

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)

平成28年度 総括研究報告書

研究代表者 皆川 洋子

平成29(2017)年4月

## 目 次

． 総括研究報告書「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）」	
皆川 洋子（研究代表者、愛知県衛生研究所） .....	1
． 分担研究報告書	
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 博一（国立感染症研究所） ほか .....	13
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 弘（国立感染症研究所） ほか .....	19
3. 赤痢菌検査の外部精度管理調査に関する事前準備調査	
村上 光一（国立感染症研究所） ほか .....	27
4. 東京都における衛生検査機関を対象とした精度管理調査事業について	
平井 昭彦（東京都健康安全研究センター） ほか .....	35
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 洋子（愛知県衛生研究所） ほか .....	43
． 研究成果に関する刊行一覧表 .....	73
． 資料	
1) 第一回ウイルス・細菌小班 WG 会議資料（2016.7.6 感染研） （プログラム、パワーポイント資料） .....	75
2) 地全協精度管理部会会議資料（2016.10.25 大阪） （会議概要、パワーポイント資料） .....	80
3) ウイルス小班コア WG 会議資料（2016.10.26-28 感染研） （会議概要） .....	82
4) 細菌小班コア WG 会議資料（2016.11.15 感染研） （会議概要） .....	83
5) 全体班会議資料（2017.1.11 感染研） （プログラム、パワーポイント資料） .....	84
6) 衛生微生物技術協議会第37回研究会（2016.7.21 広島） パネルディスカッション改正感染症法施行に伴う課題： 地衛研の立場から(精度管理部会)（抄録、パワーポイント資料） .....	86

# . 総括研究報告書

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）  
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、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)細菌精度調査の試行準備、(3)全国地方衛生研究所における「病原体検査の質確保」体制構築状況の調査を実施した。(1)ウイルス小班ではエンテロウイルス遺伝子検査の標準化に取り組み、感染研におけるワークショップを経て市販核酸を活用する外部精度調査プロトコルがほぼ完成した。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ウイルス研修受講者を対象に、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を実施した。(2)細菌小班では赤痢菌保存菌株から精度調査用検体として適切な株を選定及び検体の調整法を確立できた。また地域保健における技術的中核機関として、一部の自治体で地衛研が自治体内の衛生検査機関を対象とした精度管理調査用検体提供等を担当している状況について、東京都に関する調査研究を実施した。(3)項目小班を中心に実施したアンケート調査にはほぼ全ての地衛研の協力を得て、感染症法改正に対応する体制の現状と地衛研が抱える課題を把握できた。初年度の研究の結果、次年度にウイルス及び細菌精度調査を試行するめどがたった。

**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
	山本 容正	大阪府立公衆衛生研究所
	岸本 壽男	岡山県環境保健センター
	脇田 隆字、宮崎 義継、	吉田 弘、木村 博一、村上 光一、大石 和徳
		国立感染症研究所
研究協力者	平井 昭彦、河村 真保、	小西 典子、貞升 健志、千葉 隆司、大井 洋
		東京都健康安全研究センター
	磯部 順子、小淵 正次	富山県衛生研究所
	中井 恵子、勢戸 和子	大阪府立公衆衛生研究所
	山下 育孝	愛媛県立衛生環境研究所
	末吉 利幸	山口県環境保健センター
	世良 暢之、濱崎 光宏、	香月 進
		福岡県保健環境研究所
	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
	峯岸 俊貴、岸本 剛	埼玉県衛生研究所
	近藤真規子	神奈川県衛生研究所
	清水 英明	川崎市健康安全研究所
	梅山 隆、長澤 耕男、泉谷 秀昌、緒方喜久代、大西 真	国立感染症研究所
	山下 照夫	修文大学
	伊藤 雅、松本 昌門、青木美耶子、鈴木 匡弘、垣添 寛和、広瀬かおる	愛知県衛生研究所
	班会議出席者（オブザーバー）	
		厚生労働省結核感染症課
		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

