

. 総括研究報告書

平成29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に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な
事業体制の構築に関する研究（H28-健危-一般-002）
総括研究報告書

研究代表者：皆川 洋子

愛知県衛生研究所

研究要旨 改正感染症法に基づいて自治体を実施する病原体検査に特化した、食品GLP及び水質GLP等とは一線を画す外部精度管理システムの構築を目的として、平成28年度より2年計画で地方衛生研究所（地衛研）と国立感染症研究所（感染研）を主体とする三つの小班を編成して各々(1)ウイルス及び(2)細菌外部精度調査試行及びプロトコルひな形案の作成、(3)28年度に実施した全国地衛研に対する病原体検査精度に関わる体制及び検体配付等のアンケート調査解析及び地域における地衛研の役割に関する検討、を実施した。(1)ウイルス小班ではエンテロウイルス遺伝子検査外部精度調査を試行し、市販核酸を活用する外部精度調査プロトコル案が完成した。また、国立保健医療科学院が計画し感染研が実施する地衛研担当者を対象とする研修受講者を対象とする精度保証の手法を取り入れたウイルス遺伝子検査法研修の成果を解析した。(2)細菌小班では28年度に選定した精度調査用赤痢菌菌株を全国27地衛研に配布して外部精度調査を試行し、一連の流れから細菌外部精度調査プロトコルひな形案を得た。(3)項目小班では、28年度にほぼ全ての地衛研の協力を得て実施したアンケート調査結果に基づいて地衛研が抱える課題の解析を継続するとともに、地域における検体配付実績等について追加調査や保健所・大学とのWG会議を通じて、自治体における病原体検査担当者育成や、地域における病原体検査体制の維持強化に向けて地衛研の果たすべき役割についての検討結果をまとめた。

研究組織

研究代表者	皆川 洋子	愛知県衛生研究所
研究分担者	調 恒明	山口県環境保健センター
	滝澤 剛則	富山県衛生研究所
	四宮 博人	愛媛県立衛生環境研究所
	佐野 一雄	名古屋市衛生研究所
	岸本 壽男	岡山県環境保健センター
吉田 弘、村上 光一、大石 和徳、	宮崎 義継、脇田 隆字	国立感染症研究所
	木村 博一	国立感染症研究所（現 群馬パース大学）
	松本 昌門	愛知県衛生研究所
研究協力者	高橋 雅輝	岩手県環境保健研究センター
	北川 和寛	福島県衛生研究所
	水越 文徳	栃木県保健環境センター
	猿木 信裕	群馬県衛生環境研究所
	峯岸 俊貴、岸本 剛	埼玉県衛生研究所
長谷川道弥、新開 敬行、河村 真保、小西 典子、平井昭彦、貞升 健志、千葉 隆司、大井 洋		東京都健康安全研究センター
	佐野貴子、近藤真規子	神奈川県衛生研究所
	小澤 広規	横浜市衛生研究所
	清水 英明	川崎市健康安全研究所
磯部 順子、板持雅恵、小淵 正次		富山県衛生研究所
	中田 恵子、勢戸 和子	大阪健康安全基盤研究所
	木田 浩司	岡山県環境保健センター
	豊嶋 千俊	愛媛県立衛生環境研究所
吉富 秀亮、濱崎 光宏、世良 暢之、香月 進		福岡県保健環境研究所
	西澤 香織	熊本市環境総合センター
泉谷 秀昌、大西 真、梅山 隆		国立感染症研究所
	長澤 耕男	千葉大学大学院医学研究院小児病態学
	山下 照夫	修文大学健康栄養学部
	猪飼 薫、奥田 健司	愛知県一宮保健所
伊藤 雅、山田 和弘、垣添 寛和、鈴木 裕子		愛知県衛生研究所

研究協力者（つづき）

アンケート調査に協力いただいた全国地方衛生研究所の担当者

ウイルス研修時の調査等に協力いただいた全国地方衛生研究所の受講者

班会議出席者（オブザーバー）

厚生労働省結核感染症課

A. 研究目的

地方衛生研究所（以下地衛研）は、自治体の（感染性食中毒を含む）感染症健康危機対応における重要な科学的根拠となる病原体検査を担当しており、平成 28 年 4 月の改正感染症法施行により法的根拠が付与された病原体情報の収集では、国立感染症研究所（以下感染研）との密接な連携のもとに、中心的役割を担っている。本研究においては、地衛研が実施する病原体検査の質の維持・確保にあたり、内部精度管理に並んで必須となる外部精度調査を実施する上で必要なシステム構築を開始した。具体的には ウイルス及び細菌について、各々地衛研の検査対応が感染症対策上重要な病原体の精度管理試行（必要な文書ひな形案の作成等を含む）を通じて、全国の地衛研・感染研の連携による外部精度管理システムの基盤形成をめざした。 28 年度の予備調査の結果、全国地衛研の約 1/4 が自治体内（都道府県における保健所設置市を含む）の民間衛生検査所や保健所等に精度管理用検体を提供している実態について追加調査を実施して現状を把握するとともに、地域の病原体検査体制維持強化において地衛研が果たせる役割について検討した。

