

. 資料

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) Vol. 38 p.199-200: 2017 年 10 月号)

急性灰白髄炎 (ポリオ)、手足口病等のエンテロウイルス感染症の多くは不顕性である。このうちポリオに関しては既にワクチンが開発されており、わが国でも長年にわたり経口生ポリオワクチン (OPV) が使用されてきた。定期接種用ワクチンとして不活化ポリオワクチン (IPV) へ切り替えた 2012 年 9 月以前は、小児科定点把握疾患を対象とした病原体サーベイランス (感染性胃腸炎、手足口病等の検査) によって、OPV 接種時期 (春、秋) に紛れ込みと考えられるポリオウイルスワクチン株が恒常的に検出されていた。

手足口病等のエンテロウイルス感染症の検査はポリオウイルス検査と共通の手技が多く、ルーチン検査を行うことで、ポリオ検査体制の維持にも貢献している。

感染症発生動向調査は 1981 年より国の予算事業として始まり、1999 年の感染症法制定に伴い法定化された。感染症法では疾患を類型で分類し、主にエンテロウイルス感染が起因となる疾患は、2 類感染症として急性灰白髄炎 (ポリオ)、5 類定点把握対象疾患には手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎が含まれている。これらのウイルス検査は、主に自治体が設置した地方衛生研究所 (地衛研) 等が担当している。

5 類定点把握対象疾患は、患者数が多く全数把握が困難なため、定点報告にて発生動向を把握し、各自治体は積極的疫学調査の一環で、病原体定点医療機関を受診した患者の一部より提供を受けた検体に対して検査を行いウイルスの流行状況を監視してきた。しかし、事業開始から 4 半世紀以上経過し、検査体制を取り巻く状況も変化している。その結果、各自治体において病原体サーベイランスの取り組み方に差がみられるようになってきた。

2014 年の感染症法改正では感染症の情報収集強化を目的とし、病原体サーベイランスに法的根拠が付与された。同時に収集した検体には知事による検査義務が生じ、一定の信頼性が求められることとなっている。

改正ではポリオを含む 2 類感染症の検査は、迅速な危機管理対応が必要なことから、知事による検体の提出要請、採取措置などの措置が新たに規定されるとともに、入手した検体に対する検査の質確保の取り組みが省令で定められている。また、「検査施設における病原体等検査の業務管理要領」¹⁾ では感染症法に基づき検査を行う地衛研等を対象とした業務管理が規定された。

要領には、標準作業書 (SOP) として検査 SOP、検査の信頼性確保試験 SOP の他、試薬等管理、培養細胞管理、機械器具保守管理、検体取り扱いに関わる各 SOP の作成要領とそのひな形が含まれており、これらの技術文書作成の他、組織、研修等の体制を整備し、組織として検査の質を確保するための必要な項目が記載されている。

一方、地衛研の設備、人員配置などの検査体制は設置自治体等により大きく異なるため、各々の状況に合わせた検査体制を整備することが想定されている。

また、感染症法の類型により、整備すべき SOP の種類が異なる旨、省令で規定された。すなわち、ポリオウイルス検査の場合、まん延防止の観点から偽陰性対策を念頭に置きつつ、要領に基づき各種技術文書の整備、検査の信頼性評価、内部監査体制等の検査体制を整備する必要がある (表 1)。

他方、エンテロウイルス血清型等の情報収集を主目的とする手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎の検査には、必要最小限の技術文書 (検査 SOP、検査の信頼性確保試験 SOP) を作成し、自治体の調査目的に合致した検査体制を各地衛研等に整備することとしている。つまり各地衛研で実施するウイルス検査方法は異なることから、各々の検査体制に応じて、結果の妥当性を担保することとなる (表 2)。

今般、感染症発生動向調査実施要綱において定点把握疾患の病原体サーベイランスについても改訂されている²⁾。病原体検査の業務管理要領で検査結果の質を担保し、実施要綱で病原体定点の選定、報告時期など、一定の基準を示すことで、手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎の起因ウイルスの流行像をより適切に把握できるよう内容が変更されている。こうして得られた結果は疫学的な解析により自治体の感染症対策に用いられることが期待されている。

このように一定の採取基準により収集された検体と検査の質が担保された結果は、感染症サーベイランスシステム (NESID) 登録を通じて、全国レベルの起因ウイルスの流行状況に反映されることとなる。

改正感染症法完全施行 (2016 年 4 月) から 1 年半経過したが、エンテロウイルスに限らず、病原体検査法は変化してゆくとともに、検査の信頼性確保の取り組みについても、衛生微生物技術協議会等の機会を通じ関係者間で情報共有し、検査の質を維持する必要がある。

資料

1) 「検査施設における病原体等検査の業務管理要領の策定について」健感発 1117 第 2 号平成 27 年 11 月 17 日

2) 「感染症発生動向調査事業実施要綱の一部改正について」健発 1109 第 3 号平成 27 年 11 月 9 日

国立感染症研究所 吉田 弘

岩手県環境保健研究センター 高橋雅輝

福岡県保健環境研究所 濱崎光宏

愛媛県立衛生環境研究所 山下育孝* 四宮博人 (*現 愛媛県宇和島保健所)

愛知県衛生研究所 山下照夫** 皆川洋子 (**現 修文大学)

埼玉県衛生研究所 岸本 剛

山口県環境保健センター 調 恒明

表1. 作成が求められる標準作業書(SOP)の種類とエンテロウイルス感染症との関係

	2類感染症 (ポリオ)	5類定点把握疾患 (手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎)
検査SOP	○	○
試薬等管理SOP	○	
培養細胞管理SOP	○	
機械器具保守管理SOP	○	
検体取扱SOP	○	
検査の信頼性確保試験SOP	○	○

感染症法第14条の2、15条の4、16条の3、26条の3、26条の4、44条の7に基づき都道府県、保健所を設置する市および特別区が行う検査に適用する。
 病原体の探索等に係る検査については、業務管理要領を適用しないことができる。
 業務管理要領にSOPのひな形を参考資料として添付(施設における必要性や実情等に合わせ、検査施設ごとに作成)