**A. 研究目的**

地方衛生研究所（以下地衛研）は、自治体の感

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従前より担当しており、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について中心的役割を果たすことが期待される。地衛研が実施する病原体検査の質を確保するためには内部精度管理実施とともに、新たに病原体外部精度管理システムを構築する必要がある。本事業においては、ウイルス及び細菌検査について、各々システム構築を視野においた精度管理の試行（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・国立感染症研究所（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、病原体検査機能の維持向上を通じて感染症や微生物を原因とする食中毒による健康危機管理を支える自治体の人材育成を図る。以前から一部地衛研が自治体内（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試験検査課等に精度管理用検体を提供している実態について研究報告するとともに、次項のアンケート調査において全国における実情把握（予備調査）を行う。法改正初年度にあたり、全国地衛研を対象にアンケート調査を実施し、「病原体検査の質確保」への取り組み状況及び地衛研が抱える課題等の把握を試みた。

## B. 研究方法

### 1. 3 小班編成による研究分担

平成 26-27 年度にわたり実施された先行研究（佐多班）の成果(1, 2)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することとした。

平成 28 年度における「ウイルス小班」の研究は、感染研感染症疫学センター 木村室長を中心にウイルス遺伝子検査法の研修に精度保証手法をとりこみ（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プレーンとしてワーキンググループ(WG)地衛研のウイルス担当者が感染研に集合してベンチワークを行う等協力する形で、病原ウイルス検査の精度管理実施システム構築及び試行準備を担当した（分担研究報告書 2 参照）。「細菌小班」は、感染研感染症疫学センター 村上室長及び富山県衛生研究所 滝澤所長を中心にコア WG 地衛研の細菌担当者が協力して、三類感染症「赤痢」の病原体である赤痢菌検査を対象とした病原細菌検査の精度管理実施システム構築及び試行準備

備をほぼ完了した（分担研究報告書 3 参照）。さらに自治体における感染症・食中毒対応等の科学的技術的中核機関として一部の地衛研が以前から担当している精度管理用検体提供等の実態について検討を開始し、東京都について調査研究報告をまとめた（分担研究報告書 4 参照）。「項目小班」では、法改正初年度にあたり全国地衛研を対象にアンケート調査を実施し、「病原体検査の質確保」への取り組み状況及び地衛研が抱える課題等の把握を試みた。まず今年度全面施行された感染症法改正に基づき病原体検査における信頼性確保部門管理者、検査部門管理者、検査区分責任者の配置状況、結核を除く二類感染症（ウイルス遺伝子検出主体）及び三類感染症（細菌）検査担当人員について調査した。さらに法改正初年度の検査機器設備・点検等への予算確保状況について、現場の実感を調査した。多くの地衛研で病原体検査が実施されている疾患を中心に二類～五類感染症の一部について、標準作業書作成状況・標準品の要望・外部精度調査のニーズについても調査した（分担研究報告書 4 参照）。

### 2. 小班内への WG 設置及び全体班会議等による小班間の相互連携

項目小班によるアンケート調査結果の検討には他の小班を担当しているウイルス・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についても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評価の得られるものをめざす必要がある。旅費はじめ限られた予算を最大限効率的に活用する観点からもウイルスと細菌については、検体取扱い等の発生する具体的検討事項を小班内に設置した WG 内で進めるとともに、検討班会議はウイルスと細菌が一堂に会する形で活発な意見交換を図った。さらに全体班会議では 3 小班及び感染研より多くの参加を得て活発な議論が行われた。地衛研・感染研以外の大学等に属する研究協力者については、今年度は班会議出席がかなわなかったため研究報告書案に対する意見を聴取した。

（倫理面への配慮）検体提供者の個人情報を取り扱わない。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）

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 法および NoV シークエンス・分子系統樹解析）に関する研修を地衛研職員 23 名を対象に行った。地衛研在籍歴は 7 か月～10 年 7 か月であった。研修受講者は、同一試薬・同一機器を用い、3 日間連続でリアルタイム PCR（polymerase chain reaction）法による標準曲線作成および試料中の NoV 遺伝子コピー数の定量を行った。また PCR 産物のシークエンスおよび系統樹解析をとおして塩基配列の正確度や系統樹の精密度に関する研修も行った。本研究においてリアルタイム PCR 法では、最小測定感度の確保、標準曲線の精確度、試料定量の精確度ならびに陰性対照の精確度を、シークエンス・系統樹解析においては、PCR の精確度、シークエンスの精確度ならびに系統樹の精確度を採点対象として受講者の個別評価（A～D 評価）も行った。さらに、実習終了後、実習レポート提出および受講者の個別面談を行い、本研修内容における技術的な助言および指導も行った。本研修における受講者の評価は A 判定 3 名、B 判定 17 名ならびに C 判定 3 名であった。今後さらに本研究を発展させ、地研におけるウイルス検査精度の確保・改善に資する詳細な検討と研修を行う必要性が判明した。

