

今後の課題(ウイルス検査精度管理)

1. 基準値範囲外のデータに関する詳細な解析が必要である。  
(追加調査実施中)
2. ピペティング技術、精度の高いPCR検査実施のための技術  
研修導入が必要である。
3. 機器保守点検などに関する制度確立が必要である。

43

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  
(細菌検査部門について)  
国立感染症研究所  
感染症疫学センター第五室  
石岡 大成  
2015.01.09

平成26年度  
地衛研外部精度管理(細菌検査)実施状況

平成26年度課題  
地衛研精度管理体制(細菌検査)の構築  
・精度管理対象病原体: 平成26年度はサルモネラ属菌  
・菌種に応じた精度管理実施要領の作成(平成26年度はサルモネラ属菌のみ)  
・サルモネラ属菌検査に関する標準的な精度管理実施手順の作成(検査結果報告書、検査経過記録書などの様式を含む)  
・検体管理簿の作成(試料の受領から廃棄まで)  
各地衛研における精度管理(細菌検査)に関する現状調査  
・精度管理に関するアンケートの実施

外部精度管理実施方法  
・対象: 地方衛生研究所全国協議会加盟機関  
→ 本研究班を構成する機関(11機関)  
・実施形態: 参加希望調査の上検討  
・実施時期: 平成26年12月～  
検体発送日12/5および12/8  
・搬送方法: ゆうパック(チルド便)を利用し、臨床検体(病原体)として感染研村山庁舎から発送  
・実施方法: 精度管理実施要領、精度管理実施手順または各機関で実施している方法に準じて実施した

細菌検査精度管理用試料作製(1)  
・材料: 人由来糞便(胃腸炎患者を想定)  
・対象病原体: サルモネラ属菌  
添加血清型:  
*Salmonella* Infantis (鶏肉由来)  
*Salmonella* Cerro (鶏盲腸便由来)  
両血清型とも食肉衛生検査所から分与

細菌検査精度管理用試料作製(2)  
人由来糞便の選定  
・食中毒事例において地衛研で検査対象とされている病原細菌(サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌、カンピロバクターなど)およびノロウイルスが陰性であることが確認できた糞便を選択した  
・上記糞便群の中で、予備実験で実際にサルモネラ属菌が安定して添加回収できる糞便を選択した

### 細菌検査精度管理用試料作製(3)

サルモネラ属菌の調整  
*S. Cerro* および *S. Infantis* を平板培養  
 ↓  
 McFarland 1に菌液を調整して段階希釈  
 ↓  
 選択糞便に定量的に添加、混合  
 ↓  
 平板(DHL)における発育状況を観察  
 ↓  
 添加量を決定(便1gあたり $10^5$ cfuとした)  
 これを試料1とした(試料2は無添加)

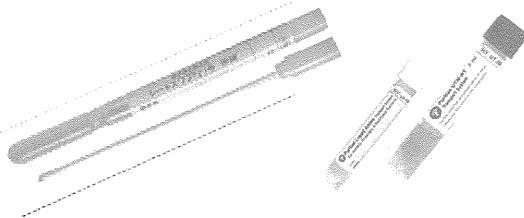
### 細菌検査精度管理用試料作製(4)

送付用(採便)容器の選択  
 ・採便容器は緩衝液(剤)入りプラスチック容器が主  
 ・付属または指定の綿棒スティックで採取  
 ・便の表面の複数箇所を採取  
 ・便中では腸内細菌、プロテアーゼで分解されやすいので、すみやかに冷所に保存する  
 ・長時間になる場合は凍結保存する

(臨床検査新興協議会より)

### 細菌検査精度管理用試料作製(5)

送付用(採便)容器の決定  
 ・シードスワブ(栄研化学社)・・・固形培地  
 ・LAHTransportシステム(ピューリタン社製)・・・細菌採取・輸送用液体培地



### 精度管理試料の送付方法

感染研からの送付の前に・・・  
 ・バイオセキュリティ管理室との交渉および申請書類の煩雑性

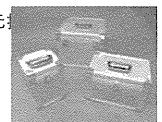
ゆうパックを使用

- 1 一次容器  
シードスワブを使用(パラフィルムでシール)
- 2 二次容器、三次容器、四次容器(OVERPACK)  
カテゴリ-B容器を用いて、吸収剤、緩衝材で固定

