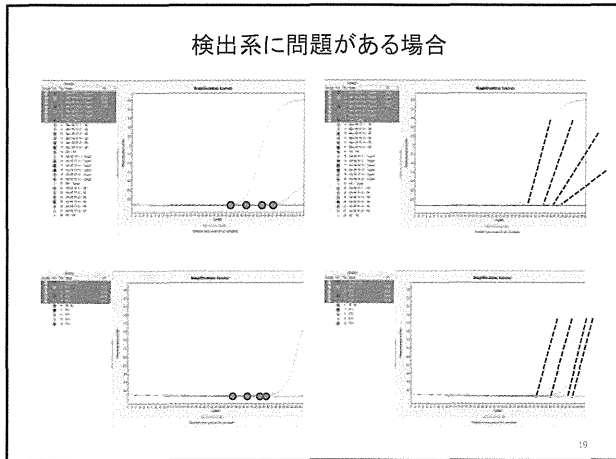
※2. RT-LAMP法による鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスの検出方法(※)

※3. RT-LAMP法による鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスの検出方法(※)

※4. RT-LAMP法による鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスの検出方法(※)

※5. RT-LAMP法による鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスの検出方法(※)





### これまでのEQAについて

年月	参加地衛研	パネル
～2011年9月	11 (コア・サポート)	1. H5陽性コントロール 2. 未知7検体 3. RNA抽出チェック 2検体
～2012年12月	11 (コア・サポート)	1. 未知4検体(RNA抽出不要) 2. 未知6検体(要RNA抽出)
～2013年12月	74	1. H5陽性コントロール 2. H7陽性コントロール

- ### 実施要項
- 実施スケジュール  
・測定期間： パネル検体到着日～平成23年9月30日
  - パネル検体
    - ① 亜型同定用RNA: 未知濃度のウイルスRNA 7検体
    - ② 不活化ウイルス: 濃度の異なるA/California/7/2009ワクチン株2検体  
陰性検体 1検体
    - ③ 標準RNA: A/H5N1 CL2.3.2北海道株由来RNA

他、標準RNA希釈用に希釈用チューブ、希釈用蒸留水、チップ (P200用: MBP社 ARTフィルターチップ ART 200U を1箱(96本入り)) を配布
  - パネル検体到着時の注意事項  
輸送容器からパネル検体を取り出す際は、ドライアイスの残存および検体の凍結状態を確認し、検体が融解しないように素早く-70度以下に保存。検体到着時の状況及び保管状況は「アンケート記入シート」に入力。
  - 各地衛研で行っている試験方法等についてをアンケートに回答。
- 各パネル検体を11カ所のコア・サポート地衛研に配布

- ### 実施方法
- ① (未知濃度のウイルスRNA 7検体)に対する亜型同定検査を各地衛研のSOPに従って実施し、各検体のCt(Cp)値の算出し、亜型同定を行う。
  - ② (不活化ウイルス)より、各地衛研のSOPに従ってRNAの抽出を行い、抽出したRNAを用いて、Type A(M遺伝子)およびH1pdm09 (HA遺伝子)のCt(Cp)値の算出を行う。
  - ③ (標準RNA)より10倍階段希釈液の作製を行い、各地衛研のSOPに従ってType A(M遺伝子)およびH5亜型(HA遺伝子)の検出を行い、各希釈列のCt(Cp)値の算出を行う。

参加地衛研数: 11  
のべ検査回数: 27 (最小1回、最大6回)

①亜型同定用RNA抽出液 間違ったり検出できない例もあった

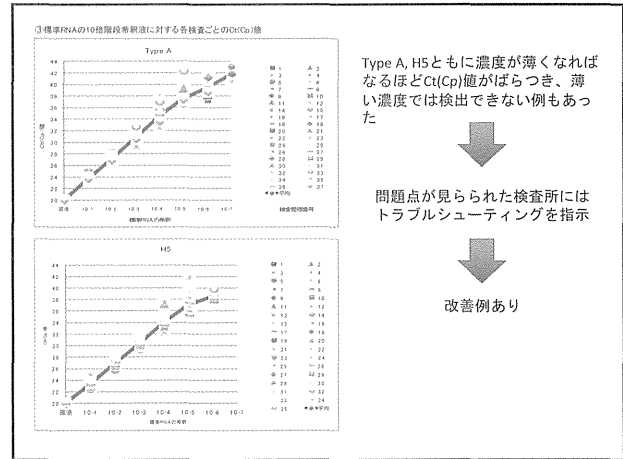
サンプル名	RNA液希釈液	地衛研数 (検出率)
A 1.5mL チューブ (赤)	H1pdm	11/11 (100%)
B 1.5mL チューブ (青)	H1pdm (Aの10-3希釈)	11/11 (100%)
C 1.5mL チューブ (白)	H3	11/11 (100%)
D 1.5mL チューブ (黄)	H3 (Cの10-3希釈)	10/11 (91%)
E 1.5mL チューブ (緑)	DW	9/11 (82%)
F 1.5mL チューブ (橙)	H5	11/11 (100%)
G 1.5mL チューブ (黒)	H5 (Fの10-2希釈)	9/11 (82%)