### 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3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いる手足口病検査を対象とした外部精度管理調査用試料調製の条件検討を行った。起因ウイルスであるエンテロウイルスを感度の高い CODEHOP-snpPCR 法で同定する場合、同定結果の信頼性確保にはウイルス感染価と PCR によるウイルスゲノム検出下限値、遺伝子配列解析による同定可能なウイルスゲノム下限値を把握

した上で、目的とする検出感度、正確性を設定し、試料調製を行う必要性が認められた。

本法による信頼性の評価は既知の標準 RNA を用いたエンドポイント測定により施設間の比較調査が可能であると考えられる。このため RNA を安定に保管する条件を検討した。自家調整 RNA 及び市販 RNA コントロールを RNA 保管用製品（RNAstable）を用い、安定化させる条件について一定の結果を得たが、施設内変動を減少させる条件をさらに検討する必要がある。

遺伝子検査による同定目的の定性試験には、比較的価格の安い FTA Elute カードに高力価ウイルス、高濃度 RNA を固定することで CODEHOP 法で検出可能な RNA が回収可能であり、外部精度管理調査を目的とした試料輸送に適用可能と考えられる。

### 3. 赤痢菌検査の外部精度管理調査に関する事前準備調査（村上らの報告書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平成 29 年度に試行するのに先立ち、今年度は必要な手順や問題点を予め検証することを目的に研究を進めた。保存により抗原性が変化しやすい赤痢菌に対して、抗原性を維持するための継代培養法を検討し、適切な培養方法を確立した。さらに平成 29 年度試行にあたり配布する菌株を選択するため、候補菌株を実際にワーキンググループ内の機関に輸送し、到着後の抗原性の変異や生化学性状の妥当性を検査し、その結果をもとに平成 29 年度に配布する菌株候補を選択した。これにより、平成 29 年度の精度管理実施の基盤となる部分の準備が完了した。本研究を通じて「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の実施には、送付菌株の適切な継代等、綿密な準備が必要であることが明らかとなった。

### 4. 東京都における衛生検査機関を対象とした精度管理調査事業について（平井らの報告書4を参照）

自治体における地衛研の役割として、保健所や民間衛生検査所等の検査精度確保に精度管理用検体を提供する等をとおして協力することも考えられる。長年保健所等に検体配布等の実績のある機

関を代表して、昭和 53 年より東京都・特別区衛生検査機関（都区内保健所および衛生研究所）における精度管理調査を実施している東京都について、平成 27 年度に実施した精度管理調査を中心に精度管理の概要について調査研究報告をまとめた。都区内保健所の技術維持・更新に大きな役割を果たしていた。

#### 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）

全国地衛研における検査の質確保の現状把握及び課題の抽出を目的に、アンケート調査を実施し、81 機関中 80 機関から回答を得た。

今年度全面施行された感染症法改正に基づき、新たに病原体検査における信頼性確保部門管理者、検査部門管理者、検査区分責任者はほとんどの地衛研で配置されていたが、信頼性確保部門は本庁・保健所等他機関に置いた地衛研も多かった。検査員の人数や、結核を除く二種感染症（ウイルス遺伝子検出主体）及び三類感染症（細菌）検査人員体制も調査した。法改正初年度の検査機器設備・点検等への予算確保状況について、現場の実感を調査した。二類～五類感染症の一部について、標準作業書作成状況・標準品の要望・外部精度調査のニーズについても調査した。現在実施中の病原体検査に関する標準作業書等の文書作成は、多くの機関が対応済若しくは 11 月時点で近い将来対応予定となっていた。調査結果解析図表及び自由記載欄へのコメントは、分担報告書 5 に収載した。

### **D. 考 察**

#### 1. 外部精度管理システム構築と地衛研人材育成の必要性

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を定期的に受ける義務を負うが、現在細菌・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いため、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た。一方地衛研職員に限った現象ではないが、近年団塊世代らベテラン職員が多数定年を迎えた後の専門職員育成あるいは補充に

