

## 別添 A3 教育訓練手順書

せる。

2) 検査区分責任者は教育訓練責任者として、全ての新入職員及び転入職員に対して、当該教育訓練の内容に精通した検査員を教育訓練担当者に指名する等して、十分な On-the-Job Training (OJT)の機会を担保する。

3) 検査部門管理者及び検査区分責任者は、検査員に対して担当業務の各手順書等の内容を周知する。

### (2) 導入教育訓練の評価

1) 検査区分責任者は、新入職員若しくは転入職員に対する OJT 等の進捗状況を随時把握し、緊急検査単独担当の可否及び開始時期等について該当する教育訓練担当者及び検査部門管理者と確認する。

### (3) 継続教育訓練

1) 手順書教育：手順書及び様式の新規作成若しくは改訂の施行前（やむを得ない場合は改訂後できるだけ早期）に、検査員全員を対象に、文書作成担当者若しくは検査区分責任者が教育を実施する。

2) 研修参加等：検査区分責任者及び検査部門管理者は、検査員が適切な研修や学会研究会参加等の機会が得られるよう情報収集及び提供に努める。また内部研修及び外部研修に参加した職員による報告会や復命等の手段により、組織内にその内容の共有化を図る。

3) その他：検査区分責任者及び検査部門管理者は、外部精度管理や内部精度管理の結果について随時、不適合業務等が発生した場合は速やかに、関係検査員等に対して情報提供を行うとともに、不適合業務の再発防止に必要な教育訓練等を実施する。

(4) 信頼性確保部門管理者は、検査部門管理者及び検査区分責任者等とともに、検査員に対して必要な研修受講や学会研究会参加等の機会提供に努める。

## 5 記録の保管

本手順に係る記録類は、「文書及び記録の管理に関する手順」に従って保管する。

## 不適合業務及び是正処置手順書（ひな形例示）

管理番号 XXXX

項目 不適合業務発生時における是正処置等の手順

適用 検査要領を適用する検査のうちウイルス研究室で実施するもの。

施行年月日 2016 年 月 日

改訂年月日 20 年 月 日

作成者 ○○衛生研究所生物学部ウイルス研究室 ○○ ○○

承認者 ○○ ○○

（検査部門管理者）

失効年月日 平成 年 月 日

改訂履歴

改訂年月日	改訂理由	作成者	承認者
平成 27 年〇月〇日	新規作成		

## 別添 A4 不適合業務及び是正処置手順書

### 1 目的

本手順書において、検査業務に不適合が発生した場合の措置に必要な手順を定める。(平成 27 年 9 月 28 日公布厚生労働省令第百四十七号第 7 条の三第二項の八ホを参照。)

### 2 定義

(1) 「不適合」とは、定められた手順からの意図しないかつ検査目的に適合しない乖離のうち、再検査等によっても解決されなかった事象を指す。

(2) 「是正処置」とは、不適合の再発防止の目的で、不適合又は望ましくない状況の原因を除去するための処置を、「予防処置」とは起こり得る不適合または他の望ましくない起こり得る状況の原因を除去するための措置を指す。

### 3 適用範囲

病原体等検査の業務管理要領が適用される検査のうち、ウイルス研究室で実施するものにおいて発生した不適合業務に適用する。

ただし、以下のケースは除く。

- (1) 停電等を原因とする機器等の緊急停止に伴って発生した不適合。
- (2) 断水等、上記以外の不測の緊急事態に伴って発生した不適合。
- (3) 標準作業書等に記載されていない種類の検体等を用いた検査。
- (4) 受付時若しくは受付後保管中に、当該検査の実施には適切でない状態にあった検体等を用いた検査。

### 4 責任者と役割

(1) 信頼性確保部門管理者は、不適合業務について次の事項を明らかにし、その結果を「不適合連絡書」等に記録する。

- 1) 不適合業務発生時の責任者、業務再開を判断する責任者等
- 2) 不適合業務が特定された場合の処置（緊急処置として検査部門管理者への報告、業務の中止、検査結果等の発行保留等に加えて、是正処置への移行プロセスも含む。）
- 3) 記録時点における、不適合業務の重大さの評価