	サンプル A-G 検出の正答率	判定できなかった理由	地衛研数
最初の検査で	7/7 (100%)		4
結果判定	6/7 (85.7%)	亜型を同定できなかった	2
	6/7 (85.7%)	陽性を陽性または判定不能と判断	2
他の方法と合わせて	7/7 (100%)		1
結果判定	7/7 (100%)		1
1回以上の再検査を	6/7 (85.7%)	亜型を同定できなかった	1
行って	6/7 (85.7%)	陽性を陰性と判断	1
結果判定	6/7 (85.7%)		1

② RNA抽出効率の差違 地衛研間でのばらつきはほとんどなかった

RNA抽出時のRNA濃縮率(倍)	サンプル使用量/抽出量(μL)	地衛研数
4	200/50	2
3.1	200/65	1
2.3	140/60	6
2	200/100	1
2	140/70	1



### これまでのEQAについて

年月	参加地衛研	パネル
～2011年9月	11 (コア・サポート)	1. H5陽性コントロール 2. 未知7検体 3. RNA抽出チェック 2検体
～2012年12月	11 (コア・サポート)	1. 未知4検体(RNA抽出不要) 2. 未知6検体(要RNA抽出)
～2013年12月	74	1. H5陽性コントロール 2. H7陽性コントロール

- ### 実施要項
- 実施スケジュール
    - 測定期間: パネル検体到着日～平成24年12月7日
  - パネル検体
    - ① RNA抽出が不要な4検体(既に核酸抽出済み)
    - ② RNA抽出が必要な6検体
      - ・H5N1感染疑いの検体が含まれるという前提で検査を行う
      - ・最初の検査は同時に10検体について必ずType A検査を入れて行う
  - パネル検体到着時の注意事項
    - ・ドライアイスが残存および検体の凍結状態を確認する
    - ・使用時まで-70度以下に保存する
  - アンケート回答・結果記入

サンプル名	型・亜型	濃度 (copies/μl)	各施設の H5 検査 SOP による同定数 (同定率)	再検査・追加検査 同定数/実施数 (最終同定率)	
A B C D	RNA 抽出液 (そのまま反応に使用)	H5N1	1.0 × 10 <sup>6</sup>	11/11 (100%)	
		H5N1	1.0 × 10 <sup>3</sup>	11/11 (100%)	
		H5N1	1.0 × 10 <sup>2</sup>	11/11 (100%)	
		H5N1	10	9/11 (82%)	1/1 (91%) *
E	不活化ウイルス及び RNA 抽出液 (RNA 抽出後使用)	H1N1pdm	1.0 × 10 <sup>5</sup>	11/11 (100%)	
		TypeB	1.0 × 10 <sup>2</sup>	下記参照	
F G	不活化ウイルス及び RNA 抽出液 (RNA 抽出後使用)	H3N2	4.3 × 10 <sup>3</sup>	11/11 (100%)	
		Opti-MEM	—	11/11 (100%)	
H I J	不活化ウイルス及び RNA 抽出液 (RNA 抽出後使用)	TypeB	1.0 × 10 <sup>5</sup>	下記参照	
		H1N1pdm	50	10/11 (91%)	1/1 (100%) **
		H3N2	43	10/11 (91%)	1/1 (100%) ***