本研究の実施にあたっては自治体における病原体検査担当者確保上の課題把握を特に重視した。

B. 研究方法

1. 3 小班編成による研究分担

平成 26-27 年度に実施された先行研究（佐多班）の成果（1）を参考に、班全体及び「ウイルス小班」「細菌小班」「項目小班」の 3 小班に分かれて研究を実施した。

平成 29 年度「ウイルス小班」は、感染研感染症疫学センター 木村室長（現群馬パース大教授）を中心に精度保証手法をとりこんだウイルス遺伝子検査法の研修成果の解析（分担研究報告書 1 参照）、感染研ウイルス第二部吉田主任研究官を中心にワーキンググループ（WG）地衛研担当者が協力して、エンテロウイルス 71 遺伝子検体を用いた精度

調査試行及び他のウイルスに応用可能な精度調査プロトコルひな形作成（分担研究報告書 2 参照）を実施した。「細菌小班」は、感染研感染症疫学センター 村上室長、富山県衛生研究所 滝澤所長、愛知県衛生研究所 松本部長を中心に、コア WG 地衛研の細菌担当者及び感染研細菌第一部 泉谷室長らが協力して、三類感染症「赤痢」の赤痢菌検査を対象とした病原細菌検査の精度管理を試行し、精度調査実施に必要な事務手続きを含むひな形書類のセットを作成した（分担研究報告書 3 参照）。「項目小班」では、自治体における地域の保健所・大学等との連携に関するニーズや地衛研の在り方について検討（分担研究報告書 4 参照）するとともに、28 年度に全国地衛研を対象に実施したアンケート調査結果（28 年度分担研究報告書 5 参照）に基づき追加調査を実施し、地域におけるニーズ等を検討した（分担研究報告書 5 参照）。

2. 全体班会議等による小班間の相互連携

項目小班による検討にはウイルス・細菌の専門家の関与が不可欠であるとともに、ウイルス小班及び細菌小班活動は、地衛研の所長や企画調整担当者が主な構成員となっている項目小班的視点からも評価する必要がある。旅費はじめ限られた予算の効率的活用も念頭に、ウイルスと細菌の外部精度調査試行準備は小班内に設置した WG を中心に進めるとともに、検討班会議はウイルスと細菌担当者が一堂に会する形で活発な意見交換を図った。さらに全体班会議には、3 小班及び感染研関係者及び厚生労働省結核感染症課の参加を得て、活発な議論が行われた。大学・保健所等に属する研究協力者は、日程の都合で 28 年度は班会議出席がかなわなかったため、29 年度は WG 会議を設定して意見していただく機会を設けた。

（倫理面への配慮）検体提供者の個人情報は取り扱わない。研修に参加した地衛研職員に対しては、成績の取扱いについて個人が特定されないこと等を分担研究者より事前に説明が行われたのち、個

別にインフォームドコンセントが得られた。動物実験は実施しない。

C. 研究結果

1. 精度保証の手法を取り入れたウイルス遺伝子検査法の研修（木村らの報告書1を参照）

地衛研職員23名を対象に実施された精度保証の手法を取り入れたウイルス遺伝子検査（ノロウイルス（NoV）リアルタイムPCR法）に関する研修（初回研修）後のフォローアップ研究を行った。初回研修と同様に同一試薬・同一機器を用い、3日間連続で、リアルタイムPCR法による標準曲線の作成を実施した。初回研修受講者23名中解析に十分な研修時と研修後のデータが得られた8名について、標準曲線の精確度、最小測定感度の確保を統計学的に比較した。その結果、初回研修後は検量線の相関係数（R²）、標準物質のコピー数毎の変動係数（CV；%）において、有意な改善が認められた。さらに、検出限界値（10コピー/well）も研修後は安定して検出することができた。研修後の試験結果の精度が向上していることから、微生物検査の精度保証の手法を取り入れた研修は、地方衛生研究所の検査精度の確保・改善に貢献することが示唆された。

2. 感染症発生動向調査におけるエンテロウイルス病原体検査に関わる外部精度調査（EQA）導入の研究（吉田らの報告書2を参照）

感染症発生動向調査における五類定点把握対象かつ病原体検索対象となっており手足口病検査について、地衛研ごとに検査体制が異なる実情を踏まえつつウイルス検出感度と遺伝子検査の質について、12施設の協力を得て試行的に調査を行った結果、検査試薬を他の病原体検査と共有している実情を踏まえると、ウイルス検出感度のばらつきと反応諸条件の情報、施設間塩基配列の差異の情報、を改善に向け活用すべく施設内で機材保守、内部精度管理の実施など Plan・Do・Check・Act（PDCA）を動かすためのメカニズム構築が必要、