(2) 信頼性確保部門管理者は、是正処置等について、次の事項を明らかにし、その結果を「不適合業務の是正及び予防措置報告書」等に記録する。

- 1) 不適合業務の原因を除去し再発を防止するための適当な是正処置を実施する方法
- 2) 是正処置の効果を確認する方法
- 3) 是正処置に係る記録の方法
- 4) 起こりうる不適合が発生することを防止するため、その原因の除去等を行う予防処置の実施に関する事項

(3) 不適合業務が発生した部署の検査区分責任者及び検査部門管理者は、関係者と協力して不適合業務発生時の状況を把握し、信頼性確保部門管理者が担当する処置等の確実な遂行に努める。

## 5 不適合発生の連絡、処置及び報告

### (1) 連絡・応急処置

1) 発見者は必要に応じ、作業の中断又は応急処置をするとともに、検査区分責任者などに連絡する。

2) 当該検査区分責任者などは、応急処置の内容を確認するとともに、必要な措置を行う。

### (2) 「不適合連絡書」の発行

1) 発生部署の検査区分責任者は、担当者等の協力を得て様式—1に示す「不適合連絡書」に件名、発生日、設備、試薬又は試験検査手順名と発生原因、応急処置状況など必要事項を記入する。

2) 発生部署の検査部門管理者は、検査区分責任者と合議のうえ検査業務への影響についてレベルⅠ,Ⅱ,Ⅲ,Ⅳの自己評価を行い、結果を「不適合連絡書」に記入する。検査結果への影響が有る、あるいは不明の場合は、直ちに信頼性確保部門責任者（若しくは予め指定された者）に連絡する。

3) 発生部署の検査部門管理者は、「不適合連絡書」を作成し、信頼性確保部門管理者に報告する。

### (3) 不適合業務に対するレベル評価・意見・指示・承認

1) 信頼性確保部門管理者は、当該不適合業務の検査業務への影響レベルを再評価する。

2) 信頼性確保部門管理者は、検査結果への影響とそのリスクを評価し、それに基づき意見、指示を与える。いずれのランクの事象に関しても、不適合業務発生時の応急措置、再発防止を目的とした発生および本質的な原因調査、是正処置、起こり得る不適合の除去等を目的とした予防処置を行うことを原則とする。

3) 信頼性確保部門管理者は、レベル評価の根拠を示すとともに、必要に応じて会議の招集を行う。

以下にレベルⅠ～Ⅳに相当する不適合内容と対応を例示する。

レベルⅠ：重大な検査の質の不良の恐れまたは進展する可能性が大きい不適合事象、または影響の大きさが不明の場合。

原則として直ちに会議の招集を行い、応急措置および是正処置の方針と計画等を取り決める。再発防止の是正処置として必要な変更等の検討を行うとともに予防処置を計画する。

レベルⅡ：手順、規格上の不適合で、検査結果への影響の大きさが明らかな場合。

原則として、応急措置が妥当と判断された場合は、特に会議を要しないが、「不適合連絡書」など文書での確認・指示で、処置を進める。応急措置に問題がある場合は会議の招集を行い、是正処置の方針と計画を取り決める。再発防止の是正処置として手順、規格等の変更が必要な場合は、会議を招集し、変更内容を取り決めるとともに予防処置について検討する。

レベルⅢ：手順、規格上の不適合で、検査結果への影響が軽微な場合

## 別添 A4 不適合業務及び是正処置手順書

原則として、応急措置が妥当と判断された場合は、特に会議を要しない。「不適合連絡書」など文書での確認・指示で処置を進めることができるものとする。応急措置に問題がある場合は会議の招集を行い、再発防止のための是正処置の方針と計画を取り決めるとともに予防処置について検討する。

レベルⅣ：不適合の原因が一過性であり、検査結果への影響がないか、あるいは、極めて軽微と判断できる場合は、原則、再発防止を目的とした是正処置として教育・訓練を行う。

4) 「不適合連絡書」の作成者、検査区分責任者及び検査部門管理者は、意見、指示、処置内容等の確認を行い、指示事項への対応および異常、不適合事象発生時の応急措置、本質的な原因調査、再発防止の是正処置、水平展開を目的とした予防処置を行う。