\* 1 台目の機械では TypeA(+), H5(-)で判定保留。2 台目の機械で同定

\*\* TypeA(+), H1pdm(-)で判定保留。2 回目の検査で同定

\*\*\* TypeA(+), H2(-)で判定保留。real-time PCR 法以外の方法により同定

サンプルの取り違いによる判定違いや、コンタミネーションによる偽陽性はなかった。

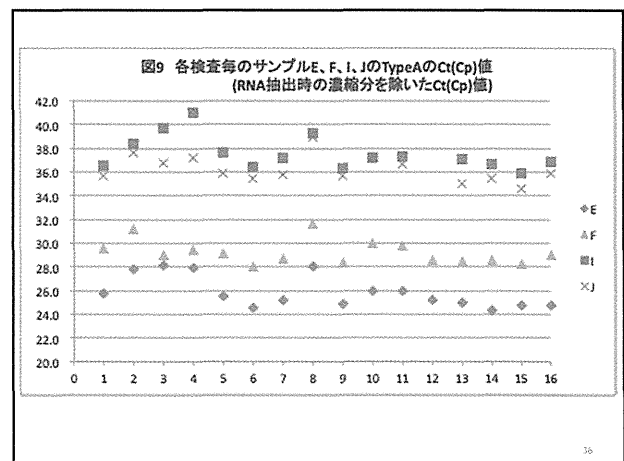
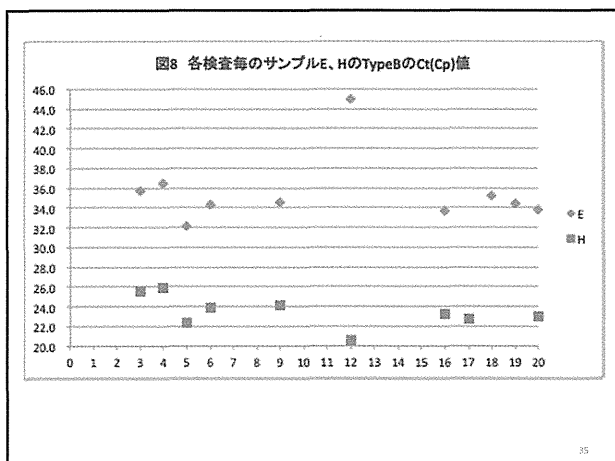
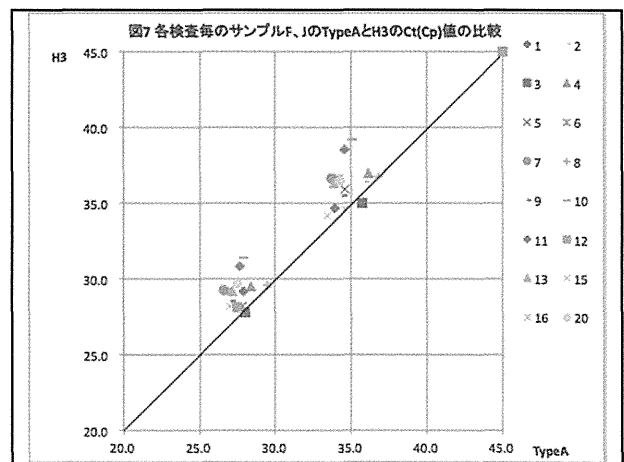
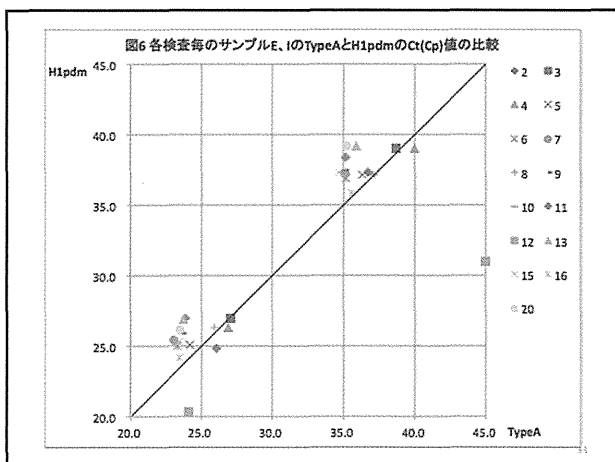
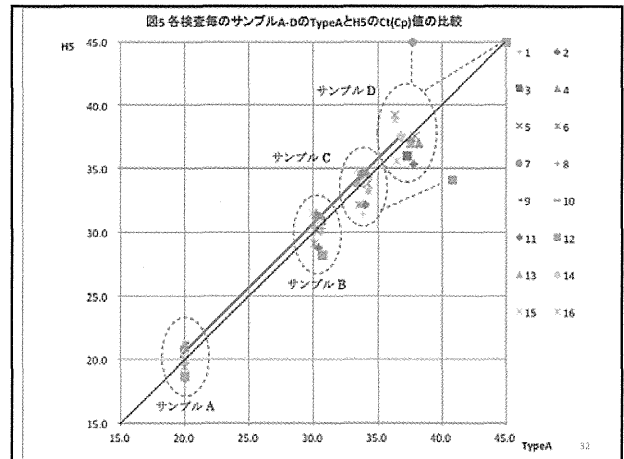
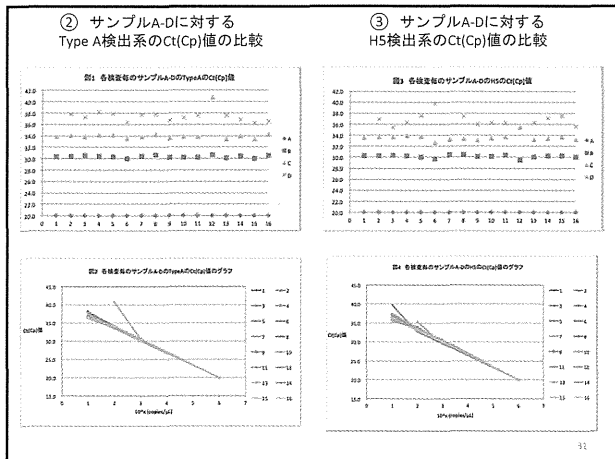
### 今回の EQA における TypeB に対する検査実施内訳