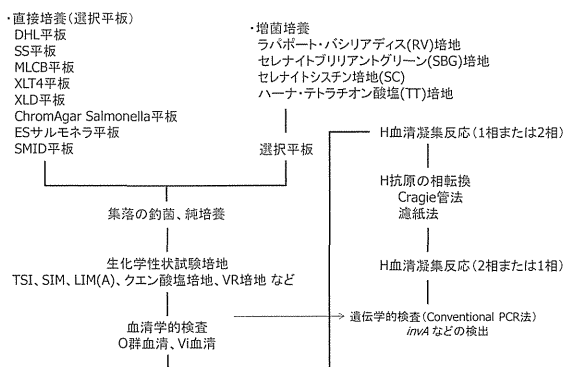


- 3 試料の発送と空容器返却  
 発送: 国立感染症研究所 村山庁舎からクール便(元)

返却: 各地衛研から普通便で送付(着払い)  
 (参考)  
 平成26年度実績(運賃のみ)  
 感染研村山庁舎 ↔ 11機関(往復で約 3万円)



### 試料からのサルモネラ属菌分離培養検査フロー



### 結果について

- ・検査結果報告書(様式1)、検査経過報告書(様式2)または各機関で使用している様式を使用してe-mailで報告
- ・報告内容として、検出結果の他、増菌培地、選択平板の使用状況および組み合わせ、使用試薬名およびメーカー、機器使用の場合は当該機種およびメーカーなど



### 生化学性状試験使用培地状況

TSI および LIM	11機関
シモンズクエン酸塩培地	5機関
マロン酸塩培地	6機関
VP培地	4機関
酢酸塩培地	2機関
ズルシット培地	1機関
ウレア(尿素培地)	1機関
酒石酸培地	1機関

### 使用簡易キット一覧

5機関で簡易キットを使用

・ IDテスト(ニッスイ)	2機関
・ api 20E (バイオメリュー)	2機関
・ 不明	1機関

### 結果 (1)

試料からのサルモネラ検出結果

	試料 1	試料 2
陽性機関数	11	0
陰性機関数	0	11
計	11	11

### 結果 (2)

試料1から検出されたサルモネラの血清型

	<i>Salmonella</i> Cerro*のみ	<i>Salmonella</i> Infantisのみ	<i>Salmonella</i> Cerro* / Infantis
分離 機関数	3	0	8

\* 推定およびO血清、H血清凝集パターンの表記を含む

### サルモネラ血清型抗原表

Type	Antigenic formulas		
	Somatic (O) antigen	Flagellar (H) antigen	
		Phase 1	Phase 2
Group O:7 (G1)			
Infantis	6, 7, 14	r	1, 5
Group O:18 (K)			
Cerro	6, 14, 18	Z <sub>4</sub> , Z <sub>23</sub>	[1, 6]
Aarhus	18	Z <sub>4</sub> , Z <sub>23</sub>	Z <sub>34</sub>
II	18	Z <sub>4</sub> , Z <sub>23</sub>	—
IIIa	18	Z <sub>4</sub> , Z <sub>23</sub>	—

Kauffmann-White scheme  
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Second Edition) より抜粋

### 検討課題

- ・ 細菌検査精度管理実施要領の改訂
- ・ 他の添加菌種の検討および菌株の入手方法
- ・ 試料の作製について(臨床検体、菌株)
- ・ 試料送付方法
- ・ 試料送付に関わる送料および
- ・ 対象参加機関のおよび実施時期

6) 地方衛生研究所における感染症検査に係わる  
精度管理実施要綱(案)作成について  
(体制小班) 佐多徹太郎

そして?-3

V.3 (20150109)

➢ 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検減を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、そのシステムの構築要素として外部精度管理は重要であると思われる。

➢ 精度管理「事業」の実施により、検査精度の不備が指摘され、そのことにより本庁の主幹課に対し、検査精度向上のための予算獲得・確保や人員配置、異動への配慮などを要求する材料とするなど、庶務につながられるような事業として展開できれば、大きな意義が得られると考えます。つまり、所属内で完結・解決することにも一定の意気はありますが、厚生労働者の理解を得た上で、地衛研を所管する主幹課にも必要性を認知してもらい、「事業として適切・実施していただくことにより、広く次へ繋がる精度管理「事業」を実施することができるのではないだろうか。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。