EQAの結果は地衛研間で共有し、2類ポリオ対応のため国内のサーベイランス体制の向上に向け活用すべき、少数の参加施設ならば比較的容易に市販の非感染性試料を用いて他の疾患に対してもEQAをパッケージ化可能、病原体サーベイラ

ンス全体の質を改善するには検体採取から検査結果までのフローを評価、把握する指標開発が必要であることが認められた。

3. 地方衛生研究所を対象にした赤痢菌検査の外部精度管理調査（滝澤らの報告書3を参照）

地衛研で実施する細菌検査の信頼性確保のため、「三類感染症検査に係る『赤痢菌』の同定」を実施項目とする外部精度管理調査を、27施設の参加を得て試行した。本試行を通じて、四種病原体の送付等諸手続きに必要な書式等を一式準備でき、今後他の病原体の外部精度調査にも応用可能なひな形等が得られた。3検体の結果報告をみると赤痢菌か否かについては全27施設が誤りなく回答していたが、施設により検査の進め方が異なること等を回答書式に十分に反映できていなかった等の問題点も明らかになった。本研究を通じて、綿密な準備が必要であることが明らかとなった。

4. 地域の病原微生物検査の質の維持向上に資する地方衛生研究所の役割に関する研究（松本らの報告書4を参照）

自治体における地衛研の役割のなかで地域の保健所等との連携は重要である。保健所・大学職員を招聘して、衛生研究所の連携について検討する会議を開催した。事前アンケートを実施し、衛生研究所に期待する具体的な項目が明らかになるとともに、人材育成等における問題点が共有された。地衛研は管内人口等の条件が大きく異なる自治体に各1施設設置されることから、期待される役割も一様ではないが、病原微生物検査体制の維持向上を継続するためには、関係機関も巻き込む形で、現状の問題点（専門家の不足・研修機会の不足等）と期待される役割（人材育成・最新最適な検査法の情報提供・精度管理用検体提供等）を把握し、常に優先順位を考慮しながら対応を立案する必要がある。

5. 地方衛生研究所における病原微生物検査体制と「検査の質の確保」に関する研究（皆川らの報告書5を参照）

28年度に本研究で実施した「病原体検査の質確保」体制構築状況の調査に際して各自治体の保健所、衛生検査所等の外部精度管理実施への協力実

績ありと回答された 17 機関に対して追加調査を実施した。配付実績のある検体等には、感染症法に基づく検査対象病原体のみならず食中毒原因菌や内部精度管理用病原体等が含まれていた。今後検体提供継続を縮小～中止する予定と思われる 2 機関を除く 15 機関は地全協の地域別に置かれている 6 支部全てに分散しており、将来支部単位若しくは支部相互に検体提供を実施する可能性についても、一定の素地はあると考えられた。

D. 考 察

1. ウイルス遺伝子及び細菌菌株検体を検体とする外部精度管理システムの構築

改正感染症法施行に伴い病原体情報の収集に法的根拠が付与され、地衛研等検査機関は内部精度管理実施とともに外部精度（管理）調査を定期的に受ける義務を負うが、平成 28 年 4 月の時点では細菌・ウイルス検査において食品以外の地研全体の外部精度管理の仕組みはなかったため、新たに病原体外部精度管理システムを構築する必要が生じ、26-27 年度佐多班の研究成果(1)もふまえて 28 年度に厚生労働省により、国立感染症研究所に「外部精度管理事業企画検討委員会」が設置された。本研究で得られたエンテロウイルス 71 遺伝子(分担研究報告書 2 参照)及び赤痢菌菌株(分担研究報告書 3 参照)の外部精度調査システムのひな形は、いずれもエンテロウイルス 71 や赤痢菌以外のウイルス・細菌検査用検体配付に応用可能なものとなっており、今後国により（感染研が担当して）実施される外部精度管理に加えて、地衛研が地域や支部等で精度調査用検体配付を計画する際にも活用が期待される。

2. 今回とりあげなかった検体等に対する外部精度調査への備え

今回ウイルス小班では、季節性インフルエンザの分離等を念頭に、感染性を保持した検体を配付するシステムの必要性についても繰り返し議論したが、感染力を保持した状態で全国各地に同時に発送するシステム構築を遺伝子発送と並行して実施することは、本研究ではマンパワー等を考慮して困難と判断し、着手していない。ウイルス分離

