

—実施はそんなに難しくはないと思います。

—ウイルス分離だと細胞の種類によってウイルス感受性が異なることがあるが、各地衛研の細胞は把握できているか？

—各地衛研にウイルスを配布することはできるか？

—ウイルスの配布は可能

—エンテロウイルス感染症の重症度、エンテロウイルス 71 でも差はあるか？外部精度管理の意味は？

—エンテロウイルスの場合、ポリオウイルスかどうか重要。

—手足口病は NESID への入力があるので、エンテロウイルスの検出・同定の精度管理は必要と思われる。

—感染症発生動向調査とポリオや麻疹などの検査は意味が違うと思うが、調査に 99%の精度は必要か？

—5 類感染症（手足口病など）でウイルス検出・同定の正確性が保たれればポリオの検査も大丈夫なので精度管理はやる意味がある。

4. 細菌小班の昨年度の調査を振り返って（北海道 森本先生）配付資料 4

昨年実施した「サルモネラ」を対象とした精度管理調査について、石岡先生のまとめられた報告書を基に考察した。11 機関中、3 機関が正しくサルモネラを検出できなかったが、原因の解明は推定のみにとどまっていた。これらの解析とそれを踏まえた研修が必要であると提案された。

—S.Infantis が出せなかった機関の原因は？

—解析は推定にとどまっている。

—菌の均一性に関するレビューはあるか？

—1 週間くらいの事前調査は必要。

—北海道ではコアになる機関について、一度プレ調査を行ってから、本当の調査に入っている。暑い夏季ははずしている。また、北海道をひとつのグループと考え、この精度管理調査は北海道内部精度管理調査という位置づけとしている。

5. 細菌小班の次年度以降の実施内容について（大阪公衛研 勢戸先生）配付資料 5

細菌の精度管理の対象は 3 類感染症の原因菌および A 群溶連菌と CRE が望ましい。

それぞれの検査の質の保証のポイントを挙げ、来年度は赤痢菌などが良いとの提案。

近畿ブロックで実施されている IS-printing の精度管理状況について報告。トラブルシューティングも実施されていた。結果として、機器類の不具合という場合もあり、予算計上の根拠とできることが示された。

来年度はコレラ菌で実施することを提案。反対する意見はででなかった。

—コレラの発生する可能性はありますか？

—（輸入感染症以外に）回転すしなどでの感染は考えられると思っている。

6. まとめ（佐多代表）

本日配布したプログラムの裏面に研究班員のメールアドレスを記載したので、メールを活用していただきたい。

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)」

平成27年度 第一回 研究班会議

日 時:平成27年6月12日(金)13時00分から17時30分まで
場 所:国立感染症研究所共用第2会議室

- (13.00-13.50) 佐多徹太郎(富山衛研):本年度の研究班の活動—体制と調査
- (13.50-14.40) 木村 博一(感染症研):本年度の研修案と外部精度管理調査案
- (14.40-15.30) 山下 照夫(愛知衛研):外部精度管理調査案の検討
<休憩 15.30-15.40>
- (15.40-16.30) 森本 洋(北海道衛研):昨年度の外部精度管理調査と研修案
- (16.30-17.20) 勢戸 和子(大阪公衛研):本年度の外部精度管理調査案
- (17.20-17.30)ほか

平成27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 (26190601→H26-健危-一般-001)

研究代表者: 佐多徹太郎(富山県衛生研究所)
研究分担者:

(地衛研全国協議会精度管理部会)	(感染症研・レファレンスセンター)
調 恒明(山口県環境保健センター)	倉根 一郎(国立感染症研究所)
岸本壽男(岡山県環境保健センター)	宮崎義継(国立感染症研究所)
山本容正(大阪府公衆衛生研究所)	大石和徳(国立感染症研究所)
岡野素彦(北海道立衛生研究所)	木村博一(国立感染症研究所)
猿本信裕(群馬県衛生環境研究所)	?
協)水野哲宏(横浜市衛生研究所)	(敬称略)
協)田原なるみ(東京都健康安全研究センター)	
協)香月 進(福岡県保健環境研究所)	
協)佐野一雄(名古屋市衛生研究所)	

研究協力者: ほかに地衛研および感染症研の関係者

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) 2年目 最終年度

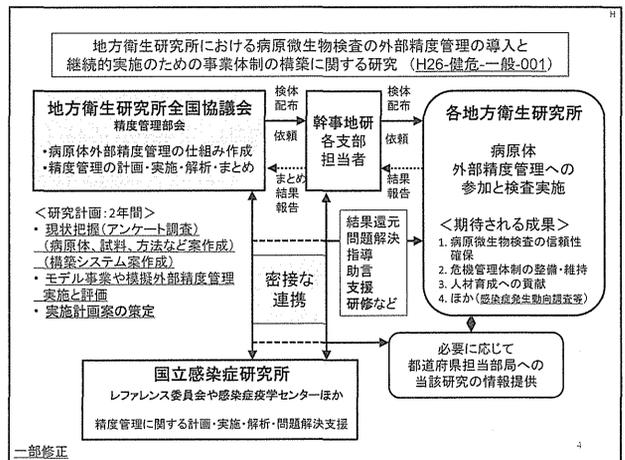
- 研究代表者: 佐多徹太郎(富山県衛生研究所)
- 研究分担者: (地衛研精度管理部会、感染症研・レファレンス委員会)

背景

- 地衛研の定員・予算の削減→技術低下による検査精度の維持困難
- 検査技術の高度化・機器の進歩→検査技術の維持困難
- 健康危機管理体制における病原微生物検査技術の維持向上は不可欠
- 感染症法に関連する感染症診断検査には精度管理の仕組みがない
- 地衛研の検査水準の確保、健康危機管理体制の維持、地衛研の人材育成に役立てる(また、地衛研-感染症研のネットワークの維持・感染症発生動向調査にも役立てる)

研究目的

■ 地方衛生研究所の微生物検査の技術水準を維持・向上させるために、外部精度管理の手法を導入し、全国的な仕組みを構築し、地衛研全国協議会が主体となって、継続的に実施することの体制整備・構築およびその妥当性評価を目的。



H26年度の研究結果の概要

- 地衛研の感染症に関する精度管理の実態についてのアンケート調査
→10月8日から21日まで調査実施。12月5日に班員に報告資料配付。1月9日の班会議で報告し議論した。
- ウイルスの外部精度管理実施
→ノロウイルスのリアルタイムPCRで実施。10月上旬に参加公募し59地衛研の参加を得た。11月上旬に試料を配布、12月中旬から解析、1月班会議で結果報告し議論。参加地衛研に結果を返すとともに、追加調査を行った。
- 細菌の外部精度管理実施
→サルモネラ属菌分離同定について実施。検体発送の制限から、部会員の11地衛研に、12月上旬試料配布。1月の班会議で10地衛研の結果を集計報告。今後、参加地衛研に結果を返すとともに、追加調査を行う。
- 外部精度管理実施要綱(案)の作成
→実施案・要綱の項目案について提示し議論。これまで地衛研で行ってきた研究資料を収集し、案の作成を行った。

目 次

- 施設研究報告書 「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」
佐多徹太郎(研究代表者) 1
- 分担研究報告書
 - 感染症検査の精度管理に関する実態調査—アンケート調査結果—
佐多徹太郎ほか 13
 - 地方衛生研究所へのアンケート調査に関する精度管理に係る技術性支援
実態調査ほか 49
 - 地方衛生研究所への結果返しに関する外部精度管理導入に関する技術性支援
実態調査ほか 65
 - 地方衛生研究所への結果返しに関する継続的精度管理導入に向けた
検討と支援
実態調査ほか 83
 - 外部精度管理に関する実態調査の検証について
佐多徹太郎ほか 89
 - 病変検体の採取計画
宮崎義継ほか 101
- 研究班員に関する付録一覧表
- 資料
 - 第一回研究班会議資料
(プログラム、会議録、パワーポイント配布資料) 105
 - ウイルス・細菌(細菌)検査資料
(プログラム、会議録、パワーポイント配布資料) 123
 - 第二回研究班会議資料
(プログラム、会議録、パワーポイント配布資料) 167

H26年度のまとめ1 (20150401) H26研究報告書から

- 地衛研の検査技術・正確性の維持に不安(人および予算の減少による)
- 感染症の検査には、これまで検査基準も外部精度管理もなかった
- 感染症検査は、人由来臨床検体で、可能な限り、種々の方法を用いて病原体を検出し、診断治療や発生動向調査に役立てるもの
- 感染症検査は、定性的なものである(定量的なものではない)
- 食品等の「精度管理」と同じではない
- 近年、迅速性の観点から病原体の遺伝子検査が多くなった
- 遺伝子検査は、定性的であるとともに、半定量的な検査法にもなる
- 検査手技・技術のほか、試薬や、検査機器の管理等が重要
- いわゆる「内部精度管理」の実施が必要
- および検査担当者のレベルの維持および向上(人材育成)
- 教育・研修が重要(OJTは難しい?)
- 感染症法第三条には、「国及び地方公共団体は、…(略)…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…(略)」
- 厚生労働省告示第464号(平成24年7月31日)に、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…(略)
- 感染症法改正(平成26年11月) 感染症に関する情報の収集体制の強化 病原体検査指針に進地(基準や「精度管理」が含まれる) 平成28年4月施行。
- いわゆる「外部精度管理」調査が必要かつ有効
- H9にも「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」が行われたが事業化にはいたらなかった(？予算、組織?)
- 今回は感染症法改正・病原体サーベイランスに係わる