TypeB に対する検査の実施について	地衛研数
全ての検体に対して実施	6
一部の検体に対して実施	1
今回は実施せず	4

### TypeB の同定率

	サンプル E	サンプル H
同定率	5/6 (83%)	7/7 (100%)





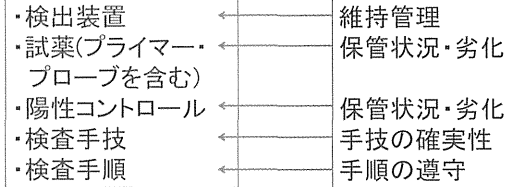
### これまでのEQAについて

年月	参加地衛研	パネル
～2011年9月	11 (コア・サポート)	1. H5陽性コントロール 2. 未知7検体 3. RNA抽出チェック 2検体
～2012年12月	11 (コア・サポート)	1. 未知4検体(RNA抽出不要) 2. 未知6検体(要RNA抽出)
～2013年12月	74	1. H5陽性コントロール 2. H7陽性コントロール

47

H25年度は全国規模EQAの試行という位置づけ  
→ なるべくシンプルに

配布済み陽性コントロールのみを利用した精度管理



35

### その背景として

診断マニュアルのH5およびH7亜型検査プライマー・プローブ配列、試薬、反応条件は、一定の検出感度・特異性については担保

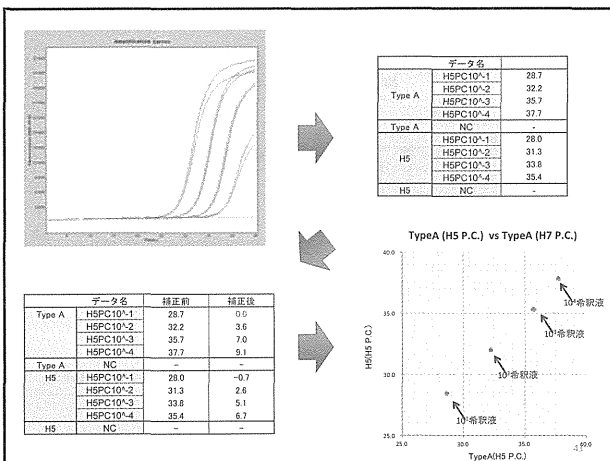
診断系に問題があった際は、検出装置、試薬(プライマー・プローブを含む)、手技等のどこに問題があるのか、原因追究が比較的容易に行えるのではないかと