平成6-8年 地域保健対策総合研究事業 H6.1994+H6.1996  
「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」  
研究代表者 衛藤繁男(神奈川県衛生研究所)

概要: 地衛研を対象とした外部精度管理を実施して方法論を確立し、また内部精度管理の導入と推進を図る。さらに外部精度管理事業を恒常的に実施するために必要な組織とその活動について検討し、システムの構築について提言をまとめる(原文)。

目的と必要性: 精度管理を試行することで検査情報、レファレンス、研修等が有機的に結合して一体となったシステムを構築することが必要(まとめる)。

これまでの研究状況: H3-5特別研究事業「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」で、実態把握し外部精度管理調査を実施し、内部精度管理マニュアルが提言の形でまとめられた。(以下略)

研究計画:

1. 外部精度管理調査の実施方法の検討と、実施。
2. 精度管理を支援するためのレファレンスや研修に関する組織と活動の検討。
3. 内部精度管理マニュアルの作成と実施(以下略)

結果等: 微生物系(10種の細菌、4種のインフルエンザウイルス、5種の寄生動物の検出と同定)、理化学系(食品や水道の化学物質)を配布。

はじめの試みで画期的。試料の安定性が大事、結果はほぼ満足、試験の未実施や同定が不完全なところもあった。恒常の実施体制整備が課題。(H6報告書)

厚生科学研究費補助金(保健医療福祉地域総合調査研究事業) 衛藤班1  
「地方衛生研究所の機能強化に関する研究」分担研究  
「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」  
分担研究者 衛藤繁男(神奈川県衛研) H9(1997)年3月(最終年度)

目次

1. 分担研究報告書	1
2. 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	5
3. アメリカ合衆国における Public Health Laboratories の役割と精度管理システム	9
4. 外部精度管理調査(総括)	51
5. 外部精度管理調査「微生物部門: 細菌系」	56
6. 外部精度管理調査「微生物部門: 寄生動物系」	79
7. 外部精度管理調査「理化学部門: 食品添加物」	85
8. 外部精度管理調査「理化学部門: 農薬」	94
9. 内部精度管理マニュアル作成(総括)	109
10. 内部精度管理の進め方と留意点(微生物部門)	111
11. 内部精度管理の進め方と留意点(理化学部門)	119
12. 業務管理文書作成のための一般考案方	123
13. 標準作業書作成のための標準作業書(案)	127
14. 寄生動物に対する抗体測定に用いる ELISA のための標準作業書(案)	131
15. 総括	135

資料

1. 外部精度管理調査資料  
微生物部門細菌系外部精度管理調査票、配付試料調査票、供試菌株参考性状  
微生物部門寄生動物系外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考回答  
理化学部門(食品添加物)外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考答  
理化学部門(農薬)外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考紙
2. 研修資料  
研修に関するアンケート調査集計結果  
赤網アムバ、クリプトスピリジウムを中心とした腸管寄生原虫の検査法

H9年度の報告書(3年目の総括研究報告書)から 衛藤班2

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。

1. 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  
H9.3の地衛研設置要綱に試験検査業務に行政検査の精度管理が定められている。

A. 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。

B. 地衛研はレファレンス機能を担う

C. 地衛研の検査には、1)高度の技術・知識を要する検査、2)稀少事例の検査、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ぐることが必要。

平成9年3月14日 厚生省発健政第26号 厚生事務次官  
地方衛生研究所の機能強化について

地方衛生研究所については、昭和51年9月10日厚生省発健第173号厚生事務次官通知により現行の設置要綱が示され、(略)公衆衛生の向上に重要な役割を果たしてきているところである。

地域保健法(昭和22年法律第101号)第4条に基づき策定された「地域保健対策に関する基本的な指針」(平成6年厚生省告示第374号)の中で、(略)地方衛生研究所設置要綱を別紙のように改正することとした。

- 1 今回の改正は、次のことに重点を置いたものであること。

(1) 略

(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。

(3) 略

2 地方衛生研究所の機能強化を図るため、その業務の実施に必要な技術系職員等の確保を図るとともに、その資質の向上に努めること。

3 以下略

2.2 試験検査

2.2.1 地方衛生研究所は、次のような試験検査を行うものとする。(以下略)