迅速化
省力化
安定性

まとめと提案 (20150401) H26研究報告書をもとに

対応

- 地衛研で行う検査技術およびその正確性を維持・向上させるためには、1)「外部精度管理」、2)「内部精度管理」、3)研修の3つを関連させた導入が役立ち、そして、ひいては人材育成に役立てることが重要
- 1)「外部精度管理」は、第三者機関により他の地衛研との(検査レベルの)比較を目的→外部機関による地衛研の検査(質)優良性評価 External Quality Assessment; EQA →参加は義務ではなく、調査は改善が目的で、成績が目的ではない(対象は地衛研)。
- 2)「内部精度管理」を促し、個々の地衛研で検査結果の再現性を担保する
- 3)研修は、検査担当者の知識・技術・問題解決能力を向上させ、検査能力を高める

いわゆる「外部精度管理」調査の検討事項(以下のスライドに詳細案あり)

- 1)運営組織、2)実施組織、3)経費、4)実施時期、5)回数、6)対象感染症や技術、7)試料作製、8)検査手順書、9)事前(前)アンケート調査(内部精度管理状況等の把握)、10)試料配布・発送、11)試料確認、12)結果集計、13)事後アンケート調査、14)検査担当者の研修、15)報告書作成と配布(自治体主幹課含む)、16)検査法の改善(必要時)、17)衛生微生物協議会等で報告 →これで網羅しているか?

まとめのもの

- 地衛研における「外部精度管理」調査要綱(実施体制など)
- 「外部精度管理」実施要領・実施手順
- 事前・参加および事後アンケート調査(ひな形)
- 手順書等(様式)や(報告書(様式))など

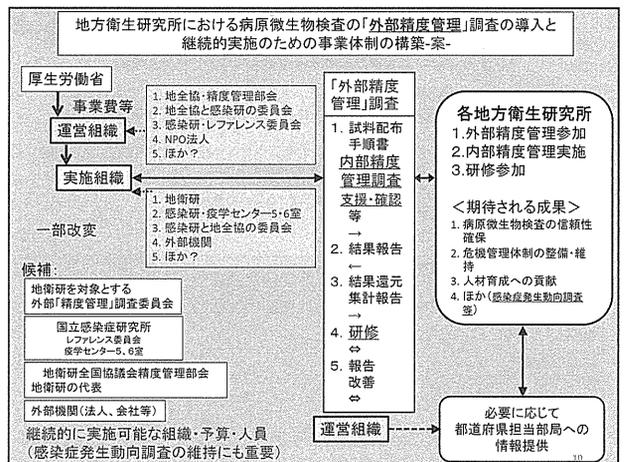
Q1: 外部「精度管理」にかかわる文言案 精度以外に何が考えられるか?

→「外部「精度管理」にかかわる文言案」として、精度管理、検査の精度、精度評価、品質保証、適格性、信頼性評価、信頼性確保、検査の質、検査の質の優良性評価、検査の「品質管理」というご意見。×精度、管理×

これまでの資料等から、感染症の検査についての外部「精度管理」については、外部「品質保証or信頼性評価or検査の質or検査の質の優良性評価」のいずれかが候補。

Q2: 提言の骨子? P10 まとめの2、外部精度管理調査、内部精度管理、研修の一体化

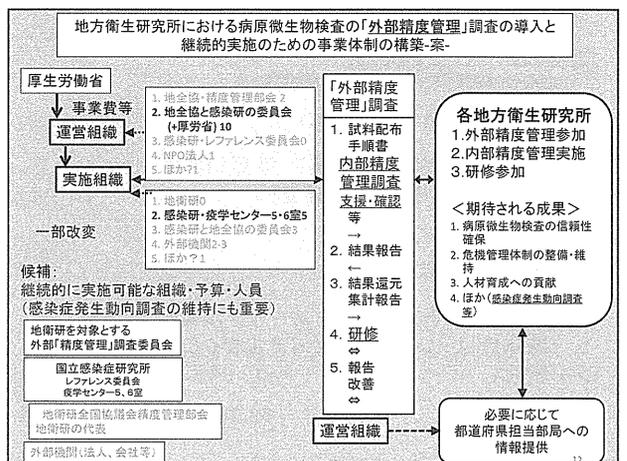
→「外部精度管理調査、内部精度管理、研修の一体化」については、おおよそ良いというご意見。実施体制へのフィードバック(検査マニュアル、作業手順書、人員配置、人員数等)は大切。



まとめ 20150606

Q4: 外部精度管理調査の運営組織と実施組織の案

1. 運営組織: →(2)地全協と感染研(と厚生省)の合同委員会10、地全協主体2、NPO法人1、ほかに1
2. 実施組織: (1)地衛研0、(2)感染研5、(3)感染研と地衛研3、(4)外部機関2/3、(5)1
3. 経費: (1)会費3、(2)参加地衛研負担5、(3)事業費感染研3、(4)ほかに2ともに厚生省事業費
- 予算的に事業費がとれるならOK、なければ参加者負担(意欲の表れ?)
4. 実施時期: 9-10月OK、定期的実施
5. 回数: 年1回程度



「外部精度管理」調査の対象とすべき感染症(優先性の基準)

1. 法的行動制限が必要になるもの(一類、二類、新、指定感染症)
2. 頻度が高く、多くの地衛研で検査が行われている
3. 重症化する
4. 感染拡大の可能性が高い
5. 社会的な影響が大きい
6. 症候群でどの病原体かを明かにする必要があるもの(感染性胃腸炎等)
7. 調査試料として配布できるもの(特定病原体等の運搬基準)
8. など

ほか

- 1) 感染症検査に必要な技術(技能試験など)は必須
 1. 遺伝子検査に係わるもの
 2. 病原体の分離・同定、ほか
- 2) 研究班で継続的に行われているものは当面対象外
ウイルス: インフルエンザ、麻疹、風疹、狂犬病、等
細菌: レジオネラ、下痢原性大腸菌、結核VNTR、等
- 3) 発生が稀で、発生したときは感染研が担当すべきものとして対象外
一類、四類感染症の一部が相当

→最終的な整理が必要

まとめ 20150606

Q3: 外部精度管理の対象とすべき感染症の優先度の基準について

→「外部精度管理の対象とすべき感染症の優先度の基準」は、おおよそOK。

→分離同定の実施は困難。

→実際の検査とは進め方がちがうので、病原体の名前で実施可能かを聞くべき。

参考

原研科研委託費 新興・再興感染症および予防接種政策推進研究事業
国内の病原体サーベイランスに資する機能的なネットワークの強化に関する研究
H26年度 総括・分担研究報告書から精度管理等に関する事項

研究代表者は、宮崎義継(感染研真菌)部長
研究分担者は、感染研12部・結核研究所、山口県と東京都の地方衛生研究所

危機的感染症発生に対し、1) 先ず病原体を特定、2) 病原体サーベイランスにより感染拡大を把握することが重要、以下をもってネットワークの構築・維持を図る。

- 1) 公衆衛生上問題となりうる病原体に関する診断・検査法の研究
- 2) 診断・検査法共有のための相互研修やマニュアルの作成
- 3) 病原体検査用機器や試薬等の整備
- 4) 診断・検査法の精度管理 等。

病原体検査標準作業手順書SOPの作成

- 真菌検査(遺伝子検査): SOPの作成
- 腸管ウイルス感染症(下痢症ウイルス): 内部精度管理試験、SOPひな形作成(マイコプラズマ、ポリオ)

精度管理実施

- 抗酸菌(結核菌VNTR)
- 狂犬病(RT-PCRプラインドテスト)
- 下痢原性大腸菌
- 麻疹

ほか

- ◆ インフルエンザウイルス
- ◆ レジオネラ

問6 地衛研が検査可能な(している)感染症対象疾患
地衛研のおよそ80%以上がができる感染症を「順に」下記にリスト、数字は2013年検査数
* 一類、二類、指定感染症および鳥・季節性インフルエンザを除く

<ウイルス>	検査数	<細菌>	検査数
四 ウエストナイル熱	902	三 コレラ	351
A型肝炎	157	細菌性赤痢	1,045
重症熱性血小板減少症候群	54	腸管出血性大腸菌感染症	9,983
デング熱	372	腸チフス	800
五 後天性免疫不全症候群	18,532	バラチフス	692
先天性風しん症候群	169		
風しん	3,766	四 レジオネラ症	806
麻疹	3,421	五 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	990
五 RSウイルス感染症	2,107		
定 咽頭結膜熱	2,327	<リケッチャ>	
感染性胃腸炎	13,436	つつが虫	211
手足口病	3,401	日本紅斑熱	211
ヘルパンギーナ	2,049		
流行性耳下腺炎	264		
急性出血性結膜炎	116		
流行性角結膜炎	595		
感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る)	1,148		
無菌性髄膜炎	1,976		