苦労している自治体は少なくない。地衛研の研究職員確保及び育成にあたり、人事権を行使する部署に専門家を育てる必要性への理解が必ずしも十分でない自治体があり、本研究班の先行研究において精度管理のフィードバック研修を受けた担当者が既に異動している事例もあると聞いている。病原体検査精度の確保の必要性を強調することが、各自治体における感染症や全数把握感染症検査精度維持向上ならびに担当自治体職員教育訓練の必要性認識につながり、地衛研における長期的展望にたった専門家の育成が行いやすくなることが期待され、結果として自治体の感染症による健康危機対応体制の維持強化が期待できる。

#### 2. 病原体検査の「質」確保 食品検査における GLP

地衛研が担当する病原体検査の信頼性確保は、各自治体のいわば定常状態を把握する感染症発生动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、食中毒や集団発生インシデント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精度維持に不可欠であり、検査の「質」を確保するにあたっては、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) との異同を十分認識する必要がある。感染症法に基づく病原体あるいは血清学検査においては、しばしば定性的判定（陽性か陰性か）が決定的に重要となる。規格基準適合性検査と同様に定量性や感度が全国の地衛研間で一定の範囲に収まることや、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、ブレ（検査室間並びに室内誤差）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は、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）は定性結果判定に用いられる閾値より 1~2 段階希釈高なっている。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(3)。

### 3. 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)(4)及びWHO西太平洋支部(WPRO)等によるAsia Pacific Strategy for emerging diseases(APSED)(5)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結果をスクリーニングに活用されている。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2月以降のジカウイルス感染症対応においても、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」の病原ウイルスは、アジアでは毎年のように死亡例を含む大きな問題となっている(6)。手足口病の病原ウイルスは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。

### 4. 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、アンケート回答から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ことが判明した。また最も先進的な東京都について研究報告をまとめた(分

担研究報告書4)。次年度はより詳細な調査を実施して、地域における感染症検査体制の維持強化に地衛研が果たすべき役割について検討したい。さらに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。

### 5. 地衛研による病原体検査体制の現状及び課題の把握

法改正初年度にあたり、全国地衛研を対象にアンケート調査を実施し、「病原体検査の質確保」への取り組み状況及び地衛研が抱える様々な課題が明らかになった(分担研究報告書5)。予算人員不足など地衛研だけの努力で解決するのは難しい課題も多数あるが、地衛研のみならず自治体内の関係機関にも調査結果に基づく理解や協力を得る努力を重ねて、少しずつ状況を好転させ向上をめざす方策を考えたい。また、信頼性確保部門管理者や検査部門管理者が新たに配置されたことに伴い、検査担当者の文書事務負担が過大とならないよう留意する必要がある。

### 6. 平成28年度研究活動の総括及び次年度研究に向けて

本研究事業の初年度にあたる平成28年度は、まず、分担研究報告書2及び3にあるとおり、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した精度管理実施システムの試行準備を図ることができた。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な計画を立案していただき、試行錯誤の段階では地衛研の研究協力者が現場の代表として積極的に参加した。また、次年度にはウイルス・細菌各々について20程度の地研を対象に試行を行い、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のあり方について検討する予定である。

## **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、感染研におられる病原体の専門家が中心となり、検査の現場を熟知した地衛研担当者が協力する形で外部精度管理システム構築に着手し、次年度試行のめどがたった。他の病原体への応用も見据えた形で引き続きシステム構築を進める必要がある。

法改正を契機に、地衛研が主に担当している季節性インフルエンザをはじめとする病原体発生動向調査にとどまらず、二類・三類及び四類・五類全数把握感染症の一部について、病原体検査精度を維持向上させる取組みの必要性に関する関係者間の認知度が、顕著に向上したと思われる。アンケート調査結果からは人員(数及び経験年数等の質)・機器設備・予算等の厳しい状況も明らかになった。

法改正前には、一部自治体人事担当者等の理解が得がたく現場で専門家を育てることが難しかった状況が、改正施行に伴い少しでも好転して、外部精度調査と関連研修を受けることに加えて、担当者が経験を重ねることや、各機関でOJTができる体制の維持を含む教育訓練・研修・学会参加等の必要性に対する認識が自治体内でも共有され、感染症による健康危機対応体制の維持強化につながる成果が得られるよう、引き続き研究を続けたい。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