表2. エンテロウイルス検査における信頼性確保(内部精度管理)の取り組みの例

ウイルス分離、同定

- ウイルスカ価測定による培養細胞の感受性確認
- 培養細胞のマイコプラズマ否定試験
- 中和試験におけるバックタイトレーションによる妥当性評価
- その他

遺伝子検査(塩基配列による同定)

- プライマー調整時のコンベンショナルPCRの感度確認
- 検査ごとの陽性、陰性コントロールの設定
- その他



資料 2) 学会発表

皆川洋子、伊藤雅、吉田弘：パネルディスカッション I 地衛研におけるポリオ検査。衛生微生物技術協議会第 38 回研究会（2017.6.21 東京）

(抄録)

地衛研におけるポリオ検査

愛知県衛生研究所
皆川 洋子、伊藤 雅
国立感染症研究所 ウイルス第二部
吉田 弘

2012 年 9 月に定期接種が経口生ポリオワクチン(OPV)から不活化ワクチン(IPV)に切替えられるまで、地衛研に持ち込まれる感染症発生動向調査等の糞便や環境水（主に流入下水）検体からの OPV 検出は珍しくなかった。病原微生物検出情報(IASR)によれば、野生株ポリオウイルスの検出報告もあり、1980 年（長野県）及び 1984 年（愛知県）には 1 型野生株の、1993 年（滋賀県）には 3 型野生株の分離が報告されている。IPV 切替え後環境水からの検出は徐々に減り、2012 年 10 月以降に生ポリオウイルスを扱う機会は、流行予測調査（感受性調査）における中和抗体試験にほぼ限定されている。

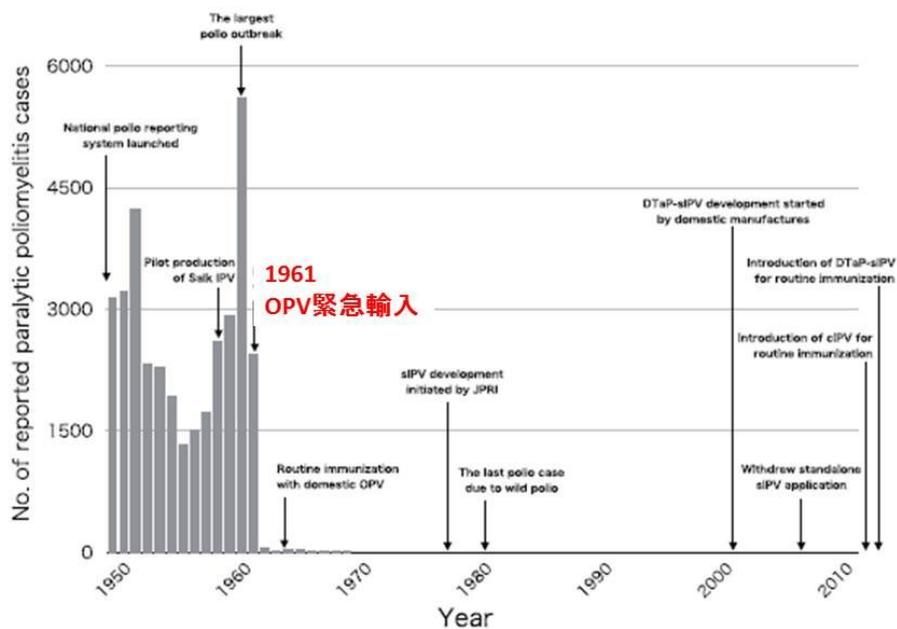
二類感染症かつ Vaccine Preventable Disease (VPD)の「急性灰白髄炎」病原ウイルスは、ウイルスサーベイランスや健康危機事例対応に従事する多くの者にとって、特に重要な存在になっている。

エンテロウイルス D68(EV-D68)流行に伴う急性弛緩性麻痺(AFP)の発生：EV-D68 は呼吸器感染症の病原ウイルスとして 2010 年と 2013 年に 100 例以上の報告があり、2010 年（山形県）と 2014 年（広島県）に AFP 患者もみられている。2015 年秋には EV-D68 による気管支喘息を主体とする呼吸器疾患の発生が増えるとともに AFP 患者が 20 例以上把握された。EV-D68 陽性事例検体搬入は、愛知県衛生研究所にはなかったが、AFP 事例をサーベイランス（感染症発生動向調査）の一環として受け入れる可能性について、県内医大等関係者と議論した。

中国や東南アジアにおけるエンテロウイルス 71(EV-71)流行に伴う麻痺あるいは死亡報告：幸い国内から重症例の報告はほとんどないが、アジアから毎年のように報告があり、病原体サーベイランスにより国内におけるエンテロウイルスの動向を把握する必要性を、再認識する機会となっている。感染症法に基づき都道府県等が実施する検査について、平成 28 年に国の外部精度管理事業が開始され、外部精度調査の定期的かつ継続的实施が期待される。地衛研が担当するポリオウイルス検査は、感染研との役割分担等を考慮しつつ、輸入事例に対する備えとして今後も精度の維持向上が必要と考えられる。昨年度発足した「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)」班ウイルス小班で検討中の、市販品の活用を視野にウイルス核酸検体を用いた外部精度調査システム構築をめざして手足口病の病原体エンテロウイルスを用いた（ポリオウイルス検査精度の維持向上も念頭においた）試行についても紹介したい。

第38回衛生微生物技術協議会研究会
 パネルディスカッションI ポリオ根絶に向けて:
 2 地衛研におけるポリオ検査

- 1 感染症発生動向調査における検出
環境水サーベイランス
- 2 急性弛緩性麻痺(AFP)対応
2015年EV-D68対応をふりかえって
- 3 地衛研におけるポリオウイルス検査の今後
改正感染症法施行に伴う変化 ⇒検査精度の確保
二類感染症 病原体検査
地研の課題



日本における麻痺型ポリオ報告数 (Shimizu 2016)

地衛研におけるポリオ検査

1 野生ポリオウイルス株の検出(～1993年まで)

(地衛研で分離→感染研で最終決定)