ウイルス小班(20150520)
パワポアンケートの回答結果および小班会議結果まとめ

1. 対象感染症について(ウイルス)

→(3位以内の集計) デング熱7, 手足口病5, 無菌性髄膜炎4, 感染性胃腸炎3

→ 手足口病

2. 検査技術(ウイルス)

→ シーケンス(と樹状解析) 4、リアルタイムPCR 4

→ (昨年度はノロウイルスでリアルタイムPCR)なので、シーケンス

→2.木村、3.山下プレゼン参照

細菌小班(20150529)
パワポアンケートの回答結果および小班会議結果まとめ

1. 対象感染症について(細菌)

→3番目までの集計として

1) 細菌性赤痢7、2) EHEC6、3) コレラ4、4) チフス3

2. 検査技術(細菌)

→3番目までの集計、

1) 疫学的解析法(IS-printing, MLVAなど)6

2) リアルタイムPCR5

3) シーケンスと樹状解析5

4) 分離3、ほか

→4.森本、5.勢戸プレゼン参照

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 表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) 41
- 5. 外部精度管理調査「微生物部門:細菌系」 51
- 6. 外部精度管理調査「微生物部門:寄生虫系」 79
- 7. 外部精度管理調査「理化学部門:食品添加物」 83
- 8. 外部精度管理調査「理化学部門:農薬」 95
- 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標準作業書(案) 123
- 13. 標準作業書作成のための標準作業書(案) 127
- 14. 寄生虫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. 研修 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
微生物部門寄生虫系外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考調査
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、参考値
理化学部門(農薬)外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考値
- 2. 研修資料
研修に関するアンケート調査集計結果
赤痢Aメーバ、クリプトスポリジウムを中心とした腸管寄生原虫の検査法

提言(全体の概要) 衛藤班6 表4

1. 活動

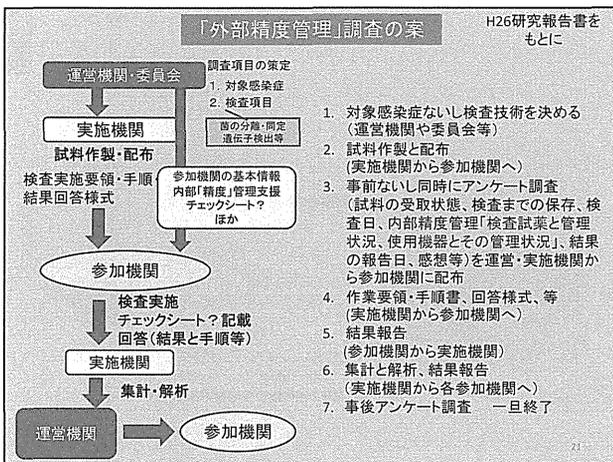
1) 内部精度管理(個々の検査機関で実施)、2)外部精度管理(内部精度管理の機能チェックと検査機能を第三者的立場から評価)、3)レファレンス(情報や標準株標準品、特殊項目の集中実施、試薬等の品質、検査法の検討など)、4)研修・教育、5)公衆衛生情報システム

2. 概略(図1):表3に相当
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。

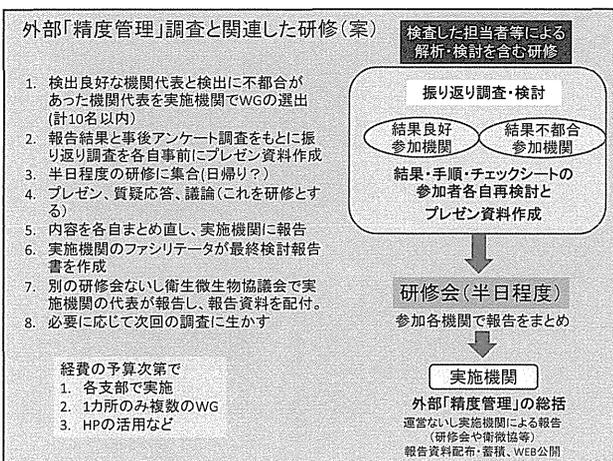
3. 外部精度管理調査: 1. 実行委員会組織、調査、問題点指摘・実施方法の評価等、2. 試料作製配布は国立試験研究機関で調整し梱包し配布、3. 回答の回収、4. 結果の参加施設への還元(菌株は参考株として利用)、5. 調査票の配布(試料受領日、検査開始日と終了日、送付容器・試料の破損の有無、試料配布法、検査項目、回答期間、その他の問題点・意見など)、内部精度管理の重要性と外部精度管理調査の必要性が認められた。

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。



- 外部精度管理との関連が考慮される研修等(2015.2.28) 表6
- 地衛研の感染症等外部精度管理の現状
 - 1) 感染症レファレンス研究班等(インフルエンザ、麻疹・風疹、レジオネラ、結核等)
 - 2) 国衛研と秦野研がおこなう食品衛生法関連外部精度管理
 - 3) 日臨技 ほか → フォトサーベイ?
 - 4) 各地衛研が行う食品衛生関連精度管理(各地域のほかの機関を対象)
 - 5) 厚労料研の研究班ないし厚労省等が必要に応じて行うもの(インフルエンザAH1pdm2009など実習を含むことがある)
 - 地衛研の病原体検査担当者が受講できる研修
 - 1) 国立保健医療科学院主催で国立感染症研究所村山庁舎で行うもの
 1. 技術研修: ウイルスと細菌の研修を隔年開催
 2. 新興再興感染症技術研修 ウイルスと細菌を隔年開催 ~実習込みで、感染症疫学センター第5、6室が担当~
 - 2) ほか(情報交換が中心で技術研修プログラムはない)
 1. 希少感染症診断技術研修会(感染症研2月)
 2. 衛生微生物技術協議会、公衆衛生情報研究協議会、(全国衛生化学技術協議会)
 3. 地全協支部の微生物部会
 4. 地域保健総合推進事業の a) 地域専門家会議、b) 模擬訓練(検査を含む)
 5. 各地域における研修(外部精度管理?)
 6. 厚労料研の研究班ないし厚労省等が必要に応じて行うもの
 7. 学会等



まとめ 20150606

Q6: 研修案P26についてのご意見
→ まあOK。評価必要。

Q8: 自由意見: 供覧
→ のちほどご覧ください。

分 担 表(案)		
2015.6.12		
(適切な方の推薦をお願いします)		
担当小グループ	とりまとめ	担当(研究分担者と協力者)
体制小班 「精度管理」要綱 案作成 報告書	佐多 (富山) 13名	佐野(名古屋) 香月(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) 猿木(群馬) 倉根・宮崎・大石(感染研)
ウイルス小班 「精度管理」実施 要領・手順(案)作 成 報告書	調 (山口) 21名	木村・野田・長澤(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・小淵(富山)・勝見(仙台市) 皆川・山下(愛知) 濱崎(福岡) 松島(川崎) 宮崎・駒瀬・影山・吉田(感染研)
細菌小班 「精度管理」実施 要領・手順(案)作 成 報告書	山本 (大阪) 15名	世良(福岡) 勢戸(大阪) 清水・森本(北海道) 大田(横浜) 四宮(愛媛) 佐多・磯部(富山) 望月(兵庫) 倉園(埼玉) 大石・大西・鈴木・緒方(感染研)
総括・総合研究報 告書作成	佐多 (富山)	各小班担当者(分担、協力)全員
厚労省:中田ほか		

平成27年度の予定表
1. 研究班員の異動にともなう変更 平成27年4月1日
2. 交付申請書提出: 平成27年4月22日夕方
3. 今年度活動への提案とご意見募集: 平成27年4月22日メール
4. 小班会議 ウイルス:5月20日水 細菌:5月29日金の午後1:30(感染研共用第3)
5. 第一回研究会議 平成27年6月12日金 午後1時から 感染研共用第2会議室
6. 研究実施 体制小班はメール、ウイルスと細菌の調査実施 9月頃?-10月?
7. 精度管理部会 11月3日 長崎市 総会前1時間程度 進捗状況報告と議論
8. 第二回研究会議 平成28年1月8日(金) 午後1時から 感染研共用第2会議室
9. 報告書締切 平成28年1月15日(金)
10. 評価会用資料締切 ワードとパワーファイル 平成28年1月15日(金)
11. 研究評価会 平成28年2月下旬 国立保健医療科学院

H27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
継続的实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