関連発表はなし

### 2) 学会発表

1. 皆川洋子 パネルディスカッション 改正感染症法施行に伴う課題：地衛研の立場から。衛生微生物技術協議会第37回研究会(2016.7.21 広島市)

## 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. 2015. 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年度 総括・分担研究報告書.
2. 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27年度 総括・分担研究報告書.
3. 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.
4. World Health Organization. 2016. International health regulations (2005) - 3rd ed.
5. 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.
6. 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)

2017年2月20日 研究評価会提出資料

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

H26,H27佐多班との違い:

- ・外部専門家からの助言を得る
- ・予算が・・・ → 全体会議を2回から1回に、別途外部精度管理事業が立ち上がったことから予算の範囲で試行を実施

**感染症に関する情報の収集体制の強化(概要)**

(第14条の2、第15条、第16条の3、第26条の3、第26条の4、第44条の7、第50条関係)

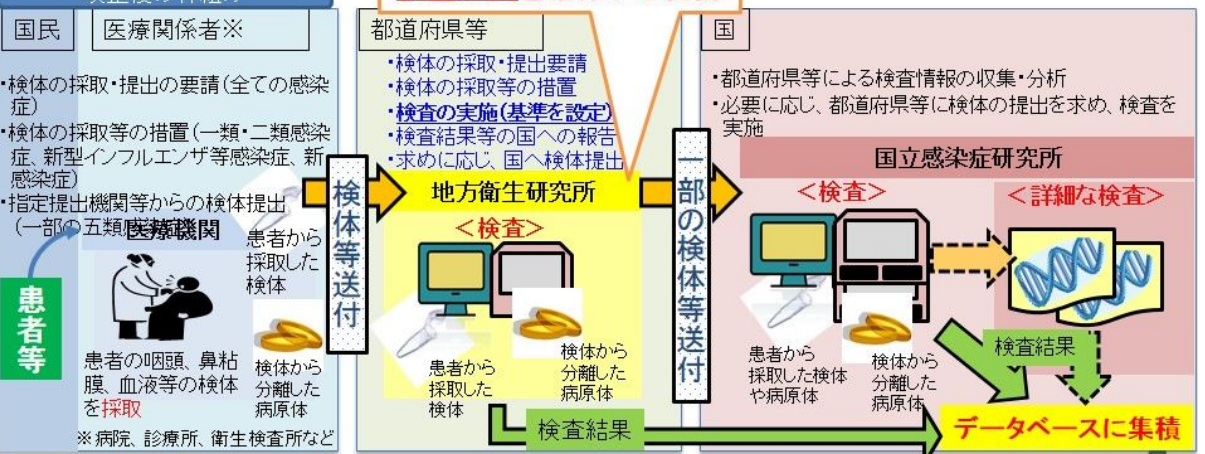
【現行制度の課題】

- 近年、病原体の遺伝子解析技術等の飛躍的な進歩に伴い、感染症対策を立案するに当たって、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。
  - 現行の積極的疫学調査の一環である検体等の提出の求めについては、①感染症法に明確に定めがなく、②医療機関等の関係者の協力が努力義務にとどまる。
- 関係者からの協力を得る際に障害となり得る。

【改正の概要】

- 検体等の採取・提出の協力要請、それに応じない場合の措置について、法に規定するとともに、入手した検体等の検査、検査結果の報告等に関する規定を整備する。これにより、感染症に関する情報収集体制を強化。

改正後の枠組み



疫学調査の強化・充実

- ・一類、二類、新型インフルエンザ等感染症、新感染症などの発生の正確かつ確実な把握等
- ・流行している季節性インフルエンザの型や薬剤耐性インフルエンザウイルスの発生状況把握、ワクチン株選定の妥当性情報分析の評価、新たな感染症との比較など

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  
 実施に必要な事業体制の構築に関する研究(H28-健危-一般-002)