5) 信頼性確保部門管理者は、「不適合連絡書」を管理し、必要に応じて写しを関係責任者に配布する。また、指示内容や処置が完了しているかを定期的に確認する。

### (4) 「不適合業務の是正及び予防処置報告書」への記録

1) 信頼性確保部門管理者は、様式—2に示す「不適合業務の是正及び予防処置報告書」を作成し、以下の処置を実施する。

①会議での指示事項あるいは「不適合連絡書」での指示事項に対する処置。

②本質原因の調査。

③是正処置：意見・指示事項に対する処置などの再発防止策や発生原因が人の作業に起因することが明確である場合の関係者への教育、訓練を実施する。

④予防処置：起こり得る不適合、他の望ましくない状況の発生を除去するなどの恒久的な措置を実施する。この中で設備、文書等の変更が必要と判断した場合は、検査部門管理者及び検査区分責任者に指示する。

### (5) 「不適合業務の是正及び予防処置報告書」の確認、承認

1) 本質的な原因調査、是正処置が完了したら、当該検査区分責任者は検査部門管理者及び信頼性確保部門管理者の確認、及び所長の承認を得る。

2) 予防処置が完了したら、当該検査区分責任者は検査部門管理者及び信頼性確保部門管理者の確認、及び所長の承認を得る。

### (6) 信頼性確保部門管理者の関与

1) 信頼性確保部門管理者は発生した全ての不適合業務を把握するとともに、「不適合連絡書」での指示、処置、「不適合業務の是正及び予防措置報告書」での是正処置、予防処置内容を確認し、確実に処置が実行されていることを確認する。

## 6 記録の保管

(1) 信頼性確保部門管理者は、「不適合連絡書」および「不適合業務の是正及び予防措置報告書」に記録する。

(2) 本手順に係る記録類は、「文書及び記録の管理に関する手順」に従って保管する。

別添 A4 不適合業務及び是正処置手順書

様式-1

不適合業務管理番号	
-----------	--

不適合連絡書

報告年月日	年 月 日	発生（発見）年月日	年 月 日
不適合業務の概要			
応急措置			
不適合業務の発生原因			
不適合業務の自己評価 (I, II, III, IV)	左記のとおり評価し、 <input type="checkbox"/> 軽微な不適合であるため検査に対する措置を行いましたので、報告します。 <input type="checkbox"/> 検査に対する是正処置案等を作成しましたので、承認願います。		
	判断の理由		
不適合業務の是正処置案等 (必要に応じて別紙を添付)			
上記のとおり不適合業務を発見し、評価しましたので報告します。			
印		発見者	
印		検査区分責任者	
印		検査部門管理者	

信頼性確保部門 確認	年 月 日	信頼性確保部門管理者	印
検査区分責任者の評価、措置等について <input type="checkbox"/> 妥当と認める。 <input type="checkbox"/> 再検討を指示する。 <input type="checkbox"/> 以下の追加条件を求める。			

別添 A4 不適合業務及び是正処置手順書

様式 - 2

不適合業務管理番号	
-----------	--

不適合業務の是正及び予防処置報告書

報告年月日	年 月 日	検査区分責任者	印
上記の不適合に関し、次のとおり是正及び予防処置を実施しましたので確認願います。			
是正処置内容			
予防処置内容			
結果及び評価	是正処置		
	予防処置		
検査部門管理者		信頼性確保部門管理者	
確認	/ /	/ /	完了承認 継続 (長期評価) 継続 (追加調査指示)
コメント			



## 検査結果書発行手順書（ひな形例示）

管理番号 XXXX

項目 検査結果書発行の手順

適用 検査要領を適用する検査のうちウイルス研究室で実施するもの。

施行年月日 2016 年 月 日

改訂年月日 20 年 月 日

作成者 ○○衛生研究所生物学部ウイルス研究室 ○○ ○○

承認者 ○○ ○○

（検査部門管理者）

失効年月日 平成 年 月 日

改訂履歴

改訂年月日	改訂理由	作成者	承認者
平成 27 年〇月〇日	新規作成		

## 別添 A5 検査結果発行手順書

### 1 目的

本手順書において、検査結果書の発行に必要な手順を定める。(平成 27 年 9 月 28 日公布「厚生労働省令第百四十七号」第 7 条の三第二項の八リ及び平成 27 年 11 月 17 日通知「検査施設における病原体等検査の業務管理要領」 11 (3) を参照。)

### 2 適用範囲

病原体等検査の業務管理要領が適用される検査のうち、ウイルス研究室で実施するもの。

### 3 責任者と役割

- (1) 所長は、衛生研究所から発行される検査結果通知書を承認・決裁する。
- (2) 信頼性確保部門管理者及び検査部門管理者は、検査結果通知書の記載内容等を確認する。
- (3) 検査区分責任者は、検査員が作成若しくは確認した検査結果通知書について、検体に関する帳簿や検査手順書等を参照のうえ、検査の記録及び記載内容等を確認する。