研究分担者
国立感染症研究所
感染症疫学センター第6室
木村 博一

H27年度ウイルス検査精度管理小班構成メンバー

研究代表者:佐多徹太郎

小班長:調恒明(山口県)
班員(研究協力者)
塚越博之 小林美保(群馬県)
貞升健志(東京都)
小淵正次(富山県)
皆川洋子(愛知県)
松島勇紀 清水英明(川崎市)
勝見正道(仙台市)
柴田伸一郎(名古屋市)
藤井理津志 岸本寿男(岡山県)
濱崎光宏(福岡県)
宮崎義継 駒瀬勝啓 影山努 野田雅博 長澤耕男 木村博一(感染研)

H26年度 精度管理結果
—NoVリアルタイムPCR定量法—

精度管理応募・実施機関

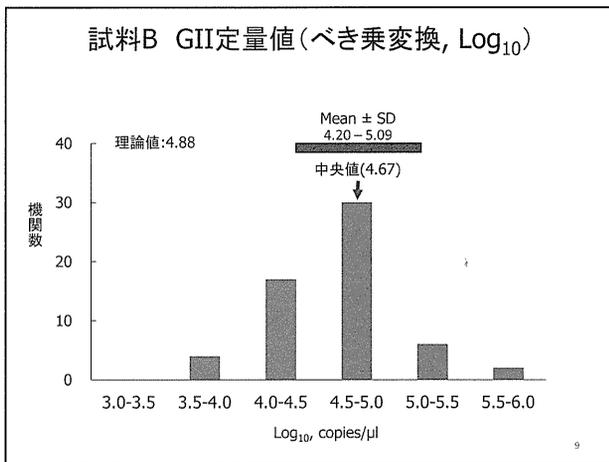
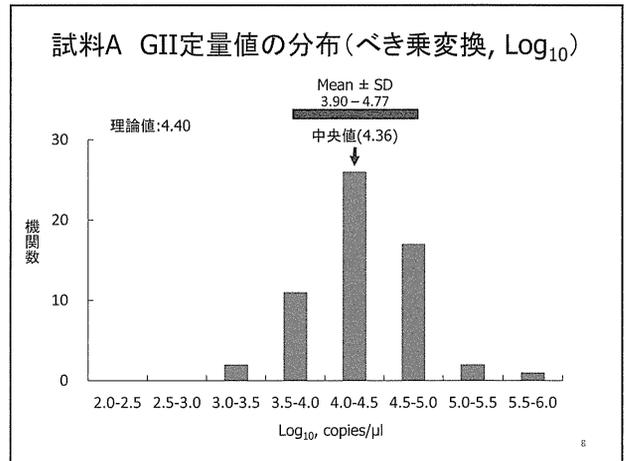
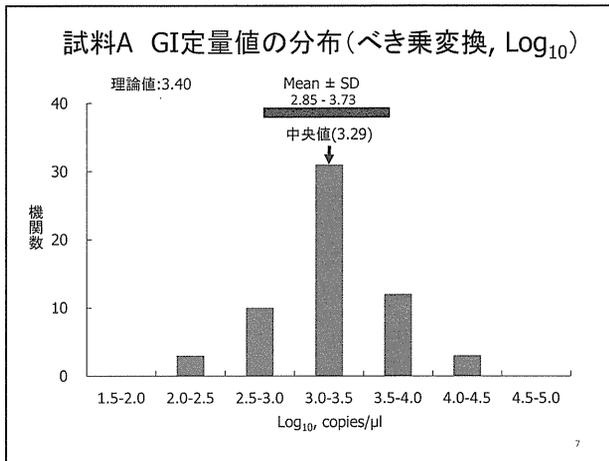
- 参加希望機関 66機関
- 参加機関 60機関(参加希望後辞退:1機関)
- 参加辞退機関 2機関(A県、A市)
- 精度管理参加およびデータ解析機関数:59機関
(都道府県37 政令指定都市 8 中核市11 特別区3)

ブロック別参加機関

北海道・東北・新潟	10/12機関
関東甲信静	19/23機関
東海・北陸	7/8機関
近畿	10/14機関
中国・四国	8/10機関
九州	5/12機関

配布試料

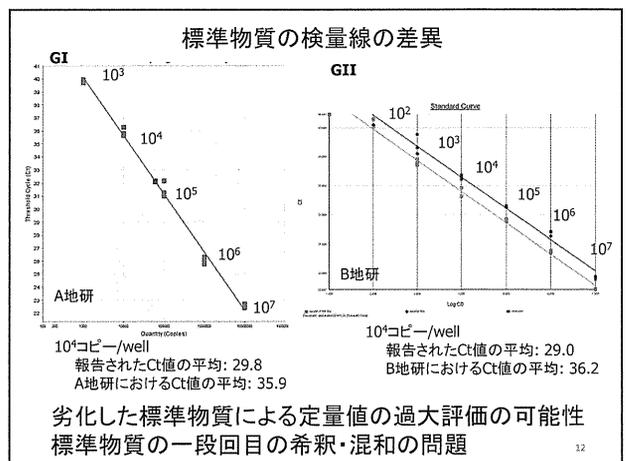
- 試料A(NoV GI NoV GII混合試料)
NoV GI(理論値: 2.5×10^3 copies/ μ l)
NoV GII(理論値: 2.5×10^4 copies/ μ l)
- 試料B(NoV GIIのみ)
NoV GII(理論値: 7.5×10^4 copies/ μ l)



べき乗変換後の統計解析値(Log_{10})

	試料A GI	試料A GII	試料B GII
理論値	3.40	4.40	4.88
平均値	3.29	4.32	4.67
中央値	3.29	4.36	4.67
標準偏差	0.44	0.46	0.42
最小/最大 (最小-最大)	1.87 (2.40-4.49)	1.79 (3.16-5.64)	1.58 (3.75-5.93)
平均値±標準偏差	2.85 - 3.73	3.90 - 4.77	4.20 - 5.09
平均値+1SD以上の機関数	8 (14%)	7 (12%)	6 (10%)
平均値-1SD以下の機関数	6 (10%)	8 (14%)	5 (8.5%)

配布試料定量値の過大評価に関する考察

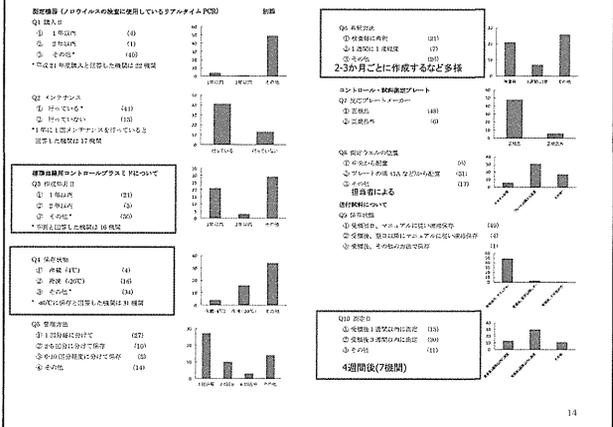


配布試料定量値の過小評価に関する考察

- ・配布試料の混和の問題？
- ・器具(ピペットの精度)の問題？
- ・測定機器のメンテナンスの問題？
- ・配布試料の劣化？

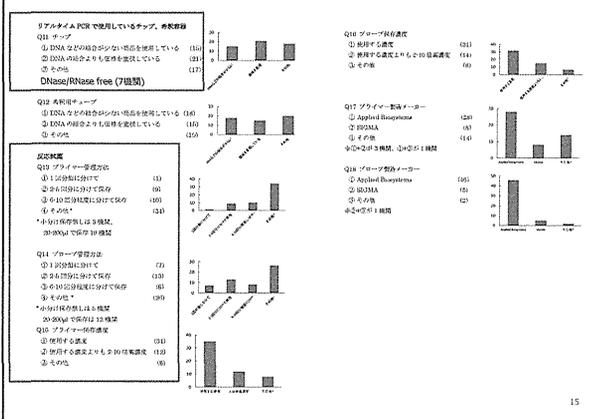
13

追加アンケート結果(54機関より回答)



14

追加アンケート結果(54機関より回答)



15

追加アンケートのまとめ・考察

1. 標準プラスミド保存管理法の周知が必要
2. プライマーやプローブの保存管理法の周知が必要



1. NoV新規標準物質配布
2. NoV標準物質の保存管理法マニュアル配布
3. SaV新規標準物質作成
4. SaV標準物質の配布・測定マニュアル作成中

16

H27年度ウイルス小班 精度管理調査(案)について

- ・昨年度の結果を反映したさらなる調査
- ・今年度の新規精度管理調査

17

・昨年度の結果を反映したさらなる調査

内容: NoVリアルタイムPCR法の精度調査結果に基づいて、最終的なまとめを行う。

方法: 結果を3群に分け、グループミーティング形式で、トラブルシューティングを行う。

分類基準:

- A群: すべてのデータが、べき乗変換後1SD範囲外機関(4機関)
- B群: 1つのデータのみ、べき乗変換後1SD範囲外機関(4機関)
- C群: すべてのデータが、べき乗変換後1SD範囲内機関(2機関)

実施時期: 9月あるいは10月

18

グループワーキング班編成(案)