## H28年度に地衛研が直面している課題

1. 検査の質の確保に資する外部精度調査項目(具体的な病原体・検査法)の検討。  
→包括的な外部精度調査法の確立
2. 病原体名を限定しない、感染症疾患名(例:手足口病、感染性胃腸炎)毎の  
精度管理調査の必要性、必要な場合の地衛研にとって適切な手法の検討。
3. 検査の質確保の目的が食品GLP、水質GLPとは異なることの認識不足。  
・健康危機対応←迅速・定性(若しくは半定量)検査が主体  
・新たな知見の追加に伴い検査手法・感度や陽性の定義も随時変更がありうる  
検査の基準を予め厳密に決める(食品GLP, 水質GLP)ことも大事だが、  
どのプロトコルで実施し、どのような結果が得られたか記録に残す、  
分離株が得られたら、感染研等と共有のうえ性状を確認する ことが大事
4. 手順書・記録・報告書の管理等、事務量が増大している。  
感染症対策に有用な項目に絞り、付随的な事務の簡素化したいが・・
5. 効果的な研修手法の工夫。マンパワーの確保。  
・長期的視野に立った人材の計画的育成・確保(専門家のリクルート?)
6. 自治体内衛生検査所・保健所等の精度管理への協力(検体配布等)。  
・実績調査から着手。

3

## H28 分 担 表(v5 敬称略)

2017.1.11

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 ・精度管理項目の精査 ・他施設等の状況把握	皆川 (愛知) 15名	佐野(名古屋) 猿木(群馬)香月(福岡) 山本(大 阪府) 岸本(岡山) 大井(東京) 滝澤(富山) 末吉・調(山口)四宮(愛媛)岸本剛(埼玉県) 脇田・宮崎・大石(感染研)
ウイルス小班 「精度管理」試行・評価 報告書	皆川 (愛知) 15名	吉田・木村・長澤(感染研) 岸本(岡山) 滝澤(富山)高橋(岩手)北川(福島)山下(愛媛) 峰岸(埼玉県)濱崎(福岡県) 近藤(神奈川) 中田(大阪府) 伊藤(愛知) 宮崎・梅山(感染研)山下(修文大)
細菌小班 「精度管理」実施要領・手 順(案)作成 報告書	滝澤 (富山) 12名	平井・貞升(東京) 磯部(富山) 瀬戸(大阪府) 世良(福岡県) 松本(愛知) 四宮(愛媛) 大石・村上・大西・泉谷(感染研)
研究報告書作成	皆川 (愛知)	各小班担当者(分担、協力)全員

4

## H28精度管理班発足・活動状況

佐多班(H26, H27年度)を引き継ぐ形で、平成28, 29年度の2年計画

7月6日(水) 第1回 WG会議 (ウイルス・細菌)

7月21-22日(第27回衛生微生物技術協議会研究会会期中)

- ・パネルディスカッションにおいて情報提供
- ・細菌小班打合せ **WG内に赤痢菌候補株を送付・試行を開始**

10月25日 ・地全協精度管理部会(項目小班会議を兼ねる)