1980年 長野県 1型 ←麻痺型からの最後の分離報告

1984年 愛知県 1型

1993年 滋賀県 3型 ←最後の野生株分離報告

2000年 WHO西太平洋地域(WPRO) ポリオ根絶宣言

2012年 国内定期予防接種 OPVからIPVに移行

Vol.6 (1985/1[059])

<国内情報>

“ポリオウイルス1型野生株”愛知県に出現

愛知県で昭和59年6月7日に脳炎症状を伴った7歳女児の咽頭ぬぐい液からポリオウイルス1型が分離され、行政検査の依頼が予研腸内ウイルス部にあった。検査の結果、rctマーカーは(+)、血清学的には非ワクチン様を示し、フィンガープリント法によるRNA解析で、TIRNaseオリゴヌクレオチド・マップはセビン株と完全に異なることが判明した。そこで、われわれはこの分離株を野生株と断定した。野生株が分離されてすでに6ヶ月以上も経過し、その間に周辺でのポリオ患者の発生もみられなかったため、現在は防疫上での問題は無い。しかし、分離された野生株の由来については検討する必要があるため、地研を通じ愛知県衛生部へ患者についての疫学調査を依頼した。

予研 腸内ウイルス部 原 稔

感染症発生動向調査におけるポリオウイルス検出成績 (2006～15年・愛知衛研)

年	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
PV-1	9	12	4	1	2	4	2	0	0	0
PV-2	6	12	6	8	1	4	7	0	0	0
PV-3	13	9	7	1	3	3	5	0	0	0
PV小計	28	33	17	10	6	11	14	0	0	0
参考: 感染性胃腸炎患者からのウイルス検出状況										
患者数	503	430	267	243	338	227	313	277	299	228
RV A	38	54	26	19	14	62	73	75	7	26
NV-GI	3	4	6	1	6	2	2	1	2	31
NV-GII	84	61	30	70	141	71	136	82	100	94
SV		14	3	1	2	9	10	9	4	9
AstV				1	13	9	6	3	1	6
Ad-41	10	8	18	11	20	4	10	13	13	9
HPeV-1	1	3	4	3	1		3		1	1

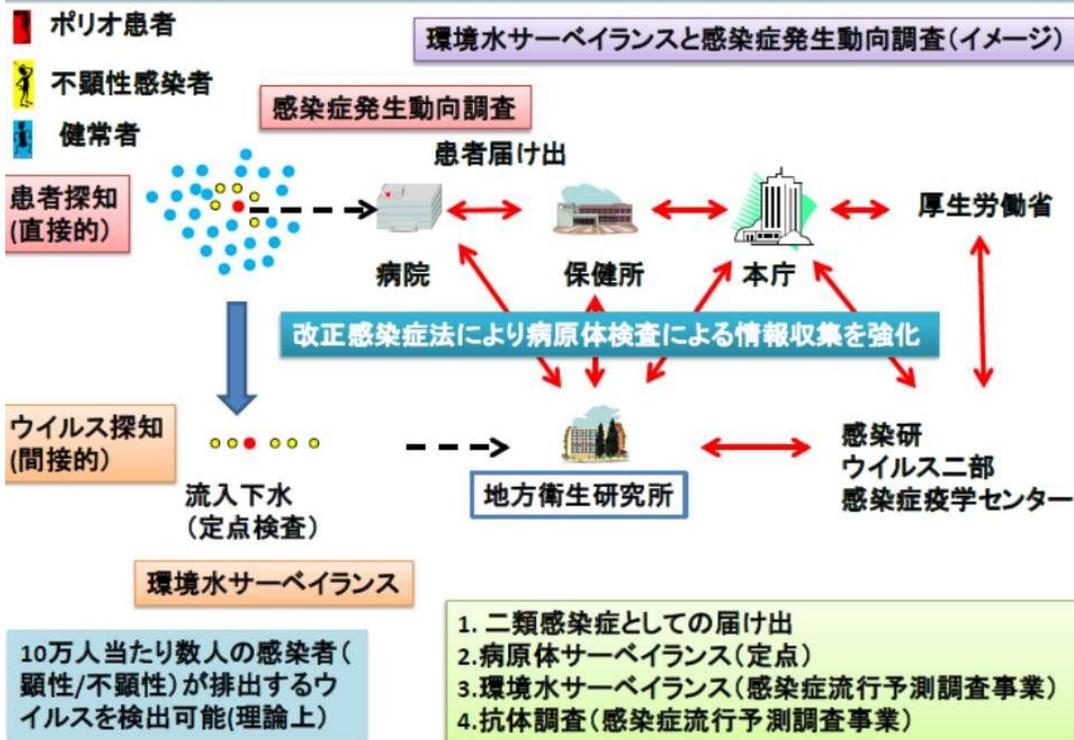
PV:ポリオウイルス、RV A:ロタウイルスA、NV:ノロウイルス、SV:サポウイルス、
AstV:アストロウイルス、Ad:アデノウイルス、HPeV:ヒトパレコウイルス

流入下水からのウイルス分離(2016年・愛知県)

1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
	CB3(4)	CB3(3)		CB3(7)	CB3(9)	CB3(8)		CB3(5)			
CB5(6)					CB5(2)	CB5(9)	CB5(12)	CB5(2)	CB5(4)		CB5(2)
						E3(1)	E3(1)			E3(9)	E3(2)
	E6(1)	E6(1)		E6(3)	E6(8)	E6(9)	E6(3)	E6(4)	E6(8)	E6(1)	E6(10)
							E11(2)				
AD(1)	AD(3)	AD(1)	AD(6)							AD(2)	AD(3)
Reo(5)	Reo(6)	Reo(1)	Reo(2)	Reo(5)	Reo(1)		Reo(1)	Reo(5)	Reo(6)	Reo(9)	Reo(6)

CB:B群コクサッキーウイルス
 E:エコーウイルス
 AD:アデノウイルス、Reo:レオウイルス

4.不活化ワクチン(IPV)切り替え後のポリオのサーベイランス(日本)



2 急性弛緩性麻痺(AFP)対応-2015年 EV-D68流行

・「ポリオ様麻痺」にどのように対応すべきか？

全国地衛研が対応するには、感染症法に基づく検査である必要

急性灰白髄炎(二類)