A群: 都道府県(1) 中核市(2) 政令特別区(1)

B群: 都道府県(2) 政令特別区(2)

C群: 都道府県(2)

グループワーキングシナリオ作成・運営:

◎小淵・○貞升・塚越・勝見・柴田・藤井・濱崎・影山・野田・宮崎・木村

総括: 調・岸本・皆川・佐多

19

・今年度の新規精度管理調査

内容: 地研で頻繁に行われているシーケンス・系統樹解析の精度管理を行う。

材料・方法:

・NoVPCR産物(300bps程度)

1) 材料の塩基配列解析(シーケンス解析)

2) 近隣結合法(NJ法)による系統樹解析

精度管理調査内容:

1) 塩基配列解析の精密度

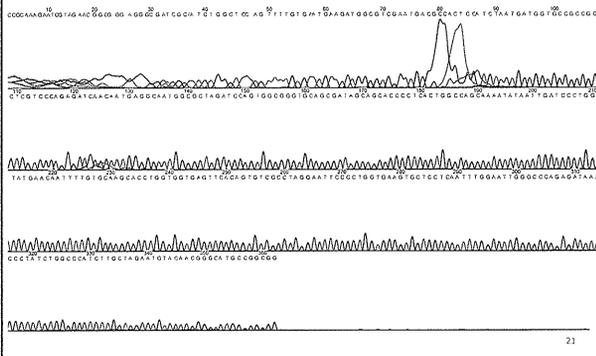
2) 塩基配列解析長

3) 解析試料の系統樹上の位置

4) 標準株との塩基配列相同性

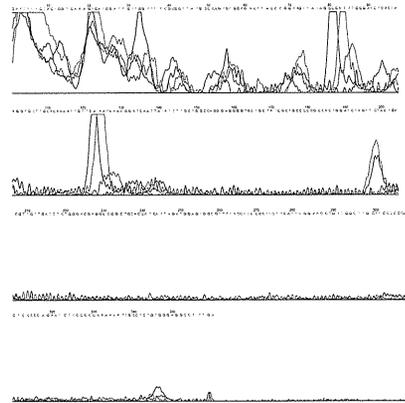
20

シーケンスデータ(成功例)



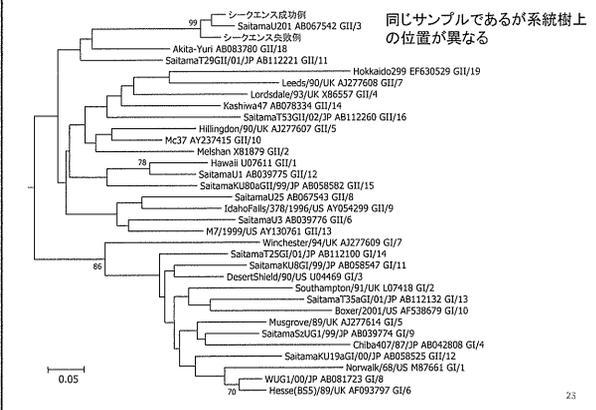
21

シーケンスデータ(失敗例)



22

成功例と失敗例における系統樹上の差異(NJ法)



23

精度管理(シーケンス・系統樹解析)実施手順(案)

・精度管理対象ウイルス: NoV

下記要領などを作成し、昨年度と同様に実施する。

- 1) 精度管理実施要領
- 2) 精度管理実施手順
- 3) 精度管理データファイル
- 4) 精度管理アンケート

- ・1)~4)を8月を目途に作成
- ・9月頃参加希望機関募集
- ・10月試料送付
- ・11月データ還元
- ・12月データ解析
- ・1月結果報告

24

シーケンス精度管理実施案

- ・精度管理実施要領作成
- ・精度管理実施手順作成
- ・精度管理データファイル作成
担当:◎塚越・○長澤・貞升・野田・木村

- ・解析試料作製
担当:◎長澤・○小林・木村

- ・データ解析
担当:◎塚越・○清水(松島)・小林・長澤・野田・木村

- ・総括
担当:調・皆川・岸本・佐多

25

**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)」(研究代表者 佐多徹太郎)
平成27年度第1回班会議**

今年度の外部精度管理調査について(エンテロウイルス)

2015年6月12日(金) 国立感染症研究所 戸山庁舎

愛知県衛生研究所
○山下照夫、皆川洋子

ウイルス外部精度管理調査

- 1 第1回ウイルス小班会議(15/5/20)における議論
外部精度管理対象ウイルスの選定
→(案)手足口病の病原エンテロウイルス
27年度の実施方法・体制
→実施プロトコル案を作成・ウイルス小班参加者間で検討
- 2 5/20に先送りした事項の検討

1 第1回ウイルス小班(15/5/20)における議論

- 1-1 研究の背景・目的
- 1-2 外部精度管理対象ウイルスの選定
- 1-3 27年度の実施方法・研究協力体制

**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の一部を改正する法律
(平成26年11月14日成立)**

※議員への説明資料を一部改変
厚生労働省結核感染症課資料

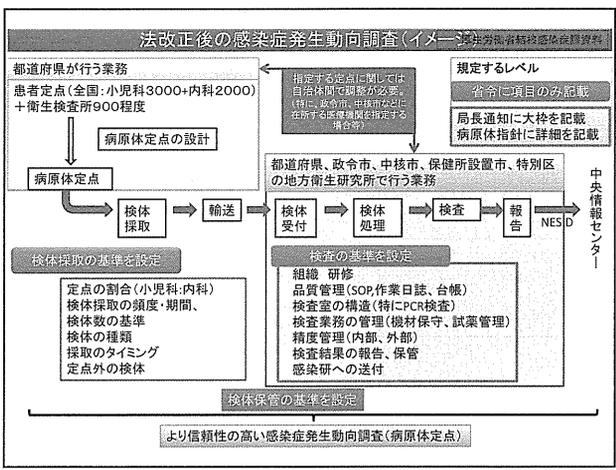
背景
鳥インフルエンザ(H7N9)について、政令での暫定的な指定感染症への指定を早期に法律で措置するとともに、デング熱など昨今の感染症の発生状況を踏まえ、感染症に対応する体制を一層強化することが必要。

概要

1. 新たな感染症の二類感染症への追加
○ 現在、政令により暫定的に二類感染症として扱われている鳥インフルエンザ(H7N9)及び中東呼吸器症候群(MERS)について、二類感染症に位置付ける。
※ 政令に基づく暫定的な指定感染症としての期間は、それぞれ鳥インフルエンザ(H7N9)についてはH27.7.28に満了予定。
※ 鳥インフルエンザ(通常は季節性感染)については、遺伝子の変異に迅速に対応できるよう、二類感染症に該当するものの性質を明確化した上で、その範囲は総合的に見直しすることとし、現在法律で規定されているH5N1に加えてH7N9を規定することを予定。
2. 感染症に関する情報の取扱いの強化
○ 知事(緊急時は厚労大臣)は、全ての感染症の患者等に対し検体の採取等に依ること、また、医療機関等に対し保有する検体を提出すること等を要請できる旨の規定を整備。
※ 上記によっては対応できない場合、知事(緊急時は厚労大臣)は、一部感染症、二類感染症、新型インフルエンザ等感染症及び新感染症の患者等から検体の採取等の措置をとることができる旨の規定を整備。
※ 検体採取の責の所在を明らかにするため、知事(大臣)が実施する検査の実施、検査結果の報告、厚労大臣(知事)に対する提出の要請を規定。
※ 一部の五類感染症について情報の取扱いを強化。(伝染性細菌感染症及び麻しんの届出方法の変更、季節性インフルエンザの届出の取扱い(検体採取)を新設)

(*) その他
三種病原体等として管理規制(検体の届出等)が行われる結核菌の範囲を限定。
保健所による結核患者に対する直接服薬確認指導について、医療機関等と連携して実施するための規定を整備。

施行期日
1. は公布の日から起算して二月を経過した日(その他の規定はH.28.4.1等)



病原体検出検査の外部精度管理の目的

- ・原則として定性検査結果の質を確保する
(一定の感度を保持したうえで陰性・陽性を判定)
- ・偽陽性発生の予防
- ・検査機関によるバラツキ(感度、正確度)を
実施時の許容範囲に収める