10月26-28日・ウイルスコアワークショップ **遺伝子検出試行**

11月15日(火) ・細菌小班コアWG会議

11月下旬~12月 項目小班**検査の質に関するアンケート実施(全国地衛研)**

2017年1月11日(水) 全体会議 **検討事項等**

**ウイルス小班:**

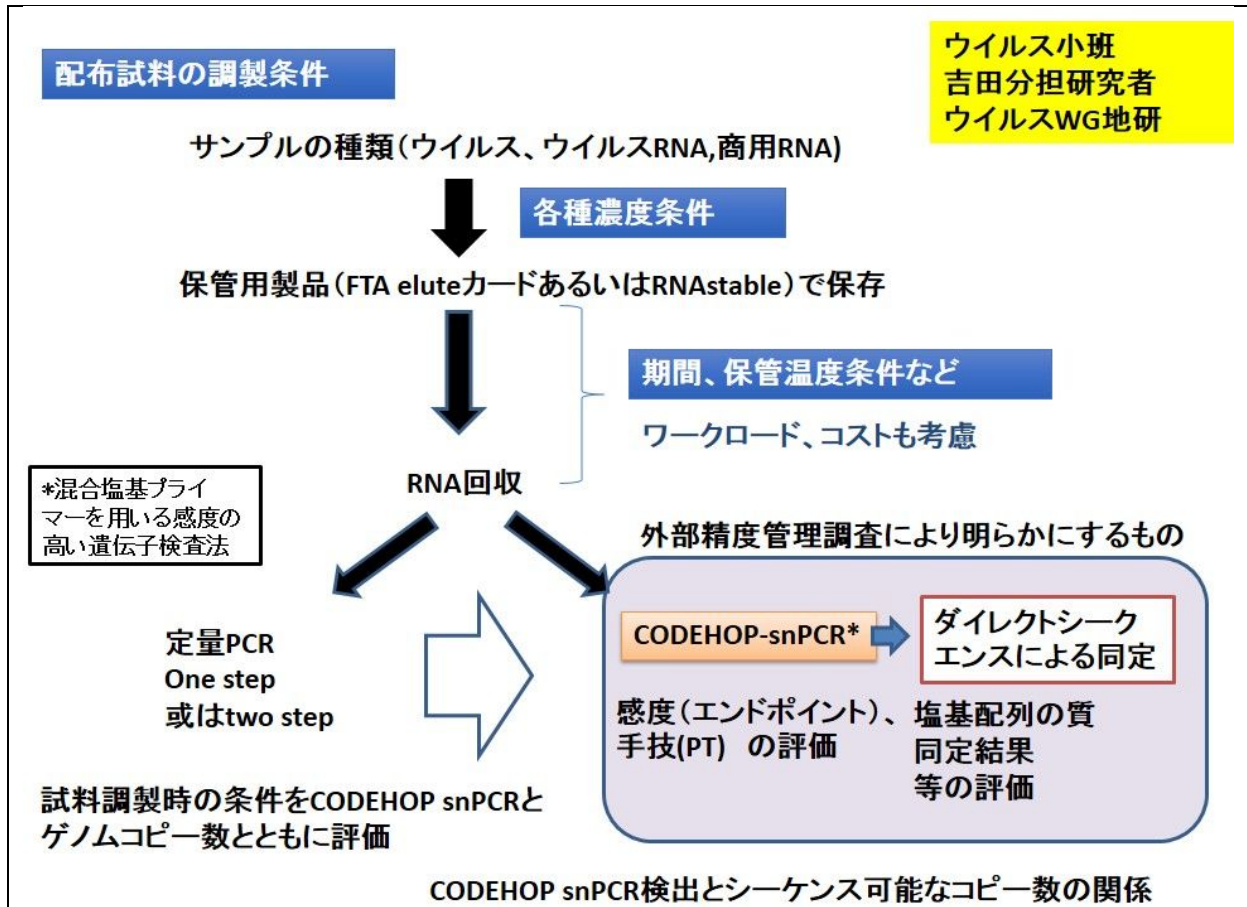
- ・29年度は一部地衛研にエンテロウイルス遺伝子検体を配布し外部精度調査を試行
- ・ウイルス核酸検出に関する包括的精度保証プロトコル案作成に向けて検討

**細菌小班:**

- ・29年度に赤痢菌について、一部地衛研に検体を配布し、外部精度調査を試行
- ・保存菌株を精度管理に適した性状に戻す等、包括的精度保証プロトコル案作成に向けて検討

**項目小班:**

- ・アンケート結果を検討
- ・29年度には関連研修、他機関への検体配布等についてさらに検討予定



## 検体保管・輸送に用いる各種製品の評価のサマリー

ウイルス小班  
吉田分担研究者

	RNA 固定	RNA回収	回収率	価格	温度安定性
FTA elute card (40ul)	容易 3hrs	容易 (数十分)	ばらつく (高濃度に すること)	450円(40ulx4サーク ル:1サークル)	数日なら室温OK
FTA カード (125ul)	容易 1hrs	抽出キット 要。煩雑	Not done	555円/枚(125ulx1 サークル)	Not done
RNAstable (10-20ul)	容易 Over night	容易(15 分)	安定	1560円(チューブ)	vRNAで室温で1週 間安定を確認。 市販RNAは追加調 査をさらに実施予 定

## 細菌小班・細菌WG活動

細菌小班  
村上分担研究者  
細菌WG 4地研

7月6日 細菌WG会議

赤痢菌を対象に  
20地衛研程度を対象に

7月21日 細菌WG会議(衛微協にて)

赤痢菌2株、類似菌1株を別々に 送付  
候補株を WG内に送付し、性状等を試験菌株の抗原変異や、  
プラスミドの脱落が問題

10月14日 菌株送付(細菌WG内) 5株

候補株の評価等

11月15日 細菌WG会議

問題点の洗い出し

12月9日 菌株送付(細菌WG内)