脳炎(五類全数報告対象)？



エンテロウイルスD68型が検出された、急性弛緩性脊髄炎を含む8症例ーさいたま市

(掲載日 2015/10/15)

エンテロウイルスD68型(EV-D68)は、2014年秋に米国で呼吸器疾患1,153例(2014年8月中旬～2015年1月15日)のアウトブレイクへの関与で注目されているウイルスである¹⁾。米国では同時期に急性弛緩性脊髄炎が120例(2014年8月～2015年7月)と多発し、その一部の呼吸器検体からEV-D68が検出され、関連が疑われている²⁾。2014年秋は欧州でも呼吸器検体からEV-D68を検出した急性弛緩性脊髄炎3例が報告された³⁾。

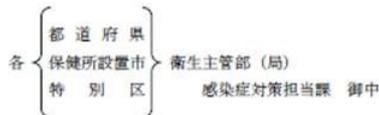
日本では2010年に山形で1例(咽頭ぬぐい液検体)⁴⁾、2014年に広島で1例(気管内吸引液検体)⁵⁾、EV-D68を検出した急性弛緩性脊髄炎の報告があった。急性弛緩性脊髄炎は頻度の少ない合併症だが、発症すると麻痺が残存する。

2015年9月には東京都での4例(気管内分泌物検体2例、鼻咽頭ぬぐい液検体2例)⁶⁾をはじめ、呼吸器症状を伴うEV-D68の流行が全国的に確認された⁷⁾。当院でも8例の咽頭ぬぐい液検体からEV-D68を検出した。うち1例が急性弛緩性脊髄炎のため、呼吸器症状の7例とあわせて報告する。なお、以下の気管支喘息の発作について、大発作とは自らの呼吸努力のみでは呼吸を維持できず入院加療が必要な重篤な状態、小発作とは身体症状が軽度で外来加療で済む状態を指す。

事務連絡

平成27年10月21日

2015年10月 協力依頼
～12月31日まで



厚生労働省健康局結核感染症課

急性弛緩性麻痺 (AFP) を認める症例の実態把握について (協力依頼)

標記について、今年8月以降、小児を中心にポリオ様麻痺に類似した原因不明の急性弛緩性麻痺(AFP: Acute Flaccid Paralysis)の症例が相次いで国立感染症研究所(以下「感染研」という)に報告されており、その一部にエンテロウイルスD68(EV-D68)が咽頭スワブから検出される例が含まれていました。

また、EV-D68については、昨年米国において、EV-D68感染に伴う小児の重症呼吸不全症例が1,000例を超えて報告され、その一部に、急性弛緩性麻痺症状が見られたとの報告がありました。

日本においては、平成17年以降、主に呼吸器症状を呈する患者の検体から、EV-D68が検出された症例が200例以上報告されていますが、急性弛緩性麻痺を呈する症例はほとんど報告されていませんでした。

感染研及び日本小児科学会等の専門家の見解では、標記症例については、届出疾患であるポリオとの鑑別が必要であること、また、米国の事例を踏まえれば、ポリオウイルス以外の感染症の可能性も示唆されること等から、本件に関する原因究明のための実態調査が重要とされており、

以上の状況を踏まえ、当分の間、本件に係る調査を積極的疫学調査の一環として感染研にて行うこととしましたので、貴課におかれましては、以下の対応につき御協力いただくとともに、関係機関に周知いただけますよう、よろしくお願ひします。

EV-D68を想定した検体採取

2015年11月18日
県内4医大小児科に説明

◎厚生労働省結核感染症課からの平成27年10月21日付事務連絡に基づく採取は、保健所による積極的疫学調査の一環

→検査実施の是非について保健所(あるいは行政本庁)が判断

○まずポリオの鑑別(最終判定には時間を要す)、
並行して他病原体の同定

○感染研-地衛研ネットワーク(エンテロウイルスレファレンスセンター)連携があり、感染研から検査法等情報提供あり。

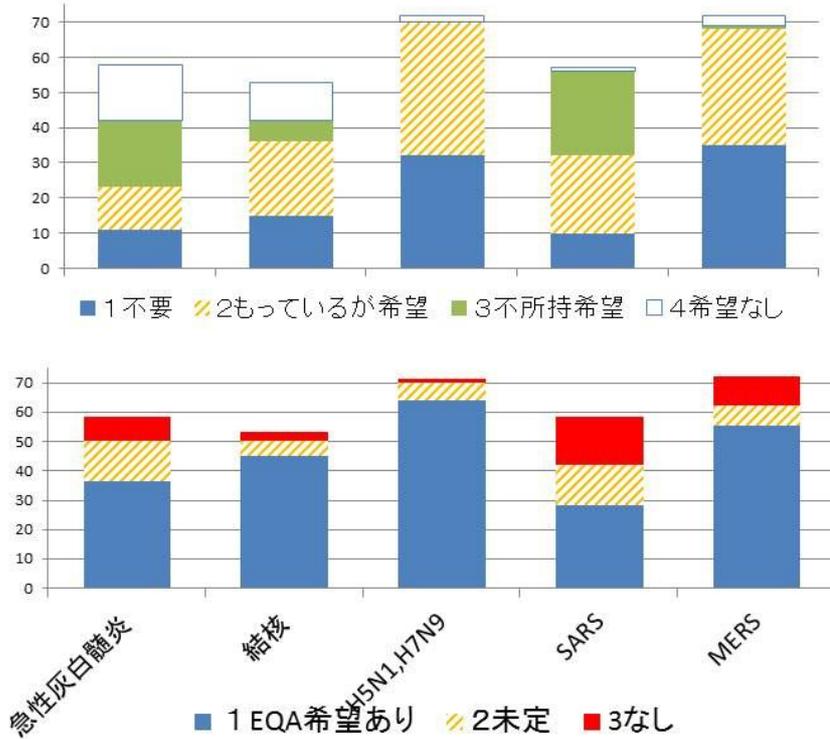
(検体)

- ・局所(気道拭い液等呼吸器由来検体)・糞便
- ・ウイルス血症(EDTA加血、脳脊髄液、尿等)
- ・EV-D68は糞便の陽性率は低いがポリオは高いので検査が必要
- ・ウイルス分離には凍結融解を避けるほうがよい
- ・ペア血清の保存が望ましい

3 地衛研におけるポリオウイルス検査の今後

- ・改正感染症法施行に伴う変化 ⇒検査精度の確保
二類感染症 病原体検査
- ・PV暴露業務(中和抗体価測定・環境水サーベイランスを含む病原体検索)担当職員への予防接種?