(例)愛知県衛生検査所精度管理
昭和57年開始 配布検体から病原細菌を分離同定

※食品GLP, 水質GLPとは異なる点もある
検査感度・正確性が担保されれば、
手法・プロトコルには裁量の余地あり

1 第1回ウイルス小班(15/5/20)における議論

1-1 研究の背景・目的

1-2 外部精度管理対象ウイルスの選定

1-3 27年度の実施方法・研究協力体制

外部精度管理の対象←ウイルス？診断名？

- 結果が人権制限等の判断根拠の一部となる検査
↑最重要であるが感染研が最終診断？

例：二類・指定・新型インフルエンザ等感染症病原体検出

- 結果が行政対応に直結する検査

例：麻疹ウイルス検出

- 結果が行政判断の科学的根拠となる検査

病原体サーベイランス対象ウイルス
節足動物媒介ウイルス
定期予防接種が実施されているウイルス

- 感染症法に基づく届出精度の向上につながる検査

医療機関から病原体検査オーダーが困難な四類・五類感染症

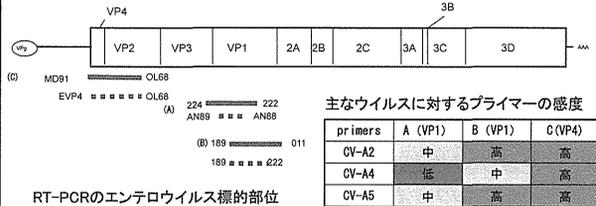
ウイルス外部精度管理対象候補

類型	病名	ウイルス	対象検査法	備考
二類	MERS	MERSコロナ	RT-PCR	
二類	鳥インフルH7N9	FluA(H7N9)	リアルタイムRT-PCR	
二類	ポリオ	ポリオ		
四類	デング熱	DENV 1-4	リアルタイムRT-PCR	節足動物
四類	A型肝炎	HAV	RT-PCR, シークエンス	
四類	E型肝炎	HEV	RT-PCR	
四類	SFTS	SFTSV	RT-PCR	節足動物
五全	麻疹・風しん	MeV, RUBV	リアルタイムRT-PCR	
五定	手足口病	EV-71, Cox.A	RT-PCR, シークエンス 細胞培養	病サ
-----	無菌性髄膜炎	Enterovirus, Mumps	RT-PCR, 細胞培養	病サ
五定	ヘルパンギーナ	Cox.A	RT-PCR	病サ
五定	感染性胃腸炎	Rota, Norovirus	RT-PCR	病サ
五定	咽頭結膜熱	Adenovirus	PCR, 細胞培養	病サ
(五定)	上気道炎	RSV, HMPV	RT-PCR, シークエンス	病サ

「地域における健康危機管理に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究」
班会議(吉村班) ウイルス部門 平成20年度研究報告
健康危機事例において求められるエンテロウイルス迅速診断法の確立

1. 解析対象 全20例
・脳(脊髄)炎等中枢神経系感染症あるいは脳症(疑いを含む)。
・重症あるいは重篤めぐい液が確保された症例。
2. 検査手法: RT-PCR, 細胞培養(Vero, HeLa, RD)

マルチプレックスRT-PCR法(下記A~Cの併用)
プライマー(B,C): 高感度(型別は限定的), 所要時間6時間
プライマー(A): 塩基配列決定による確定診断及びウイルス型別



主なウイルスに対するプライマーの感度

primers	A (VP1)	B (VP1)	C (VP4)
CV-A2	中	高	高
CV-A4	低	中	高
CV-A5	中	高	高
CV-A6	中	高	高
EV-71	中	中	高
PV-3	中	非検出	高

臨床検体からのウイルス検出結果

No	臨床診断名	検出ウイルス	PCR		細胞培養		備考 (その他検体)
			糞便	その他	糞便	その他	
4	急性散在性脳脊髄炎	Echo-11	+	-	+	-	CSF, 血清, 咽頭ぬぐい液
7	急性小脳失調症	Adeno-5	(-)	-	+	-	血清, 咽頭ぬぐい液
11	急性脳炎	Coxsackie A4	+	-	-	-	CSF
13	急性脳炎	Coxsackie A16	+	-	+	-	咽頭ぬぐい液
14	急性脳炎	Adeno-3	(-)	-	+	+	CSF, 咽頭ぬぐい液 (咽頭)
15	脳症	HPeV-3	-	-	+	-	咽頭ぬぐい液
16	髄膜炎	Coxsackie A4	-	+	-	-	CSF, 尿, 咽頭ぬぐい液 (咽頭)
18	急性散在性脳脊髄炎	Coxsackie B1	+	-	+	-	咽頭ぬぐい液, 尿
19	急性脳炎	Mumps	-	-	-	+	CSF, 咽頭ぬぐい液 (CSF)
		陽性率	4/19 (21%)	1/19 (5%)	6/19 (32%)	2/19 (11%)	9/19(47%)

エンテロウイルス陽性検体の検討

No	臨床診断名	検出ウイルス	PCR		細胞培養	
			糞便	その他	糞便	その他
4	急性散在性脳脊髄炎	Echo-11	+(VP1, VP4)	-	+(RD)	-
11	急性脳炎	Coxsackie A4	+(VP4)	-	-	-
13	急性脳炎	Coxsackie A16	+(VP1, VP4)	-	+(Vero)	-
16	髄膜炎	Coxsackie A4	-	+(VP4) (咽頭)	-	-
18	急性散在性脳脊髄炎	Coxsackie B1	+(VP1, VP4)	-	+(HeLa)	-
		陽性率	4/5(80%) VP1: 3/5(60%) VP4: 4/5(80%)	1/5(20%) VP1: 0/5(0%) VP4: 1/5(20%)	3/5(60%)	0/5 (0%)
			VP1: 3/5 (60%) VP4: 5/5 (100%)		3/5(60%)	

昨年度の外部精度管理調査 と 研修案

北海道立衛生研究所 森本 洋
H27.6.12 第一回研究班会議

1

昨年度の外部精度管理調査について —検討課題—

(石岡先生第二回班会議スライドより)

- 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
- 対象参加機関および実施時期

2

報告書には(1)

- 全国70以上の地衛研に同時に同一条件で臨床検体を送付することは現状の体制では難しい。
(石岡先生報告書結論)
- 感染研での実施においては、
 - * BS室への届け出、審査、当日のチェック、梱包
 - * 対象11機関→7機関、4機関の2回に分け発送
 - * 79地研へ対応する場合、安定した大量の試料を作製し、同一期日に到着するよう発送するのはかなり困難。

3

報告書には(2)

- まずは、精度のしっかりした試料を作製することが必要であり、そのためには素性のはっきりした菌株の収集も重要であることが示唆された。
(石岡先生報告書結論)

4

昨年度供試試料

- 材料:ヒト由来糞便(胃腸炎患者を想定)
- 対象病原体
添加血清型:
 - Salmonella Infantis(鶏肉由来)
→ 硫化水素非産生性の非典型株
 - 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
 - * それぞれ100000CFU/g添加し、シードスワブで対応



感染研保有の菌株から供試するのは
困難だった、とコメントされていた。

(ヒト由来株では、倫理審査の問題が発生する可能性?)

菌株選定にあたって

- 一般的な外部精度管理においては、
 - ①典型的・変異を起こしにくい菌株を供試し、一連の検査工程の確認をする。
 - ②意図を持って、あえて非典型的な菌株や複数種の組合せにより供試する。
(例)・非典型的なタイプによる事例発生が報告され始めた。・チフス、パラチフスA菌など重要な菌との鑑別が求められる。・サルモネラであれば、旧亜種 I 以外のタイプの鑑別ができるか確認したい。など。

6

昨年度供試試料

- 材料:ヒト由来糞便(胃腸炎患者を想定)
 - 対象病原体
 添加血清型:
 Salmonella Infantis(鶏肉由来)
 → 硫化水素非産生性の非典型株
 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
- ➡ このようなサルモネラ感染症が実際に発生しているのであれば・・・

7

昨年度結果

各試料からの検出結果

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

試料1における検出結果

	分離血清型	分離機関数
	Cerro*のみ	3
	Infantisのみ	0
	Cerro* および Infantis	8
	計	11

Cerro*: 推定およびO血清、H血清凝集パターンを表記を含む

ここで気になる点として

① Cerro*のみと回答した機関が3機関あつが、Infantisのみと回答した機関は無かつた。

② Cerro*: 推定およびO血清、H血清凝集パターンの表記を含む。

8

「① Cerro*のみ:3、Infantisのみ:0」はなぜ起こつたのか1(報告書より推察)

- 増菌培養(液体培地)の有無ではないか。
 → 有:分離培地であるDHL、SS、ESサルモネラⅡ培地で複数のサルモネラの存在が示唆された。
 無:分離培地であるSS、ESサルモネラⅡで複数のサルモネラの存在が示唆された。
- * 増菌有りの場合、DHL培地での確認がしやすかつたと報告されていた。
- * 1枚のシャーレから3~5コロニー釣菌し確認したと記載されているが、条件、分離培地、正確な確認個数とそれに合わせた同定結果の記載がなかつたため、詳細不明。

9

「① Cerro*のみ:3、Infantisのみ:0」はなぜ起こつたのか2(報告書より推察)

- 試料到着から検査実施までのタイムラグの影響ではないか。試料送付H26.12.5および12.8に対し、
 → 検証データ詳細は、12.9に実施している。
 検証データは省略されているが、12.15以降の第二週目にも検証を実施している。
- 第二週目の検証では
 → 直接塗抹した平板の発育状態は、送付直後と比較しあまり良くない。この場合、明確に発育するまでにさらに1日を要した、と報告されていた。
- * 試料送付から検査までのタイムラグの影響が指摘されており、今後の外部精度管理試料の安定化に向けた検討が必要と思われた。