検査用検体配付システムについても、今後構築が必要である。

3. 感染症検査の外部精度調査で求められる検査の感度に関する考察

地衛研が担当する病原体検査の信頼性確保は、定常状態の把握に資する感染症発生動向調査における診断精度並びに病原体サーベイランス精度の確保や、食中毒や集団発生等健康危機事例発生時の積極的疫学調査等健康危機事例や輸入感染症疑い検査等の検査の「質」確保が目的である。したがって、多くの地衛研において導入から既に 20 年以上経過している食品や水質の規格基準検査における GLP(Good Laboratory Practice)、特に理化学分析検査とは若干の異同がある。感染症法に基づく病原体あるいは血清学検査は、しばしば定性的判定（陽性か陰性か）が決定的に重要であり、施設間で判定が大きくばらつくことは望ましくない。全国の地衛研間において、検出限界が一定の範囲に収まること（均てん化・平準化）や、検査結果に基づいて下される行政的判断に重大な影響をもたらす定性的結果（陽性・陰性・判定保留）に十分な再現性が担保され、プレ（検査室間並びに室内-検査員間-誤差）が生じ難い検査体制を構築する必要がある。検査感度と結果再現性のバランスをとる観点から、分担研究報告書 1 に記載されている担当職員の技能研修で求めた検査感度（検査プロトコルに左右される）が定性結果判定に用いられる閾値より 1~2 段階希釈高感度になっている。因みに現在食中毒検査で実施されるノロウイルス検出では、2 つのウェルにおいて実測値 10 コピー以上を陽性と判定している(2)。

4. 輸入感染症対策強化における地衛研検査機能強化の必要性

国際保健機関(WHO)による国際保健規則(IHR)(3)及び WHO 西太平洋支部(WPRO)等による Asia Pacific Strategy for emerging diseases (APSED)(4)に示された感染症の検査は、日本においては感染研が一義的には対応することとなるが、近隣諸国でのアウトブレイク等に際して検査依頼が急増した場合に、しばしば地衛研の検査がスク

リーニングに活用される。IHR Appendix 2 に疾患名が記されている痘瘡、野生型ポリオ、新型インフルエンザ、SARS、コレラ、肺ペスト、黄熱、ウイルス性出血熱(エボラ・ラッサ・マールブルグ)、ウエストナイル熱、デング熱、リフトバレー熱、髄膜炎菌感染症のうち 2009 年の新型インフルエンザ発生に際しては、感染研インフルエンザウイルス研究センターが国内発生前にリアルタイム RT-PCR 法による診断プロトコルを開発し、厚生労働省から配布された陽性対照品・プライマー・プローブ等を用いて全国の地衛研でスクリーニング検査(その後地衛研の検査結果をもって確定扱いに変更)が実施された。Event of potential international public health concern (PHEIC)とされた 2016 年のジカウイルス感染症においても、同様の対応がとられている。地衛研における病原体検査精度の確保は、輸入感染症対応体制の維持強化にもつながる。なお今回ウイルス小班で対象とした「手足口病」の病原体エンテロウイルス 71 は、それ自身アジアで毎年のように死亡を来す(5)ばかりでなく、ポリオウイルスと同じエンテロウイルスに属しており、「手足口病」検査精度の向上は、二類感染症「急性灰白髄炎」への備えの強化につながる。

5. 地域における中核機関としての地衛研による病原体検査体制維持強化に向けた取り組み

地衛研は各地域(都道府県内の保健所設置市を含む)における科学技術的中核機関としての役割も期待されており、17 機関が民間衛生検査所や保健所試験検査課等に精度管理用検体を提供している。全国に加えて支部レベルでの外部精度管理実施が可能になれば、運送費・フィードバック研修旅費等の節約になるばかりでなく近隣地衛研間の連携強化も期待できる。

6. 地衛研における病原体検査担当者育成の現状及び課題の把握

近年ベテラン職員が定年を迎えた後、採用が少なかった「就職氷河期」世代への専門的技術の継承あるいは職員補充に苦勞している自治体は少なくない。地衛研に感染症や病原体を専門とする職

員の存在が不可欠であること(分担研究報告書 5)は自明と思われるが、一部の自治体人事担当部署においては専門性への理解は必ずしも十分ではない。精度調査の結果、個々の検査施設における検査精度や検査体制の問題点が外部から指摘されると、行政担当者にも検査精度維持向上ならびに担当自治体職員への専門研修等教育訓練機会確保の必要性が理解されやすいかもしれない。外部精度調査の実施が、地衛研における長期的展望にたった専門家の育成、さらには自治体の感染症による健康危機対応体制の維持強化につながることを望ましい。