### 4 手順

#### 4. 1. 検査結果の判定

検査結果は担当者がまず確認を行う。検査個票等に記載された渡航歴等の情報との大きな矛盾がないか等の観点から検査区分責任者、検査部門管理者及び関係者とともに検査結果の妥当性を吟味し、結果に疑問が生じた場合は再検査等を考慮する。矛盾がない場合や、再検査でも同じ結果が得られた場合には、検査を終了する。

#### 4. 2. 検査結果通知書の作成及び決裁

検査結果通知書は、原則として検体送付書に記された全ての検体の最終検査結果が確定次第、検査区分責任者の指示を受けた検査員(若しくは検査区分責任者)が起案する。起案にあたっては検体受付簿等関連文書を確認する等して正確性を担保する。検査結果通知書の承認は、原則として関係した検査員、検査区分責任者、検査部門管理者及び信頼性確保部門管理者より得るが、不在等の場合は後関に代えることができる。

検査結果の通知は上記のとおり所長決裁を得た後に行うが、所長からの指示があれば、電話連絡等による一部検査結果の仮報告・中間報告を信頼性確保部門管理者、検査部門管理者または検査区分責任者が代行できる。

#### 4. 3. 検査結果通知書への記載事項

検査結果通知書には、次の事項を記載する。

- ① 検査依頼及び検体採取年月日
- ② 検体の種類
- ③ 検査項目
- ④ 検査の実施方法
- ⑤ 検査の結果

## 別添 A5 検査結果発行手順書

### ⑥ 検査結果通知書の発行年月日及び文書番号

#### 4. 4. 報告

所長からの指示があれば、仮報告・中間報告を信頼性確保部門管理者、部門管理者または区分責任者が代行できる。検査結果通知書の依頼者等への送付事務は、〇〇県の文書管理手続きに従って実施する。

#### 5 記録の保管

検査結果通知書及び関連書類は、「文書及び記録の管理に関する手順」に従って保管する。

## 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) 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 主任研究官  
中内 美名 同上 主任研究官

### 研究要旨

新型インフルエンザの発生時に、診断および感染拡大防止策を実施するため、全国の地方衛生研究所においては、新型インフルエンザに対する核酸検査の実施が求められている。平成 28 年度には改正感染症法の施行に伴う省令改正により、検査の精度管理の定期的実施および精度管理に関する外部調査の定期的受検など、精度管理への取り組みが大きく変わることとなる。本研究では、昨年度に引き続き、地方衛生研究所が行うリアルタイム RT-PCR 法による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 73 カ所の地方衛生研究所を対象に実施した。

### A. 研究目的

平成 26 年 11 月に改正感染症法が成立し、平成 28 年 4 月からは省令改正により検体検査の質の向上を図るため、感染症に関する情報の収集体制の強化等が実施される予定で、法に基づいた国家戦略として、全国の地方衛生研究所(74 カ所)や検疫所(16 カ所)では、新型インフルエンザ発生時に診断検査を的確に実施できる態勢を維持するなど、新型インフルエンザ発生時の感染拡大防止のための永続的対応が必要不可欠な状況となった。

H5N1 亜型 高病原性鳥インフルエンザウイルスは 2003 年以降、ヨーロッパ、中東、アフリカ、アジア地域で流行し、高い死亡率を伴ったヒトへの感染例も各地で報告されており、2016 年 1 月までに 16 カ国 846 人の感染者および 449 人の死者が確認され

ている。日本では、最近では 2014 年から 2015 年の間、このウイルスを由来とする H5N8 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスが野鳥および家禽で流行した。幸いにも世界ではこの亜型のウイルスによるヒト感染例は報告されていない。

さらに 2014 年 4 月には中国で H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が初めて報告され、2016 年 2 月現在、10 例の感染者がいずれも中国で報告されている。

また、2013 年 3 月には低病原性の 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中国において世界で初めて報告され、2016 年 2 月までにマレーシア、台湾、カナダでの輸入感染例を含め 724 人の感染者が確認されている。また、2013 年 11 月には H10N8 亜型の鳥インフルエンザウイルス