10

「① Cerro*のみ:3、Infantisのみ:0」はなぜ起こつたのか3(北海道の結果より推察)

試料	結果	分離血清型
1	陽性	Infantis Cerro Cerroと推察されたもの
2	陰性	

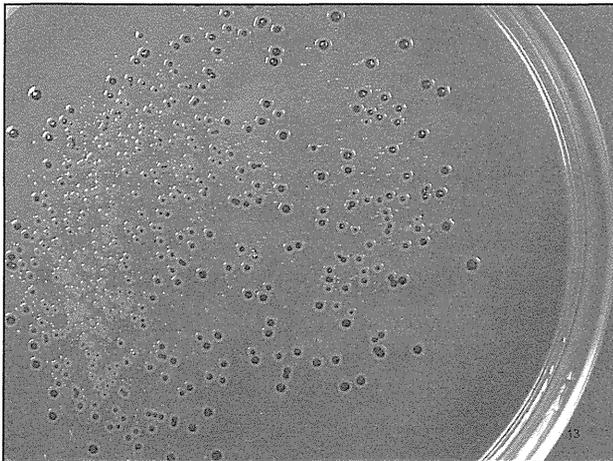
- H26.12.5発送で12.8着。その日のうちに検査を開始。
- サルモネラ症の場合、急性期では増菌を行わないのが一般的であるため、当所では実施せず。
- シードスワブを1mlの滅菌生食に懸濁後、DHL培地とクロモアガーサルモネラ培地で分離培養。
- DHL、クロモアガーからそれぞれ3コロニーを釣菌。
- DHL → すべてCerro*、クロモ → すべてInfantis。

11

「① Cerro*のみ:3、Infantisのみ:0」はなぜ起こつたのか4(北海道の結果より推察)

- Infantis:一夜培養におけるDHL上のコロニーは非常に小さく、一見するとサルモネラ属菌において、コロニー密集エリアで一般的に認められる、小さく、かつ小さいが故に硫化水素(-)に見えるような発育状況だった。(実際には発育が非常に遅く、かつ硫化水素(-)タイプ)
- DHL上では、一般的に発育の良いスムーズなコロニー(硫化水素の+、-にかかわらず)を釣菌するようにしているため、すべてCerro*になった。
- 実際の配付試料によっては、到着当日に検査を実施しても、Infantisの発育が非常に悪い場合もあつたため(使用培地にもよる)、Cerro*のみ:3、Infantisのみ:0となるケースがあつたと考えられた。

12



「② Cerro* : 推定およびO血清、
 H血清凝集パターンを表記を含む」
 について1(北海道の結果より推察)

試料	結果	分離血清型
1	陽性	Infantis Cerro Cerroと推察されたもの
2	陰性	

- 「Cerro*」の中には正確にはCerroと断定できないものがあった。
O血清、H血清凝集パターン
- 地研によっては抗原構造のみの記載で、血清型Cerroとしなかったところもあったのでは？
- 北海道の結果(抗原構造)
 ① O6,18:Z₄,Z₂₃:− ② O18:Z₄,Z₂₃:− ③ O18:Z₄,Z₂₃:1,5

「② Cerro* : 推定およびO血清、
 H血清凝集パターンを表記を含む」
 について2(北海道の結果より推察)

血清型	O抗原	H抗原1相	H抗原2相
Cerro	6,14,18	Z ₄ ,Z ₂₃	[1,5]
Aarhus	18	Z ₄ ,Z ₂₃	Z ₆₄
II	18	Z ₄ ,Z ₂₃	−
IIIa	18	Z ₄ ,Z ₂₃	−

- II、IIIaは生化学的性状結果から外すことができる。
- 6,14は、保有していない場合もある。[1,5]も通常の分離株には存在しない場合が多い。O6は市販品有り。
- 北海道の結果(抗原構造)
 ① O6,18:Z₄,Z₂₃:− ② O18:Z₄,Z₂₃:− ③ O18:Z₄,Z₂₃:1,5

「② Cerro* : 推定およびO血清、
 H血清凝集パターンを表記を含む」
 について3(北海道の結果より推察)

- 北海道の結果(抗原構造)
 ① O6,18:Z₄,Z₂₃:− ② O18:Z₄,Z₂₃:− ③ O18:Z₄,Z₂₃:1,5
 - ①はO6、③はH抗原2相が1,5からCerroと考えられる。
 - ②は、Aarhus (O18:Z₄,Z₂₃:Z₆₄)のH抗原2相脱落株の可能性も？。(近年、O4:i:−のように、Typhimuriumの可能性のあるH抗原2相脱落株による患者発生が増えている)
- ⇒ このように抗原構造において変異が起こりやすいタイプは、外部精度管理においては、扱いが難しいと思われる。評価が難しくなる。

「② Cerro* : 推定およびO血清、
 H血清凝集パターンを表記を含む」
 について1' (北海道の結果より推察)

試料	結果	分離血清型
1	陽性	Infantis Cerro Cerroと推察されたもの
2	陰性	

- 「Cerro*」の中には正確にはCerroと断定できないものがあった。
O血清、H血清凝集パターン
- 地研によっては抗原構造のみの記載で、血清型Cerroとしなかったところもあったのでは？
- 北海道の結果(血清型)
 ① Cerro ② Cerroと推察されたもの ③ Cerro

全国規模の精度管理を行うためには

- ①外部精度管理用菌株の検討(安定性と管理)
- ②配付試料の安定化に向けた検討(作製、輸送法・温度管理)
- ③外部精度管理参加条件の設定(設備が対象菌に「適」?)
- ④配付方法の検討(梱包は?、配送機関は?)
- ⑤検査方法の検討(定義:どの部分に重きを置くのか)
- ⑥プレ外部精度管理実施
- ⑦評価と解析方法の検討
- ⑧内部精度管理の必要性
- ⑨外部機関との協力(将来的な外部精度管理委託機関)
- ⑩その他(検査法の標準化、研修会等)

微生物学調査試料の作製

- ▶ 微生物学検査用調査試料の最大の問題点は、添加菌の増殖、死滅、変異をいかに抑えるのか
- ▶ 定性検査で結果に影響を及ぼさないことを前提とした場合には、いかに死滅させないか
⇒調査試料中の添加菌の均一性、安定性の担保

これらは定量検査では結果のばらつき、定性検査では誤判定につながる可能性がある

外部精度管理調査期間中どの容器を用いても、いつ検査を実施しても一定の結果が得られることが調査試料に求められる前提条件

19
(薬野研究所資料より)

研修案

外部精度管理と関連する研修

- 研究班として、その有効性を評価する。
- 昨年度の調査においては、評価が難しい点もあったが、サルモネラ属全体として考えた場合、いくつかの注意点が示唆された。
- 今年度、サルモネラ属菌の研修が実施できれば。
- どのような実施が良いか。

* 実技は？、座学のみ？、参集範囲は？

時期は？、場所は？、講師は？、予算は？²⁰

例えば

- 対象：昨年度外部精度管理調査検査担当者。
特に、2種類の血清型を回答しなかった施設。
- 担当者が異動している場合や、参加施設の考え方によっては、検査業務のコアになる方など。
- どのような場合でも、各地研で今後技術の定着がなされ、継続的に内部精度管理が行えることが重要。

21

例えば

- 実技も実施できれば良いが、短期間(短時間?)で実施するためのポイントの絞り込みが必要。
- 各エリアのブロック会議の利用は可能か？
地理的な要因、旅費を考慮すると参加しやすい？
- 希少感染症研修会での座学では？
- ブロック会議や希少感染の利用であれば、全地研への伝達がしやすい？

⇒ 今年度実施に向けた検討

22

本年度の外部精度管理調査案

アンケート結果、今後の必要性などから考えられる対象病原体候補

- 3類感染症(腸管感染症)の原因菌
 - コレラ菌
 - 赤痢菌
 - 腸管出血性大腸菌
 - チフス菌
 - パラチフスA菌
- 5類感染症の原因菌
 - A群溶血性レンサ球菌
 - カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)

外部精度管理の導入と継続実施のための事業体制の構築に関する研究
平成27年度第一回班会議
大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課 勢戸和子¹

精度管理の対象病原体の検討 コレラ菌検査に関する品質保証ポイント

届出基準: 検査材料 便
検査方法 分離・同定による病原体の検出、かつ、コレラ毒素の確認(毒素産生、毒素遺伝子)

「コレラエンテロトキシン非産生性コレラ菌の取扱い等について」
昭和63年9月28日付

コレラ菌の中で行政上の防疫対策の対象となるのは*V. cholerae* O1で(のちにO139追加)、かつ、コレラエンテロトキシンを産生する菌のみとし、コレラエンテロトキシン非産生性コレラ菌の取扱いについては特段の防疫措置は必要ない。