7. 平成 29 年度研究活動の総括

本研究事業の最終年度にあたる平成 29 年度は、分担研究報告書 2 及び 3 のとおり、ウイルス及び細菌検査について、各々他の病原体への応用も視野にいた精度管理実施システム試行を実施できた。さらに試行を通じて、地衛研の病原体検査部署が抱える課題も共有された。感染研における病原体専門家に研究分担あるいは研究協力者として本研究に参画のうえ綿密に計画・実行していただいた。地衛研の研究分担者・研究協力者は現場の代表として積極的に参加するとともに、書式の整備や報告書準備等に尽力した。

地衛研の課題や地域における在り方について分担研究報告書 4 及び 5 のとおり、調査及び会議を開催のうえ、考察した。

外部精度調査の結果をふまえた効果的な(地衛研の担当者育成や体制強化に結びつく)フィードバックや関連研修については、30 年度新たに立ち上がる研究班において検討を予定している。

E. 結 論

今般の感染症法改正に伴い、法に基づく検査を担当する自治体の機関は外部精度管理を定期的に受けることとなったため、ウイルス(手足口病の病原ウイルス)及び細菌(赤痢菌)について、感染研に所属する各病原体の専門家と検体検査の現場を熟知した地衛研ベテラン職員が協力する形で、外部精度管理システムを構築のうえ試行を実施した。他の病原体への応用も可能であるが、分離検査(感染性を保持したウイルスが必要)等今回取

り上げなかった性質の検査については、別途システム構築を図る必要がある。

法改正を契機に、病原体検査精度維持向上の必要性が、自治体行政関係者にも認知されるようになったと期待される。検査精度の維持には地衛研病原体担当職員の資質向上が不可欠であり、病原体の関わる健康危機対応力の向上につながるよう、本研究成果の活用を図るとともに、研修等についても検討する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

・吉田弘,環境水サーベイランスの意義並びに実態から見えてくる予防医学に関わる知見 東京小児科医会報 36(1):26-30, 2017

・吉田弘,高橋雅輝,濱崎光宏,山下育孝,四宮博人,山下照夫,皆川洋子,岸本剛,調恒明 エンテロウイルス検査の信頼性確保について 病原微生物検出情報(IASR) 38(10):199-200, 2017

・皆川洋子:地方衛生研究所の役割 臨床とウイルス(印刷中)

2) 学会発表

・帖佐徹,吉田弘,滝澤剛則:環境水サーベイランス手法の中国への導入について、第76回日本公衆衛生学会 平成29年10月31-11月2日鹿児島市

・吉田弘,筒井理華,堀田千恵美,小澤広規,滝澤剛則,中田恵子,世良暢之,濱崎光宏:環境水サーベイランスによるポリオウイルス検出時の課題 第76回日本公衆衛生学会 平成29年10月31-11月2日 鹿児島市

・濱崎光宏,世良暢之,吉田弘:環境水中の腸管系ウイルス量と感染症発生動向調査事業の患者数との関連について 第76回日本公衆衛生学会 平成29年10月31-11月2日 鹿児島市

・帖佐徹,吉田弘,板持雅恵,滝澤剛則,Zhang Yong, Xiaohui Hou, Zheng Huanying, Wang Haiyang, Tao Zexin : Collaboration study of environmental surveillance for polio since 2005 between Japan and China グローバルヘルス合同大会 2017 平成29年11月24-26日 東京

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

参考文献

1. 佐多徹太郎ら. 2016. 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. 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)平成26-27年度総合研究報告書.
2. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長. 2007. ノロウイルスの検出方法について. 最終改正 平成19年5月14日食安監発第0514004号.
3. World Health Organization. 2016. International health regulations (2005) - 3rd ed.
4. World Health Organization Regional Office for the Western Pacific (WPRO) and World Health Organization. Regional Office for South-East Asia (SEARO). 2011. Asia Pacific Strategy for emerging diseases : 2010.
5. World Health Organization Regional Office for the Western Pacific (WPRO). 2011. A Guide to clinical management and public health response for hand, foot and mouth disease (HFMD).

(総括研究報告書添付資料)

2018年1月10日 全体班会議資料抜粋

平成28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に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究
 (H28-健危-一般-002)

1. 研究代表者: 皆川 洋子(愛知県衛生研究所)
 2. 研究分担者: (地全協精度管理部会、感染研レファレンス委員会等)