のヒト感染例が同じく中国で、2013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。

このように、海外ではH5N1、H5N6、H7N7亜型などの高病原性鳥インフルエンザウイルス、H7N9、H10N8、H6N1、H9N2亜型などの鳥インフルエンザウイルス、H1N1、H1N2、H3N2亜型のブタインフルエンザウイルスなど、動物インフルエンザウイルスのヒトへの感染例が頻繁に報告されており、これらウイルスの遺伝子変異や遺伝子再構成により、容易にヒトからヒトへ感染するようになった新型インフルエンザウイルスの出現が危惧されている。我が国においても、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である。

本研究では、その検査態勢づくりの一環として、昨年度に引き続き、本年度は全国73カ所の地方衛生研究所が行っているリアルタイムRT-PCR法を用いたインフルエンザウイルスの核酸検出検査について、検査精度向上を目的とした外部精度管理(EQA)評価を行い、トラブルシューティングによる検査精度の向上を図った。

## B. 研究方法

全国74カ所の地方衛生研究所に対して、2015年7月27日に「EQA2015実施要項」(添付資料1)および参加登録票を配布した。次に本EQAへの参加を表明した73カ所の地方衛生研究所に対して、2014年8月24日～28日にかけて、パネル検体(RNA抽出が不要な1検体とRNA抽出が必要な5検体)を送付した。常温輸送でも劣化する事がないように、送付したパネル検体は抽出核酸の乾燥品である。今回も、H5およびH7亜

型の鳥インフルエンザが流行している地域へ渡航歴がある患者検体が含まれるという前提で、地方衛生研究所の方法に従って、リアルタイムRT-PCR法によるA型インフルエンザウイルスの亜型診断検査を行うように依頼した。また、「パネル検体受領書」、「パネル検体の保存・溶解方法」、「結果記入ファイル(検査試薬等に関するアンケート調査付き)」も同時に配布した。

各地方衛生研究所での検査結果は結果記入ファイルに記入して送付してもらい、それと引き替えに「パネル検体の内容(正解)」を送付した。同時に送付してもらった、結果報告時アンケートとともに結果集計と解析を行い、季節性のA型インフルエンザおよび高病原性鳥インフルエンザ(A/H5N1)、鳥インフルエンザ(A/H7N9)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73カ所の地方衛生研究所で行った検査結果およびアンケートを集計し、「1. 第3回全国地衛研外部精度管理(EQA2015)実施結果について(添付資料2)」、「2. 精度管理と問題時のトラブルシューティングについて(添付資料3)」、「3. トラブルシューティング時のフローチャート」(添付資料4)、「5. EQA2015の結果およびアンケートの集計」(添付資料5)を本EQA評価に参加した全国73カ所の地方衛生研究所に送付した。また、各所へは解析結果およびトラブルシューティング等のアドバイスを個別に記入した「4. 解析結果2015\_(地衛研名)」(添付資料6)を送付した。

## D. 考察

これまでに国立感染症研究所が示している「高病原性鳥インフルエンザ診断マニユ

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った。

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るが、今回の EQA では、ほぼ全ての地方衛生研究所がほぼ全てのパネル検体に対して、正確に亜型の同定が行えていた(添付書類5 ページ1表を参照)。今回の EQA では配布パネルのうち RNA 抽出が不要な 1 検体は、RNA 量がどの施設でも同じ濃度になるため、Ct 値を指標にすると、間接的に検査精度の比較を行う事が可能となる。また、RNA 抽出が必要な 5 検体については、RNA 抽出が不要な 1 検体の Ct 値と比較することで、RNA 抽出の効率について比較することが可能となる。これら Ct 値の比較により、既に配布済みの H5 および H7 検出用陽性コントロールの劣化や A 型・H1pdm09、H3、H5、H7 亜型検出用のプライマーもしくはプローブの劣化、あるいは測定機器の整備が十分ではなく、検出精度が良くないところがあることも判明した。ただし、今回の EQA 評価では、最も RNA 濃度の薄いパネル検体 C(H3 亜型)で 8 コピー/ $\mu$ L である。5  $\mu$ L をテンプレ