なお、地方衛生研究所は、研究要素の大きい試験検査、広域的な視野を要する試験検査、専門的かつ高度な技術や設備を必要とする試験検査を重点的に行うものとする。(以下略)

衛藤班2

H9年度の報告書(3年目の総括研究報告書)から

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。

1. 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  
H9.3の地衛研設置要綱に試験検査業務に行政検査の精度管理が定められている。

A. 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。

B. 地衛研はレファレンス機能を担う

C. 地衛研の検査には、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ぐすことが必要。

衛藤班4

図1. 行政検査における精度管理システムの概略図

2. 概略(図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  
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。

衛藤班6

提言(全体の概要)

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

2. 概略(図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  
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)

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。

2014.11.4

「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(案)」(体制小班)

1. 目的  
項目だしと整理が必要→一次案作成  
次年度には最終案を提示予定

2. 精度管理の実施内容:  
1) 検査法、2) 検査精度、3) 参加地衛研への指導、4) 精度管理に関する情報提供、5) その他

3. 精度管理の実施手順: 別途定める(外部および内部精度管理について)

4. 精度管理にかかる結果の報告等:  
1) 検査機関への結果通知等、2) 各自自治体への報告等、3) 厚生省担当課への報告等

5. 精度管理の実施体制等:  
1) 実施管理組織(地衛研全国協議会など、厚生省健康局結核感染症課・地域保健室、国立感染症研究所などと連携を図りつつ実施?)、  
2) 実施作業組織(専門機関?、地全協?、感染研?、地全協と感染研?、ほか?)

6. 厚生省と感染研が主催する研修会・事業等との連携  
関連組織・学会等との連携?

7. 付則等

8. 日付

地衛研内部の組織体制?

別途定める: 「感染症検査に係わる精度管理実施手順」について詳細な案を作成する?  
公布・公募(HIP等)、参加地衛研決定(全部?)、精度管理方法(感染症、症候群、検査手法・技能、ほか)、検体試料作成、輸送法、標準検査法(統一? 精度管理のため?) 病原体検査マニュアル等由来ほか、SOPの作成方法、対照検体、検査機器・メーカー等、評価・解析法、費用負担・予算、実施時期、結果還元、報告書、問題点の克服の方法、報告会・研修などなど、

今後1

2. 外部精度管理実施要領(案)ないし精度管理実施要綱(案)体制小班  
→ 要綱案の素案の項目の提出依頼: 6月27日まで  
→ 11月4日の精度管理部会で項目議論→その後了承 その後立案予定(メール等)  
→ 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・まとめ  
→ 平成9年の報告書を手直し、本日供覧、ここまでのまとめを行う

これから-1

1. これまでに地衛研が行ってきた精度管理に関する記録を精査しまとめる。  
2. まとめとH9の報告書を現状に合わせて改訂する。  
3. 今回実施したモデル外部精度管理の結果を考慮し、外部精度管理実施手順(案)を作成する。  
4. これらをもとに、精度管理実施要綱(案)をまとめる。

これから-2

H9の報告書はPDFファイルで地衛研班員にCDROMで配布  
地衛研の関与した研究班報告書から精度管理実施状況をまとめ配布  
上記に関するご意見を集約  
→2015年春の第一回班会議までを予定  
→その後、秋頃までに案をまとめて、班員の意見を聴取し、集約、まとめ

今後2

● 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

H26年度感染症の精度管理に関する実態調査結果を踏まえて、

1. 外部精度管理実施案の作成と一部の実施・解析および調査、そしてまとめ  
→細菌小班とウイルス小班で各互選? 推薦? で2-3グループを設立  
→外部精度管理の対象として、1) 感染症(富嶺研究班の対象外のもの、a) 地衛研のニーズが高い、b) 季節柄注目されている、c) 重症化・社会への影響大・感染拡大が懸念(1-2類感染症か?)、2) 感染性胃腸炎などの症候群、3) 検査技術や方法が候補

3. 精度管理に関する動向調査?

4. 研修等との連携?

5. ブロックとの関連?

ほか: 調疫学小班<佐多班>; ご意見聴取・まとめ・議論→病原体検査指針案へ