背景

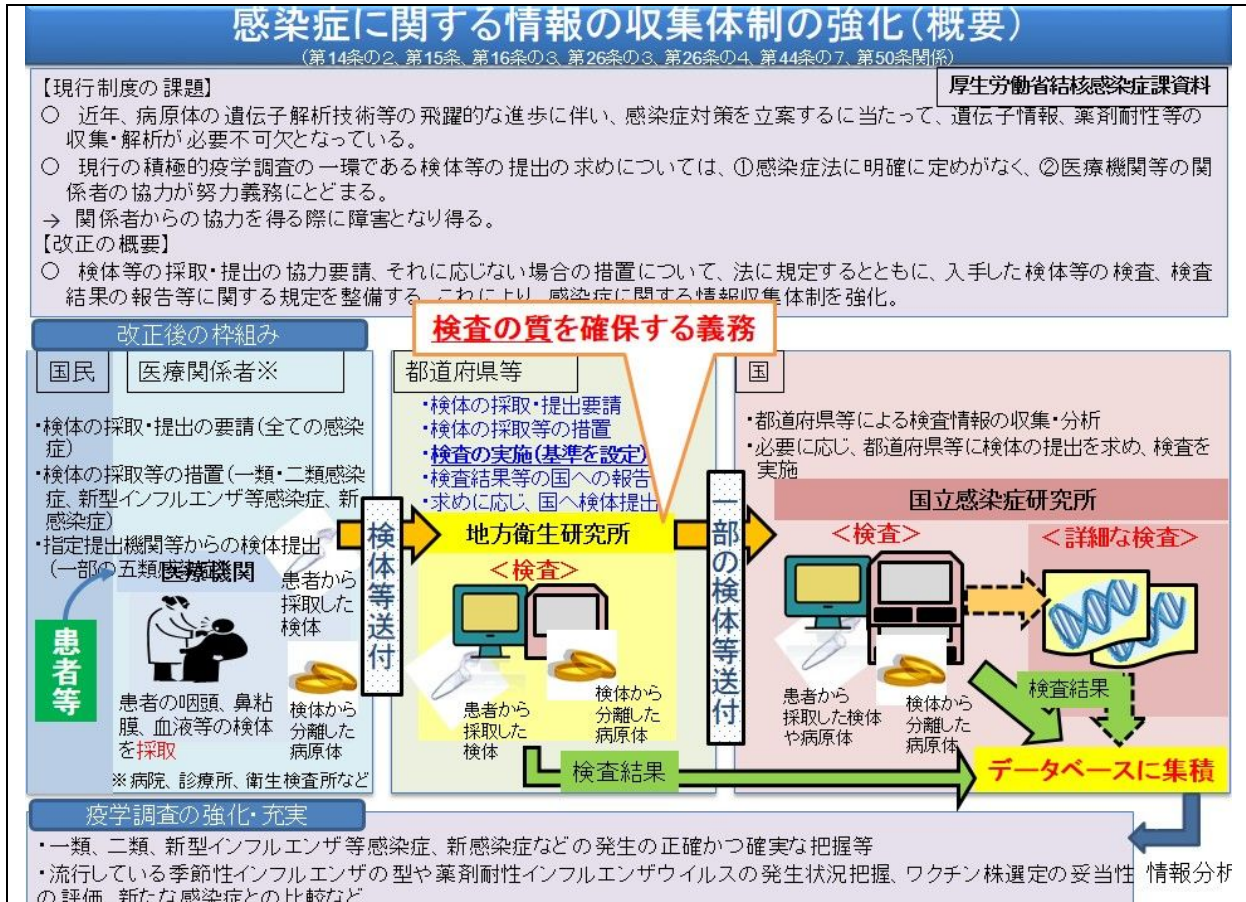
- ・平成28年4月改正感染症法施行に伴い知事等の事務となった病原体情報の収集を担当する地方衛生研究所等において「病原体検査の質」を確保する必要
- ・地衛研の検査水準確保、健康危機管理体制の維持、人材育成効果も期待(感染症発生動向調査、地衛研-感染研のネットワークの維持にも役立つ)

研究目的

- 地衛研全国協議会が主体となって、
- ・外部精度管理体制の導入にあたり、継続的实施に必要な条件を提言
 - ・具体的な外部精度管理項目の洗い出し・検査体制構築状況の把握
 - ・ウイルス・細菌に関する外部精度管理の試行

求められる成果(公募要領)

- ・包括的な外部精度管理調査のひな形 →細菌小班・ウイルス小班
- ・地方衛生研究所に求められる役割と機能強化のための他機関との連携の在り方についての検討結果



H29年度精度管理班(3小班)の研究活動概要

2017年2月20日 28年度成果発表会(中間評価)

2017年3月31日付 29年度交付基準額等通知

- 5月9日(火) 地全協理事会後 一部関係者と打合せ
- 5月 赤痢菌外部精度調査試行(27機関へ送付)
- 5月24日(水) 第1回 WG会議(ウイルス・細菌) (感染研共用第二会議室)
 - ・29年度研究方針について検討、タイムテーブルの確認
 - ・追加アンケートの要否について検討
 - ・ウイルス外部精度調査試行について検討
- 9月7日(木) 保健所・大学連携WG会議(項目・細菌) (愛知衛研共同研究室)
 - ・保健所・大学ー地衛研の連携のあり方について検討
- 10月24日(火) 細菌コアWG会議 (感染研第一会議室)
 - ・試行結果評価・フィードバック法について検討
- 10月30日(月) 項目小班会議/地全協精度管理部会 (鹿児島市 城山観光ホテル)
- 12月 エンテロウイルス外部精度調査試行(12機関へ送付)
- 12月 自治体内他機関への検体提供に関する追加調査実施(17機関へ送付)