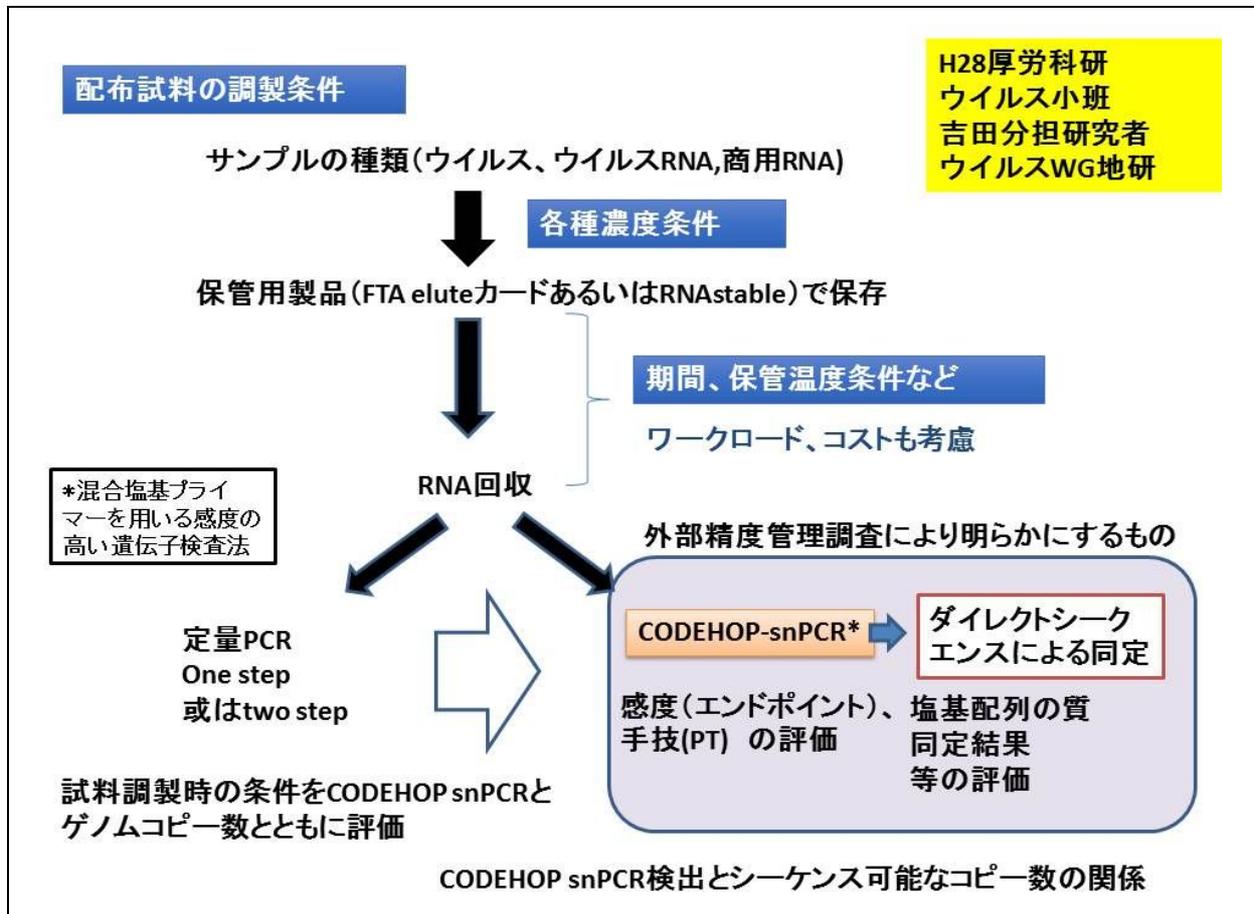
H28項目小班アンケート-9A
(3)標準品-EQA参加希望 二類感染症



「手足口病」ウイルス検出の精度調査(私見)

<p>(病原体の選択)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・五類感染症発生動向調査に精度管理が必要? ・ポリオ(二類感染症)対応への備えとして? ・エンテロウイルスのみ? ピコルナウイルス全般? 他のウイルスも視野に? 	<p>(手法)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ウイルス分離 ←検体配付法から要検討 ・遺伝子検出、型別 ←検出法は各機関が工夫 統一されていない CODEHOP法 その他の遺伝子検出型別 次世代シーケンサー
--	---

<p>発生動向調査対象とするウイルス</p> <p>エンテロウイルス エンテロ以外のピコルナウイルス (各機関の裁量が働く余地)</p>	<p>≠</p>	<p>精度管理対象となりうるウイルス</p> <p>アジアで死亡例のあるEV-71 +ポリオ +近年多数検出された型?</p>
---	----------	--



地衛研の実績・今後の課題

実績: 疑い例や感染症発生動向調査検体からのPV分離
環境水サーベイランスからの検出
流行予測調査感受性調査(中和抗体価測定担当)
(※IPV移行後についてはPD1-4)

実績: 2015年EV-D68における急性弛緩性麻痺(AFP)対応
2010年頃～一部の地衛研でインフルエンザ以外の
気道感染症患者からのEV-D68等に積極的に対応

課題: 改正感染症法への対応(検査精度の確保)
二類感染症 病原体検査体制の維持向上
外部精度調査体制の確立
OJT体制の維持and/or地研間の連携

課題: 職員の世代交代
→PVに暴露する可能性のある業務担当職員への対応

【目的: Objective】平成 28 年 4 月の改正感染症法施行に伴い、病原体情報の収集を担当する地方衛生研究所（地研）は病原体検査の質を確保する必要性から外部精度管理を定期的に受ける義務が付与された。しかし、細菌、ウイルス検査において食品以外で全国の地研が参加する外部精度管理システムは現在整備されていない。そこで国立感染症研究所（感染研）と地研が連携して、全国の地研に対して病原体検査外部精度管理を実施するシステムを構築するために平成 28 年度から 29 年度までの 2 年間、厚生労働科学研究活動を行っている。全国 27 地研に対して赤痢菌を用いた外部精度管理調査の試行を現在実施中であるのでその概要等について報告する。