39

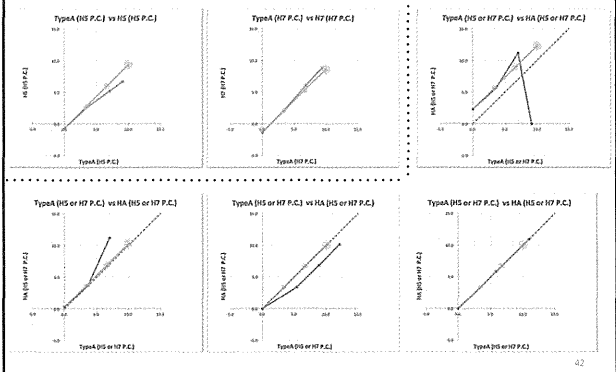
### 実施要項

- 実施スケジュール  
実施要項配布: 平成25年9月11日  
測定期間: ～平成25年10月31日
- パネル検体  
① TypeA/H7 (マーカー入) 陽性コントロールRNA (平成25年7月に配布)  
② TypeA/H5 (マーカー入) 陽性コントロールRNA: (平成24年9月に配布)  
③ 各所で使用している陰性対象 (滅菌蒸留水等)
- 測定方法  
・  $10^{-1}$  ～  $10^{-4}$  までの10段階希釈液を製作する  
・ TypeAとH5, TypeAとH7のリアルタイムRT-PCR法、各サンプルのCt (Op)測定
- 結果記入・アンケートへの回答  
・ 試薬調製手順  
・ キットなど詳細および陽性コントロールの希釈に使用した試薬および器具

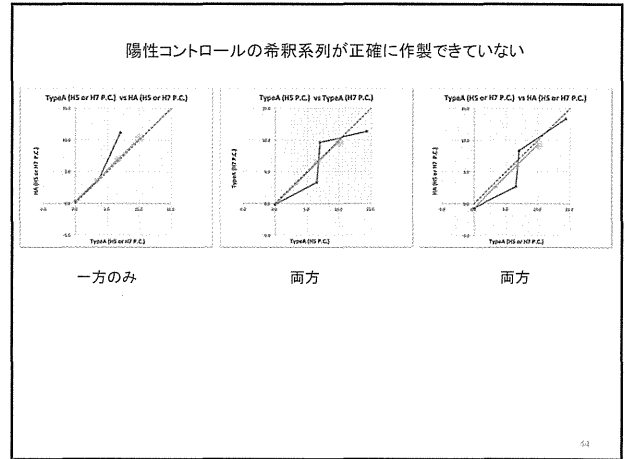
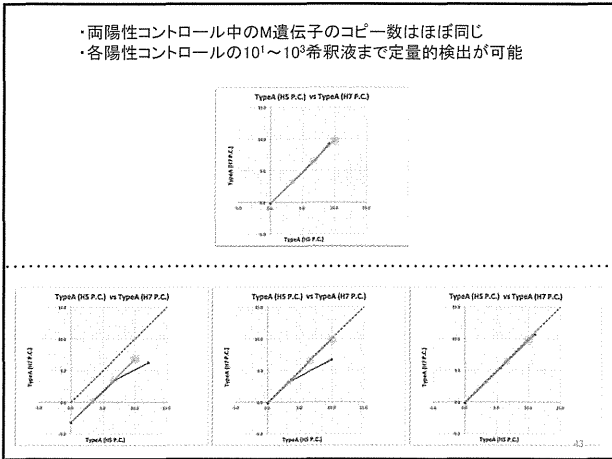
40



・各陽性コントロール中のMおよび各HA遺伝子のコピー数はほぼ同じ  
・各陽性コントロールの $10^1$ ～ $10^3$ 希釈液まで定量的検出が可能

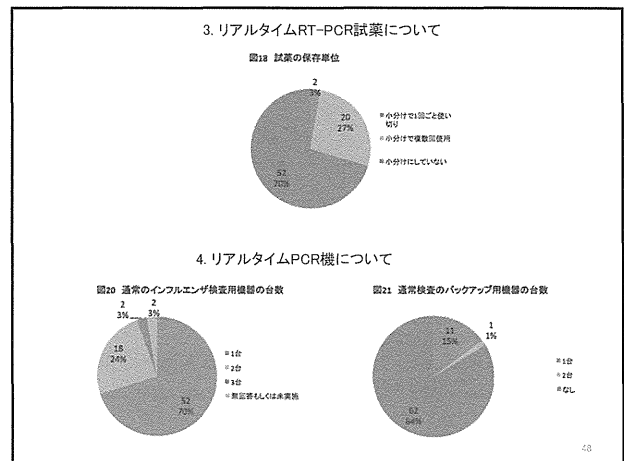
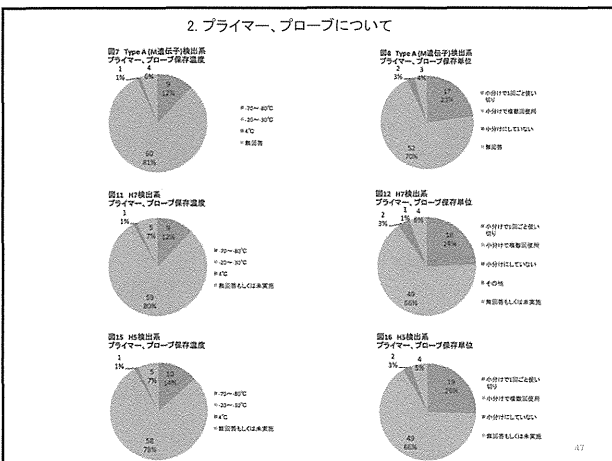
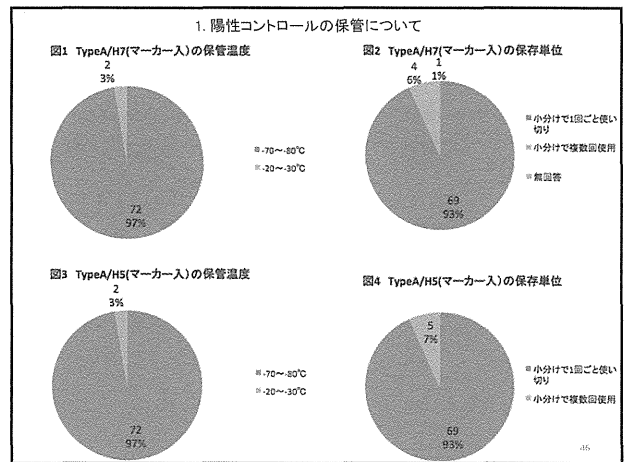