- 2018年1月5日(金) 国立保健医療科学院へ研究成果報告書を提出
- 本日 全体班会議 (感染研共用第二会議室)

- 報告書原稿締切 平成30年1月12日(金)
- 総括研究報告書・総合研究報告書(最終年度):年度内とりまとめ・フィードバック

4

H28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に対する外部精度管理の導入と
 継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究

(H28-健危-一般-002) 研究代表者 皆川洋子

研究分担課題:

ウイルス外部精度管理計画の作成・検証

研究分担者

木村博一(群馬パース大学・国立感染症研究所)

村上光一、宮崎義継、大石和徳(国立感染症研究所)

調恒明(山口県環境保健センター)

四宮博人(愛媛県立衛生環境研究所)

研究協力者

小淵正次(富山県衛生研究所)

千葉隆司、貞升健志(東京都健康安全研究所)

清水英明(川崎市健康安全研究所)

長澤耕男(国立感染症研究所)

○水越文徳(栃木県保健環境センター)

平成29年度「地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究」皆川班 2018.1.10

分担研究: 感染症発生動向調査におけるエンテロウイルス病原体検査に関わる外部精度調査(EQA)導入の研究

分担研究者 吉田 弘 国立感染症研究所

研究協力者

板持雅恵	富山県衛生研究所
伊藤雅 皆川洋子	愛知県衛生研究所
小澤広規	横浜市衛生研究所
木田浩司	岡山県環境保健センター
北川和寛	福島県衛生研究所
佐野貴子	神奈川県衛生研究所
新開敬行	東京都健康安全研究センター
豊嶋千俊	愛媛県立衛生環境研究所
中田恵子	大阪健康安全基盤研究所
西澤香織	熊本市環境総合センター
峯岸俊貴	埼玉県衛生研究所
吉富秀亮	福岡県保健環境研究所

外部精度管理班ウイルス小班分担研究: Research Question

感染症発生動向調査では手足口病の報告は臨床診断に基づく。届け出基準に検査方法及び血清型分類の必要性は明示されていない。

では病原体検査で何を明らかにし、その結果の質はどうあるべきか(手足口病検査の報告は血清型でよいか。方法は細胞、乳のみマウス(CF)による分離同定、塩基配列による同定のいずれでもよいか)

塩基配列でエンテロウイルス血清型を同定し報告する場合、結果の妥当性を判断する評価の指標が必要

研究目的

感染症発生動向調査における手足口病検査の評価の指標の検討(CODEHOP-snPCRの場合) 外部精度管理調査に用いるウイルス試料の調製方法の検討と試行

1年目

- ・送付に用いる安定なRNA調製法の検討(保管温度とGC量)
- ・CODEHOP snPCRの評価指標
- ・コストの検討

2年目

エンテロウイルスレファレンスセンター他の協力を得てCODEHOP法の感度比較、塩基配列の質評価のためのRNA試料を送付し、EQAの導入について検討

2年間の研究成果

先行研究班で実施したアンケートに基づき5類小児科定点把握疾患である手足口病検査に関するEQAの手法の開発、評価の指標について研究した。

文献より欧州などの感染症に関連するEQAは食中毒、VPDs、危機管理関連の疾患に対するEQAプログラムが存在 これらは官民がそれぞれ実施しており、手足口病に関してはかつて重篤例が社会問題化し対策を重視している中国で定期的を実施

国内で普及しているCODEHOP-snPCR法による同定検査の水平評価を目的として、RNA試料(自家調製、市販品)の保存条件のアッセイ法を作成し、濃度、温度など条件の検討をし、さらに試料送付用方法の比較