【方法: Methods】平成 28 年度：外部精度管理調査試行の赤痢菌検体を選定するため、赤痢菌 4 株、大腸菌 1 株について 3 地研及び感染研で定法に従って生化学的性状、血清型別試験及び遺伝子検査等を実施した。平成 29 年度：参加地研の選定は全国 6 地域の地研数等を考慮して各地域から合計 27 の地研を選んだ。外部精度管理調査試行は、予め、平成 29 年 5 月 8 日に検査結果（赤痢菌陽性または陰性）を記入する検査結果報告書、赤痢菌の生化学的性状等を記入する赤痢菌検査経過記録書等を参加地研にメールで送付した。5 月 19 日、感染研で準備した外部精度管理調査検体 3 件（赤痢菌陽性 2 株、赤痢菌陰性 1 株）をジュラルミン製 4 次容器に入れ、ゆうパックで 5 月 22 日に各地研到着で送付した。各地研で検査を行い、6 月 22 日までに記入された検査結果報告書及び赤痢菌検査経過記録書を愛知衛研に送付した。解析・評価は主に愛知衛研等において検査結果報告書及び赤痢菌検査経過記録書に基づいて実施した。

【結果: Results】平成 28 年度：赤痢菌 4 株、大腸菌 1 株について生化学的性状、血清型及び遺伝子検査等を実施し、病原性プラスミドの脱落等が原因と思われる性状変異が赤痢菌 2 株に確認された。これらを除いた赤痢菌 2 株（*S. flexneri* 2a 及び *S. sonnei*）、大腸菌 1 株を平成 29 年度に実施する外部精度管理調査試行の検体とした。平成 29 年度：参加地研の選定、検査結果報告書及び赤痢菌検査経過記録書等の送付。感染研からの外部精度管理調査試行検体 3 件のゆうパックでの各地研への送付。記入された検査結果報告書及び赤痢菌検査経過記録書の送付。何れも大きな問題なく実施された。愛知衛研に送付された検査結果報告書を基に検査結果の解析・評価を行ったところ、27 地研全てで 3 検体は何れも正しく結果報告されていた。また、生化学的性状等は現在解析を行っている。

【考察: Discussion】全国 27 地研に対して赤痢菌を用いた外部精度管理調査試行を実施した。その結果、必要書類の送付、検体送付等に遅延等大きな問題はなくスムーズに行うことが出来た。報告結果も一部解析中ではあるが概ね良好であった。今年度末までに結果のフィードバックとして地研職員が参加する研修会等で報告を行う予定である。今後、大学等研究教育機関との連携、病原体の精度管理における保健所との連携を図りながら、外部精度管理実施体制及び必要な文書ひな形案を提言していきたい。

【謝辞: Acknowledgements】本研究は以下の先生方との共同研究です。村上光一、泉谷秀昌、大西 真（国立感染症研究所）、磯部順子、滝澤剛則（富山県衛生研究所）、河村 真保、小西典子（東京都健康安全研究センター）、勢戸和子（大阪健康安全基盤研究所）、世良暢之（福岡県保健環境研究所）

感染症法とその課題

【感染症法】

従来の「伝染病予防法」等を統合し、1999年に施行された。2007年には「結核予防法」を統合した。人権尊重、感染症の分類、病原体等の分類等が含まれ、これまで改正がなされてきた。

【現行制度の課題】

- ・患者等からの検体提出について、感染症法に明確に定めがなく、医療機関等の努力義務にとどまる。
- ・遺伝子解析技術等の進歩に伴い、感染症対策に遺伝子情報、薬剤耐性等の収集・解析が必要不可欠となっている。

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てる）

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**

研究班分担表(平成29年度)

担当小グループ	とりまとめ	担当(研究分担者と協力者)
項目小班 ・法改正への対応状況 ・地域の検査精度維持向上における地研の役割	皆川 (愛知)	脇田・宮崎・大石(感染研) 滝澤(富山) 佐野(屋) 岸本(岡山県) 調(山口) 四宮(愛媛) 猿木馬) 大井(東京) 香月(福岡県) 岸本(埼玉県) 田・宮崎・大石(感染研) 奥田・猪飼(愛知県一健所)
ウイルス小班 「精度管理」試行・評価 実施要領・手順(案)作成	皆川 (愛知)	吉田・木村・宮崎(感染研) 岸本(岡山県) 滝山) 高橋(岩手) 北川(福島) 近藤(神奈川)(大阪) 伊藤(愛知) 山下(修文大)
細菌小班 「精度管理」試行・評価 実施要領・手順(案)作成	滝澤(富山)	大石・村上・大西・泉谷(感染研) 平井・貞升・村・小西(東京) 磯部(富山) 勢戸(大阪) 世良崎(福岡県) 松本(愛知) 四宮(愛媛)

厚労省: 地域保健室
結核感染症課

赤痢菌検査の重要性

- 三類感染症であり、食品関連業務に従事する人の場合、就業制限がかかり、社会的影響が大きい。



地衛研は医療機関や保健所等から同定を依頼をされ、
最終同定が求められる。

- 地衛研では赤痢菌検査数が減少し、検査経験がない職員が増えている。

■赤痢菌は他の病原菌に比べると誤同定が多い。



病原微生物検出情報
国立感染症研究所
感染症疫学情報センター

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

The **HIV/AIDS 2002年** Topic

特集関連情報

- [エイズ予防教育のエビデンスー長崎プロジェクト](#)
- [保健所における性感染症検査の導入による効果ー岡山市](#)
- [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編集委員会序文](#)
- [赤痢菌の同定に関する問題事例ー沖縄県](#)
- [医療機関で大腸菌が赤痢菌\(*S. boydii*\)と誤同定された事例ー滋賀県](#)
- [下痢症患者から分離された*M. morganii*が赤痢菌と誤同定された事例ー千葉県](#)
- [赤痢菌同定の問題点ー東京都](#)
- [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](#)