トに用いた場合、リアルタイム RT-PCR の検出限界と考えられている 5 コピー/反応よりも 8 倍濃い濃度であるため、RNA 抽出方法や検出方法に問題がなければ十分に検出が可能な濃度であるはずである。しかし最も RNA 濃度が低い、この検体 C に関しては正答数が 69/73(95%)となった。RNA 抽出効率の違いにより検出感度が悪くなってしまった事も考えられるため、特に検体 C が検出できない所では、トラブルシューティングにより精度感を向上させる事が必要である。RNA 抽出にやや問題がある所もあったが、H5 と H7 亜型に関していえば、ほぼ全ての地方衛生研究所で検出が可能であり、平成 26 年度の EQA 評価に比べると、検査精度が向上した事は明らかである。

## E. 結論

H5 と H7 亜型の検出に関していえば、ほぼ全ての地方衛生研究所で検出できており、RNA 抽出にやや問題があった所もあるが、前年度の EQA 評価に比べると、検査精度が向上した事は明らかである。

新型インフルエンザウイルスが出現した直後は、まだ検査系が構築されていない可能性が高く、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があり、H5、H7 亜型の同定も大事ではあるが、日頃ウイルスサーベイランスで行っている季節性インフルエンザウイルスを含む亜型同定検査が正確に行えることが特に重要と考えられ、継続的な EQA を実施する事が精度管理においては有用である。

また、日頃の検査において検査精度が維持されていないければ、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し、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評価の実施は重要であると考えられる。

今回、地方衛生研究所自らがトラブルシューティングを行えるように、トラブルシューティングを実施するためのフローチャート(添付資料 3)および精度管理と問題時のトラブルシューティング(添付書類 4)を作成した。これらが地方衛生研究所において、今後、検査の精度管理に役立つことを願う。

## **F. 研究発表**

### 1.論文発表

なし

### 2. 学会発表

国内会議

なし

国外会議

なし

## **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



(添付資料1)

## 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 3 回全国地衛研外部精度管理(EQA2015)実施について

平成 26 年度に引き続き、本年度も「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)」について全国の地方衛生研究所を対象に外部精度管理(EQA)を実施いたします。昨年度は、感染研より配布するパネル(RNA 抽出が不要な 6 検体)に対する A 型インフルエンザウイルスのリアルタイム RT-PCR 法による亜型診断検査を行っていただき、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の確認と各診断検査の精度向上を目的とした EQA を実施いたしました。本年度は感染研より配布するパネル(RNA 抽出が不要な 1 検体および RNA 抽出が必要な 5 検体)に対する A 型インフルエンザウイルスのリアルタイム RT-PCR 法による亜型診断検査が EQA の評価対象となります。

本 EQA に参加する場合は、参加登録票に必要事項をご記入の上、電子メールにてご送付いただきますようお願いいたします(参加登録の締切は平成 27 年 8 月 7 日 17:00)。

本 EQA は平成 27 年度 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「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。

(添付資料1)

## 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3回全国地衛研外部精度管理(EQA2015)実施要項

#### 1. EQA2015 実施スケジュール

- ・参加登録票の送付:平成 27 年 7 月 27 日
- ・参加登録の締切:平成 27 年 8 月 7 日 17:00
- ・パネル検体発送および結果記入ファイル送付予定:平成 27 年 8 月 24 日～28 日
- ・測定期間:パネル検体到着日～平成 27 年 10 月 16 日
- ・結果報告およびアンケートの締切:平成 27 年 10 月 16 日
- ・集計報告:平成 27 年 12 月頃より順次
- ・EQA 事後アンケートの実施

#### 2. EQA2015 への参加について

今回行う EQA2015 に参加される場合は、平成 27 年 7 月 27 日に送付する「参加登録票」(入力時間は 5 分程度)に入力の上、ファイル名を「参加登録票\_地衛研名」に変更して平成 27 年 8 月 7 日 17:00 までに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、「(地衛研名)EQA2015 参加」とご記入下さい。(不参加の場合は「参加登録票」の送付の必要はありません。)

件名:(地衛研名)EQA2015 参加

宛先:[equ\\_influenza@nih.go.jp](mailto:equ_influenza@nih.go.jp)

#### 3. EQA2015 の内容

##### 3-1. パネル検体

EQA で使用するパネルは以下に示す通りです。

本年は感染研より配布した RNA 抽出が不要な 1 検体と RNA 抽出が必要な 5 検体(平成 27 年 8 月 24 日～平成 27 年 8 月 28 日に発送予定)