市販品のエンテロウイルスRNAコントロールと、輸送に用いるRNastableの組合せにより、少数の調査なら比較的簡便に実施可能なEQA調査をパッケージ化した。

12か所なら、エンドポイント比較とシーケンス比較、準備から送付まで1人で可能。宅配便による冷凍輸送利用。費用は1か所輸送費込み2万円以下

民間が実施するEQAと費用の面でも大差なし

平成29年度細菌小班試行 地域別参加機関

番号	ブロック	施設名	番号	ブロック	施設名
1	北海道・東北・新潟地区	札幌市衛生研究所	16	中国・四国地区	岡山県環境保健センター
2	北海道・東北・新潟地区	函館市衛生試験所	17	中国・四国地区	広島県立総合技術研究所保健環境センター
3	北海道・東北・新潟地区	秋田県健康環境センター	18	中国・四国地区	香川県環境保健研究センター
4	北海道・東北・新潟地区	茨城県衛生研究所	19	九州地区	熊本県保健環境科学研究所
5	関東・甲・信・静地区	さいたま市健康科学研究センター	20	九州地区	熊本市環境総合センター
6	関東・甲・信・静地区	千葉県衛生研究所	21	九州地区	鹿児島県環境保健センター
7	関東・甲・信・静地区	足立区衛生試験所	22	細菌小班	東京都健康安全研究センター
8	関東・甲・信・静地区	静岡県環境衛生科学研究所	23	細菌小班	富山県衛生研究所
9	東海・北陸地区	福井県衛生環境研究センター	24	細菌小班	愛知県衛生研究所
10	東海・北陸地区	名古屋市衛生研究所	25	細菌小班	大阪健康安全基盤研究所
11	東海・北陸地区	岐阜県保健環境研究所	26	細菌小班	愛媛県立衛生環境研究所
12	近畿地区	滋賀県衛生科学センター	27	細菌小班	福岡県保健環境研究所
13	近畿地区	京都市衛生環境研究所			
14	近畿地区	尼崎市立衛生研究所			
15	近畿地区	和歌山県環境衛生研究センター			

平成29年度参加地方衛生研究所決定(H29.3)

地方 (地衛研数)	人口 (万人)	参加機関数
北海道・東 北・新潟(12)	1,686	3
関東・甲信・ 静岡(24)	4,944	5
東海・北陸 (8)	1,260	3
近畿(14)	2,276	4
中国・四国 (11)	1,170	3
九州・沖縄 (12)	1,323	3
計(81)	12,659	21

全81地衛研中
参加希望64地衛研



細菌小班6地衛研を加え、
計27地衛研を決定

図1 外部精度管理プロトコール案

検体の選択

- ・臨床分離または保存株から複数の候補株を選ぶ。
- ・選択分離培地で発育状況、色調、コロニーの大きさや形状の確認
- ・生化学的性状確認試験で性状の確認
- ・血清凝集試験でO、H抗原凝集の確認
- ・病原菌同定用遺伝子検査での確認。
- ・毒素産生菌の場合には遺伝子検査と毒素産生性試験を行い毒素遺伝子、産生性の確認

検体の作製と送付

- ・検体を平板培地で一夜培養する。非病原菌を加える時は同様に培養する。
- ・平板培地に発育した菌体を生理食塩水等で適切に希釈する。
- ・非病原菌を加える時は検体と非病原菌を希釈した後、適切な割合で混合する。
- ・希釈した検体を適量輸送用培地に加える。
- ・検体をジュラルミン製四次容器に梱包し、ゆうパックで送付。
- ・当日発送しない場合は冷蔵保管する。
- ・作成した検体を選択分離培地に塗抹し、性状等確認(作成当日と送付先到着日1から3日後まで検査)

結果の解析と評価

- ・検査結果報告書、検査経過報告書等を検体と同時に送付し、期日までに回答を得る。
- ・解析は、検査成績(菌名等)と選択分離培地での性状、生化学的性状確認試験、血清凝集試験、遺伝子検査での結果。毒素産生菌の場合には遺伝子検査と毒素産生性試験の結果を確認する。
- ・報告書の作成、報告会の開催を行い、参加者に結果の還元を行う。

項目小班

H28 アンケート実施・解析

H29

- ・保健所・大学との連携WG会議開催
地域における地衛研の役割、
保健所試験検査課との連携について検討
- ・追加アンケート実施
(28年度実績のある17機関全てより回答)
他機関への精度管理用検体等提供実績
(保健所 13機関 衛生検査所7機関 その他6機関)

11

2年間の研究分担・協力ありがとうございました

pending, 他の研究で対応？

- 地衛研機能の維持強化につながる事項
 - ・28年度調査で目立った研修ニーズへの対応、
支部単位研修の要望 ⇒在り方について30-31年度に研究
 - ・地衛研間の多様性(県型・指定都市・中核市等研究所の規模・守備範囲・管内人口、外国との往来)を考慮した体制 ⇒30-31年度研究において検討？
 - ・国際保健規則(IHR)に関わること⇒感染研との連携関連は30-31年度の課題
 - ・28年度調査で目立った外部精度管理・標準品ニーズへの対応
- 地域の健康危機対応力強化(維持)につながる事項
 - ・保健所・民間衛生検査所・病院検査室？を対象とした、地衛研による
研修受け入れ・精度管理用検体の供与等⇒在り方について30-31年度に研究

26