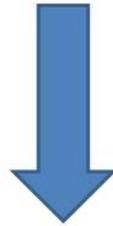
赤痢菌検査のポイント

共通O抗原を有する大腸菌との鑑別

	試験	ポイント
1	血清型別試験	赤痢菌の血清に凝集する大腸菌があることを知っているか。 多価と因子血清を検査できる免疫抗血清を備えているか。
2	生化学的性状試験	赤痢菌と大腸菌と鑑別する生化学的性状(培地)を知っているか。
3	運動性の確認	運動性がないことが赤痢菌の絶対的な性状であることを認識して、運動性の確認に適した培地を使用しているか。
4	遺伝子検査	<i>invE</i> はプラスミド上に存在し、脱落する可能性を知っているか。 <i>ipaH</i> を検出しているか。
5	類似菌との鑑別	類似菌として <i>E. coli</i> 、 <i>Morganella morganii</i> 、 <i>Plesiomonas shigelloides</i> を認識しているか。

平成28年度 精度管理送付赤痢菌の選定

候補菌株: *S. flexneri* (2), *S. sonnei*(2), *E. coli*(1)



感染研から4地衛研に送付、血清型別、
生化学的性状試験、遺伝子検査実施

配付株: *S. flexneri* (1), *S. sonnei*(1), *E. coli*(1)
各検体1菌種で混合ではない。

S. flexneri 2a T16-52の検討結果

施設	直接/増菌	発育	集落の形態	血清型	非定型 生化学的性状	<i>invE</i>	<i>ipa</i> H	同定結果
A	直接(TSB)	有	SS、DHL: S型コロニー	B多価、II、 (3)4	なし	+	+	<i>S. flexneri</i> 2a
B	直接	有	SS、DHL: S型均一 コロニー	B多価、II、 (3)4	なし	+	+	<i>S. flexneri</i> 2a
C	直接	有	白色コロ ニー	B多価、II、 (3)4	なし	+	+	<i>S. flexneri</i> 2a
D	増菌	有	SS: ほぼ 均一白色 コロニー、 DHL: 白色、 ややピン ク大き目 コロニー	B多価、II、 (3)4	なし	+	+	<i>S. flexneri</i> 2a
E	直接	有	小コロ ニー有	B多価、II、 (3)4		+	+	<i>S. flexneri</i> 2a

S. sonnei T12の検討結果

施設	直接/増菌	発育	集落の形態	血清型	非定型 生化学的性状	invE	ipaH	同定結果
A	直接(TSB)	無						
B	直接/増菌	無						
C	直接/増菌	無						
D	直接(TSB)	有	SS:ピンク コロニー、 密集部で は赤	D多価、 DI	なし	+	+	S. sonnei
				D多価、 DII	なし	-	+	S. sonnei
E	直接/増菌	無						

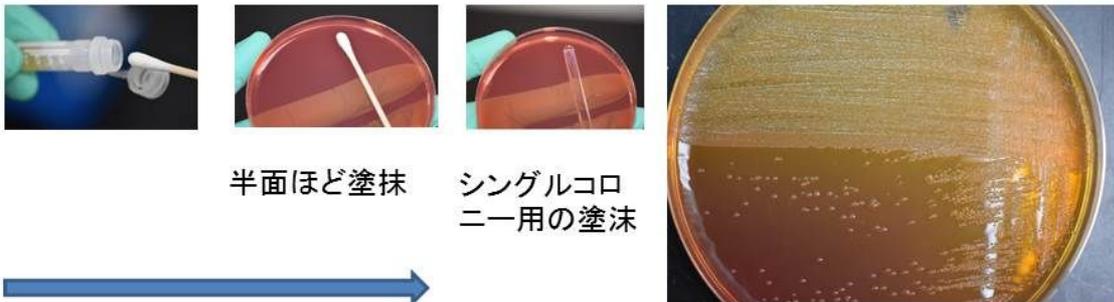
非赤痢菌(大腸菌T10)の検討結果

施設	直接/ 増菌	発育	集落の形態	血清型	非定型 生化学的性状	invE	ipaH	同定結果
A	直接	有	SS、DHL:S型、 R型大コロ ニー	ポイド 9型	酢酸Na(+) 粘液酸(+)	-	-	E. coli
B	直接	有	SS等:S型大、 中コロニー、 DHL等:S型 中コロニー	ポイド 9型	酢酸Na(+) クリステンゼン クエン酸Na(+)	-	-	E. coli
C	直接	有	白色コロ ニー	ポイド 9型	乳糖、白糖遅分解、 ズルシット(+)、サ リシン(+)	-	-	E. coli
D	直接 (TSB)	有	SS:ピンクや や大コロ ニー、DHL: 白色やや大 コロニー	ポイド 9型	GUD(+)	-	-	E. coli
E	直接/ 増菌	有				-	-	E. coli

- 送付赤痢菌2株、大腸菌1株の選定

- 塗沫方法の注意

滅菌綿棒にて、輸送培地表面から菌を十分採材する。寒天培地の半面に、当該綿棒で検体を十分に塗沫する。その後、白金耳等にて単独集落の形成を目的に塗沫する。



半面ほど塗沫

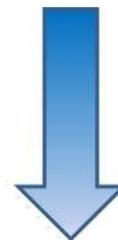
シングルコロニー用の塗沫

平成29年度

参加地方衛生研究所の選出 (H29.3)

地方 (地衛研数)	人口 (万人)	参加機関数
北海道・東北・新潟(11)	1,686	3
関東・甲信・静岡(28)	4,944	5
東海・北陸(8)	1,260	3
近畿(15)	2,276	4
中国・四国(11)	1,170	3
九州・沖縄(12)	1,323	3
計(85)	12,659	21

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

**参加地衛研から感染研への
BSL2実験室確認書の提出(H29.4)**

BSL2(3)実験室確認書(ひな形)
(分与様式5に添付)