\* 本年は核酸抽出済みの乾燥品 1 検体と不活化したウイルスの乾燥品 5 検体を配布します。核酸抽出済みの乾燥品は 500 $\mu$ L の滅菌蒸留水に溶解して、そのままリアルタイム RT-PCR に使用して下さい。不活化したウイルスの乾燥品 5 検体は 500 $\mu$ L の滅菌蒸留水に溶解して、RNA 抽出を行った後、リアルタイム RT-PCR に使用して下さい。

##### 3-2. 解析対象について

今回行う EQA2015 では、A 型インフルエンザウイルスのリアルタイム RT-PCR 法による亜型診断検査が外部精度管理の評価対象となります。

##### 3-3. 外部精度管理の評価について

今回は、H5 および H7 亜型の鳥インフルエンザが流行している地域に渡航歴のある患者の検体が含まれるという前提で、各地衛研の方法に従って、検体からの RNA 抽出を行い(核酸抽出済み検体

(添付資料1)

の RNA 抽出は不要)、リアルタイム RT-PCR 法による A 型インフルエンザウイルスの亜型診断検査を行って下さい。

外部精度管理の評価は、総合判定シートに記入された結果に基づいて行います。トラブルシューティングが必要と考えられるケースでは、リアルタイム RT-PCR 法による Ct (Cp) 値を基に解析を行います。各所でリアルタイム RT-PCR 法以外の方法(コンベンショナル RT-PCR 法、LAMP 法、シーケンス法など)で行った場合も、正しい診断結果が得られているかどうかの確認を行いますので、結果詳細をご報告いただきますようお願いいたします。

なお、EQA2015 のパネル検体には B 型インフルエンザウイルスは含まれていませんので、今回行う各所の診断検査から B 型インフルエンザウイルスの診断検査を除外していただいても構いません。

### 3-4. 測定方法

- 1) パネル検体到着後、各チューブのスピンドウンを行ってから 500 $\mu$ L の滅菌蒸留水を加えます。30 秒間のボルテックス、続いて 10 回の転倒混和を行って、サンプルを完全に溶解します。(パネル検体は滅菌蒸留水による溶解の有無にかかわらず、到着後は-80 $^{\circ}$ Cにて保管して下さい。)
- 2) 各地衛研の方法に従って、検体からの RNA 抽出を行い、亜型診断検査を行って下さい。**ただし核酸抽出済の 1 検体については RNA 抽出を行わないで下さい。**先述しましたが、今回は H5 および H7 亜型の鳥インフルエンザが流行している地域に渡航歴のある患者の検体が含まれるという前提で検査を行って下さい。
- 3) 検査の際は、以下の点に留意して下さい。
  - ・必ずしも 6 検体を同時に検査する必要はありませんが、何回かに分けて検査を行う場合は、検査毎に必ず核酸抽出不要の検体も同時に検査して下さい。
- 4) リアルタイム RT-PCR 法にて、Ct (Cp) 値の測定を行って下さい。  
もし、リアルタイム RT-PCR 法以外の方法(コンベンショナル RT-PCR 法等)で行った検査結果があれば、その結果もご送付下さい。
- 5) 測定した Ct (Cp) 値(小数第 1 位まで算出)を、結果記入ファイル(Excel ファイル)の「結果記入シート」に入力して下さい(入力法は「結果記入シート\_入力例」シートを参考にして下さい)。
- 6) また、各地衛研で行っている試験方法や使用キット等については、「アンケート入力シート」に入力して下さい。
- 7) 全ての検査終了後、各パネル検体の亜型判定結果を「総合判定シート」に入力してください。
- 8) 入力後の結果記入ファイル名を「結果入力\_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でも、全ての機器で検査を行う必要はありません。もし複数台で検査を行う場合、あるいは再検査や複数回に分けて検査を行うなど、検査を 2 回以上行った場合は、「結果記入シート」の特記事項にその旨を明記したうえで、「結果記入シート」をコピーして増やして、結果入力を行って下さい。

### 4. EQA2015 の結果の送付方法

全ての入力が終わりましたら各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、「(地衛研名)EQA2015 結果」とご記入下さい。

件名:(地衛研名)EQA2015 結果

(添付資料1)

宛先: [eqa\\_influenza@nih.go.jp](mailto:eqa_influenza@nih.go.jp)

5. EQA 事後アンケートの実施について

本 EQA の実施後に、EQA の改善等を目的とした事後アンケート調査を行いますので、ご協力をお願いいたします。

ご質問等は下記に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](mailto: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