国内初発であるか否かを問わず、真性患者及び保菌者としての決定は地方衛生研究所における検査によって行うこと。

精度管理の対象病原体の検討 コレラ菌検査に関する品質保証ポイント

届出基準: 検査材料 便
検査方法 分離・同定による病原体の検出、かつ、コレラ毒素の確認(毒素産生、毒素遺伝子)

- コレラ菌同定の根拠
 - 1) 性状
 - 2) 血清型・生物型
 - 3) コレラ毒素(CT)
- コレラ菌同定の問題点
 - 1) 経験者が少ない(臨床も行政も)
 - 2) 検査所で検査しなくなった

早急に外部精度管理が必要

- ・ CT(ctx)の確認は地方衛研で行うことを再確認
- ・ 必要十分な検査項目の確認

精度管理の対象病原体の検討 赤痢菌検査に関する品質保証ポイント

届出基準: 検査材料 便
検査方法 分離・同定による病原体の検出

- 赤痢菌同定の根拠
 - 1) 性状
 - 2) 血清型
 - 3) 病原因子(細胞侵入性に関与する遺伝子)
- 赤痢菌同定の問題点
 - 1) 陽性となる性状が少なく、自動同定機器や簡易同定キットでは同定困難(医療機関等で分離された菌株の鑑別依頼多い)
 - 2) 免疫血清がない、あるいは血清型が決まらない
 - 3) 病原因子(細胞侵入性に関与する遺伝子)を検出しても、EIEC(腸管侵入性大腸菌)との鑑別が必要



IASR Vol.24 No.9 (No.283) September 2003

Theme HIV/AIDS 2002年
Topic

特集関連情報

- ・ エイズ予防教育のエビデンス-長崎プロジェクト
- ・ 保健所における性感染症検査の導入による効果-鹿山市
- ・ HIV感染症診断の検査手順の見直し

ミニ特集

- ・ 赤痢菌の検査法の問題点と解決策: IASR編集委員会座談
- ・ 赤痢菌の同定に関する問題事例-沖縄県
- ・ 医療機関で大腸菌が完菌菌(*S. boydii*)と誤同定された事例-滋賀県
- ・ 下痢症患者から分離された*M. morqanii*が赤痢菌と誤同定された事例-千葉県
- ・ 赤痢菌同定の問題点-東京都
- ・ 赤痢菌同定における留意点
- ・ 赤痢菌同定検査の問題点と現場からの提案

10年以上経っても問題点は解決していない

精度管理の対象病原体の検討 EHEC検査に関する品質保証ポイント

届出基準: 検査材料 便
検査方法 分離・同定による病原体の検出、かつ、ペロ毒素の確認(毒素産生、毒素遺伝子)

- EHEC同定の手順と問題点

主要なO血清群とマイナーなタイプとは検査法が異なる

 - 1) 大腸菌の分離 分離培地の選択性に左右される
 - 2) 毒素産生・毒素遺伝子の確認
方法によって検出できないサブタイプがある
 - 3) 血清型別 型別できない株も多い(届出には必要ない)

* 遺伝子型別法の精度管理にも希望がある
* 細菌第一部からSSIのEQA用菌株を配布していただける

EHECの毒素検出法の比較

Subtype	オーンVT1/VT2		VTEC-RPLA		Duopath VT	
	被検株数	陽性	被検株数	陽性	被検株数	陽性
1a	3	3	8	8	4	4
1c	1	1	3	3	3	3
1d	5	3	3	3	3	3
2a	3	3	9	9	4	4
2b	2		8	6	8	
2c	10	4	13	12	12	7
2d	6	6	6	6	6	3
2e	7		10		6	
2f	12		12	11	12	
2g	2		2	1	2	1
計	51	20	74	59	60	25

オーンVT1/VT2 酵素抗体法(Stx1とStx2の型別はできない)
 VTEC-RPLA 逆受身ラテックス凝集反応
 Duopath VT イムノクロマト法

O157で2c陽性株は
 少ない

EHECの毒素遺伝子検出法の比較

Subtype	Real-time PCR	Conventional PCR						LAMP		
	Takara	Sceutz		Lin	Karch	Cebula			Takara	
	stx	stx1	stx2	stx	stx	stx1	stx2		stx1	stx2
1a	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
1c	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
1d	-	+	-	+	-	-	-	+	-	(+)
2a	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
2b	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
2c	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
2d	+	-	+	(+)	+	-	+	-	+	+
2e	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
2f	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
2g	+	-	+	(+)	+	-	+	-	+	(+)

+ 陽性
 (+) 弱陽性または検出感度低い
 - 陰性

検出できない場合もある(マイナーなサブタイプのヒトへの病原性は不明な点も多い)

配布可能菌株(3): EQA用菌株

ON REPORT

STAT 6.5
SERUM
INS111131

EQA PART: SEROTYPING, PHENOTYPING, GENOTYPING AND STX/VTX/SUBTYPE

RESULTS TABLE

O group	H type	Vero cell assay	ESTx1 procl.	Hemolysin prod.	Stx1/2 procl.	Shiga toxin prod.	Serified form.	eae gene	ehec gene	stx1 gene	stx2 gene	vtx subtype	Additional virulence genes	Antigenic group
A55														STX2/HC
B2														HC
B2c														STX2/HC
B2d														STX2/HC
B2e														STX2/HC
B2f														STX2/HC
B2g														STX2/HC
B2h														STX2/HC
B2i														STX2/HC
B2j														STX2/HC
B2k														STX2/HC
B2l														STX2/HC
B2m														STX2/HC
B2n														STX2/HC
B2o														STX2/HC
B2p														STX2/HC
B2q														STX2/HC
B2r														STX2/HC
B2s														STX2/HC
B2t														STX2/HC
B2u														STX2/HC
B2v														STX2/HC
B2w														STX2/HC
B2x														STX2/HC
B2y														STX2/HC
B2z														STX2/HC
B2aa														STX2/HC
B2ab														STX2/HC
B2ac														STX2/HC
B2ad														STX2/HC
B2ae														STX2/HC
B2af														STX2/HC
B2ag														STX2/HC
B2ah														STX2/HC
B2ai														STX2/HC
B2aj														STX2/HC
B2ak														STX2/HC
B2al														STX2/HC
B2am														STX2/HC
B2an														STX2/HC
B2ao														STX2/HC
B2ap														STX2/HC
B2aq														STX2/HC
B2ar														STX2/HC
B2as														STX2/HC
B2at														STX2/HC
B2au														STX2/HC
B2av														STX2/HC
B2aw														STX2/HC
B2ax														STX2/HC
B2ay														STX2/HC
B2az														STX2/HC
B2ba														STX2/HC
B2bb														STX2/HC
B2bc														STX2/HC
B2bd														STX2/HC
B2be														STX2/HC
B2bf														STX2/HC
B2bg														STX2/HC
B2bh														STX2/HC
B2bi														STX2/HC
B2bj														STX2/HC
B2bk														STX2/HC
B2bl														STX2/HC
B2bm														STX2/HC
B2bn														STX2/HC
B2bo														STX2/HC
B2bp														STX2/HC
B2bq														STX2/HC
B2br														STX2/HC
B2bs														STX2/HC
B2bt														STX2/HC
B2bu														STX2/HC
B2bv														STX2/HC
B2bw														STX2/HC
B2bx														STX2/HC
B2by														STX2/HC
B2bz														STX2/HC
B2ca														STX2/HC
B2cb														STX2/HC
B2cc														STX2/HC
B2cd														STX2/HC
B2ce														STX2/HC
B2cf														STX2/HC
B2cg														STX2/HC
B2ch														STX2/HC
B2ci														STX2/HC
B2cj														STX2/HC
B2ck														STX2/HC
B2cl														STX2/HC
B2cm														STX2/HC
B2cn														STX2/HC
B2co														STX2/HC
B2cp														STX2/HC
B2cq														STX2/HC
B2cr														STX2/HC
B2cs														STX2/HC
B2ct														STX2/HC
B2cu														STX2/HC
B2cv														STX2/HC
B2cw														STX2/HC
B2cx														STX2/HC
B2cy														STX2/HC
B2cz														STX2/HC
B2da														STX2/HC
B2db														STX2/HC
B2dc														STX2/HC
B2dd														STX2/HC
B2de														STX2/HC
B2df														STX2/HC
B2dg														STX2/HC
B2dh														STX2/HC
B2di														STX2/HC
B2dj														STX2/HC
B2dk														STX2/HC
B2dl														STX2/HC
B2dm														STX2/HC
B2dn														STX2/HC
B2do														STX2/HC
B2dp														STX2/HC
B2dq														STX2/HC
B2dr														STX2/HC
B2ds														STX2/HC
B2dt														STX2/HC
B2du														STX2/HC
B2dv														STX2/HC
B2dw														STX2/HC
B2dx														STX2/HC
B2dy														STX2/HC
B2dz														STX2/HC
B2ea														STX2/HC
B2eb														STX2/HC
B2ec														STX2/HC
B2ed														STX2/HC
B2ee														STX2/HC
B2ef														STX2/HC
B2eg														