2017年4月21日

BSL2(3)実験室確認書
実験室名: 細菌研究室BSL2(P2)実験室

上記実験室はBSL2(3)実験室としての設備および運営の要件を満たしています。

なお、以下に該当する場合、

- (1) 特定病原体等の場合、所持許可(二種)を得ている、又は届出(三種)をしている(或いは受領後届出予定)
- (2) 監視伝染病病原体の場合、所持許可(重点管理、又は要管理)を得ている、又は届出をしている
- (3) 遺伝子組換え生物の場合、実験承認を得ている

ことを確認しています。※今回(1)~(3)には該当しません。

バイオセーフティ管理者: ○○○○(またはそれに該当する方)
所属・役職: ○○県衛生研究所・○○部長

注: WHOコラボレーションセンターを除く、検査研究依頼時に依頼先施設に作成を依頼する。

**菌株搬送用容器の感染研
への送付のお願い(H29.5)**

平成29年5月1日

細菌感染症外部精度管理調査・参加担当者 様

地方衛生研究所全国協議会精度管理部会
厚生労働科学研究「精度管理研究」班
研究代表者 皆川洋子
(愛知県衛生研究所長)

細菌感染症検査における外部精度管理用菌株搬送用容器の感染研への送付について

地方衛生研究所全国協議会および研究班の活動にご協力ありがとうございます。

さて、平成29年2月27日付けで参加希望の照会を致しましたところ、ご参加の申込をいただきありがとうございました。つきましては、別紙1菌株搬送用容器の準備、別紙2菌株搬送用容器発送チェックシートを参考にして菌株搬送用容器を5月15日(月)に感染研に到着するよう送付をお願いします。なお、ご都合の悪い機関については、ご連絡ください。調整させていただきます。

併せて別紙3参加申込書及び誓約書を受知県衛生研究所まで電子メールでの送付よろしくをお願いします。

記

送付書類

- ①別紙1 菌株搬送用容器の準備
- ②別紙2 菌株搬送用容器発送チェックシート
- ③別紙3 参加申込書及び誓約書

送付及び問い合わせ先: 研究代表者 皆川洋子 (愛知衛研)

eiseiken@pref.aichi.lg.jp

誓約書提出のお願い(H29.5)

誓約書(参加申込書)

地方衛生研究所全国協議会精度管理委員会

厚生労働科学研究「精度管理研究」班

研究代表者 皆川 洋子 様

(検体発送担当：国立感染症研究所 細菌第一部 大西 真 様)

平成29年度「細菌感染症検査における外部精度管理試行」について、事前調査時に提示された参加条件を了承の上参加を申し込みます。参加にあたっては、特定病原体四種に応じた施設基準、保管、使用、運搬、滅菌等の基準(厚生労働省令)を遵守します。

施設名 愛知県衛生研究所

所属部署名 生物学部 細菌研究室

実施担当者職・氏名

施設住所 〒 462-8576

愛知県名古屋市中区辻町字流7-6

電話番号 052-910-5618

メールアドレス eiseiken@pref.aichi.lg.jp

特定病原体移動責任者職・氏名 部長・松本昌門

申込書送付先：細菌小班外部精度管理試行事務局(愛知県衛生研究所・松本)

E-mail : eiseiken@pref.aichi.lg.jp

菌株発送

5月19日(金)、感染研で準備した検体3件(赤痢菌陽性2株、赤痢菌陰性1株)をジュラルミン製4次容器に入れ、ゆうパックで5月22日(月)に各地衛研到着で送付した。

6月22日までに検査結果報告書及び赤痢菌検査経過記録書を愛知衛研に送付した。



一次容器



二次容器



三次容器

四次容器



検査結果報告書(赤痢菌の同定結果)

		結果		根拠とした検査結果
赤痢菌の同定結果	検体1	陽性	陰性	O抗原(+)、生化学的性状(-)、赤痢菌遺伝子(-)
	検体2	陽性	陰性	O抗原(+)、生化学的性状(+)、赤痢菌遺伝子(+)
	検体3	陽性	陰性	O抗原(+)、生化学的性状(+)、赤痢菌遺伝子(+)

参加27地衛研の検査結果

試料	赤痢菌	
	陽性	陰性
1	0	27
2	27	0
3	27	0

赤痢菌検査のポイントについて

試験	ポイント	結果(地衛研数)	判定
血清型別	赤痢菌の血清に凝集する大腸菌があることを知っているか。 多価と因子血清を検査できる免疫抗血清を備えているか。	ボイド9型(15), -(11), ND(1) 1号セット(26),2号セット(1)	試料1: 赤痢菌陰性
生化学的性状	赤痢菌と大腸菌と鑑別する生化学的性状(培地)を知っているか。	赤痢菌・大腸菌鑑別試験(20)	試料1: 赤痢菌陰性
運動性の確認	運動性の確認に適した培地を使用しているか。	SIM,LIM,半流動培地(27)	試料1-3: 運動性陰性
遺伝子検査	<i>invE</i> はプラスミド上に存在し、脱落する可能性を知っているか。 <i>ipaH</i> を検出しているか。	<i>invE</i> (-), <i>ipaH</i> (+):1 <i>invE</i> のみ実施(3)	試料2,3: 赤痢菌陽性

まとめ

- 参加27地衛研に対して赤痢菌を用いた外部精度管理調査試行を実施した。検体、検査結果の送付等に大きな問題なく行うことが出来た。
- 赤痢菌と大腸菌の鑑別、赤痢菌の同定は全ての施設で正しく行われていた。
- 今年度末までに結果のフィードバックとして地衛研職員が参加する研修会等で報告を行う予定である。
- 大学等研究教育機関との連携、病原体の精度管理における保健所との連携を図りながら、外部精度管理実施体制及び必要な文書ひな形案等を提言していきたい。

謝辞

本研究は以下の先生方との共同研究です。

- 村上光一、泉谷秀昌、大西 真
(国立感染症研究所)
- 磯部順子、滝澤剛則(富山県衛生研究所)
- 河村 真保、小西典子
(東京都健康安全研究センター)
- 勢戸和子(大阪健康安全基盤研究所)
- 世良暢之(福岡県保健環境研究所)