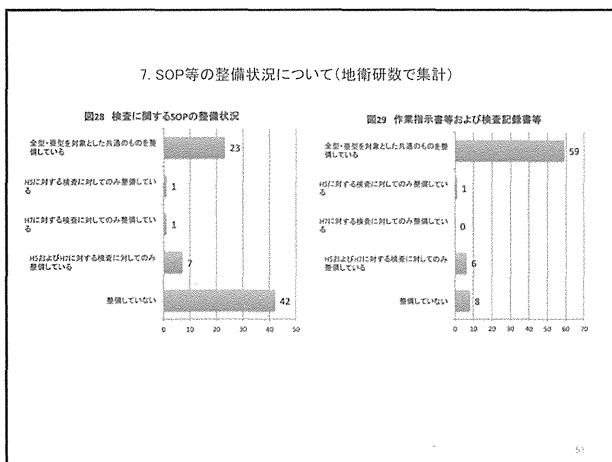
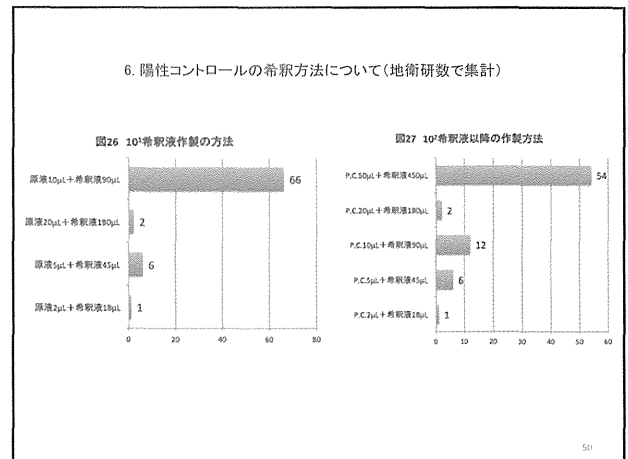
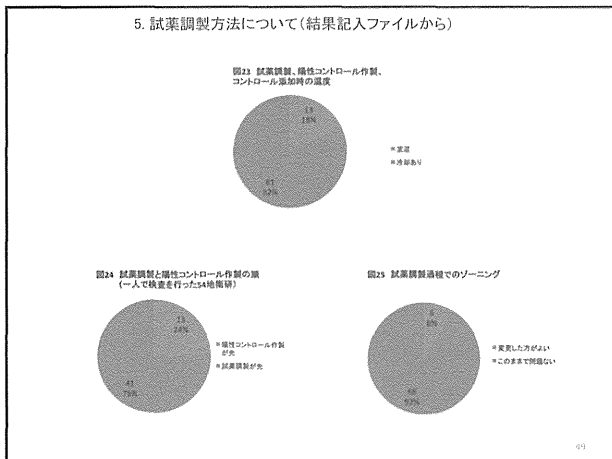
42



EQA時に行ったアンケート集計

76カ所





EQA後に行ったアンケート集計  
53力所より回答をいただきました