問題のあった候補株の再送付

## 赤痢菌候補株 性状等まとめ

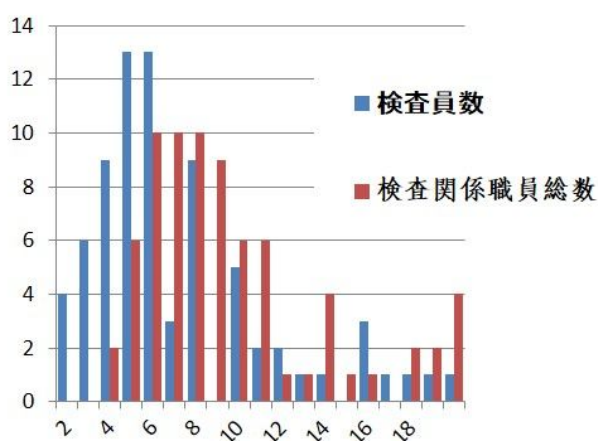
細菌小班  
村上分担研究者

No.	菌種	非発育	非検出		非特異的 血清凝集反応
			<i>invE</i>	<i>ipa</i> H	
T9	<i>S. flexneri</i> 2a	0	0	0	0
T16-52	<i>S. flexneri</i> 2a	0	0	0	0
T12	<i>S. sonnei</i>	4	4	4	4
B	<i>S. sonnei</i>	2	2	2	2
T10	非赤痢菌	0	5	5	5

T12, BについてWG地研に再送し、  
培地に発育することを確認済み

## H28項目小班アンケート-3

## (2)①検査部門管理者・区分責任者・検査員の状況

項目小班  
アンケート

- 検査員数は2~23名(平均7.4名 但し6名以下が60%を占める)
- 部門管理者・区分責任者を含む関係職員総数は4~26名(平均9.9名 但し9名以下が62%を占める)

## H28項目小班アンケート17年1月時点のまとめ

項目小班  
アンケート

1. 人員体制・点検費用・機器更新増設等予算  
信頼性確保及び検査部門区分管理体制はほぼ全ての機関で設置済  
但しマンパワーの確保(質・量とも)に多くの自治体が苦慮
2. 手順書(SOP): 主な二類、三類感染症については7割以上が準備済  
五類定点感染症については、病原体名か感染症疾患名(例:手足口病、感染性胃腸炎)毎か、は機関により分かれている。
3. 標準品についても、病原体(核酸のみ、菌株)以外に疾患名に基づく物品の配布希望が一部機関から寄せられた。
4. 外部精度管理調査の参加希望は、二類、三類についてはおおむね高率。
5. 他機関(保健所・管内衛生検査所等)への精度管理用検体提供等は、17機関が実施(主に細菌検査と思われる)。→29年度に再度調査を計画  
国立感染症研究所に加えて、一部の地衛研(支部で数か所)も検体提供を担当する素地はありとえられる。

## H28-29の予定 ver4

2017.1.25

担当 小グループ	H28(2016)年度	H29(2017)年度
項目小班 ・精度管理項目の 精査 ・他施設等の状況 把握  班全体で 検討	(・法改正後の現状把握(26年度調査との比較)→インフルエンザは2016/17シーズン警報発令後再調査←松井班) ・精度管理体制の調査(人員・予算・機器) ・精度管理が望ましい項目に関するアンケート調査	・前年度調査をふまえ、検査の質確保のうえで地衛研病原体検査担当部署が抱える問題点の検討 ・検査の質確保の立場から検体配付が必要な病原体・検査法・研修体制等の検討 ・自治体内他機関への協力(検体提供等)を通じた地域における地衛研の在り方を模索
ウイルス小班 「精度管理」試行・ 包括的实施要領 (案)作成	・エンテロウイルス精度管理調査試行準備 CODEHOP法を中心にコアメンバーで検討、29年上半期までに試行	・エンテロウイルス精度管理試行解析、調査検討、(フィードバック研修) ・包括的なウイルス精度管理要領の作成
細菌小班 「精度管理」試行・ 実施要領・手順 (案)作成	・精度管理実施が望ましい細菌の検討 三類且つP2(赤痢菌) ・29年度検体配付計画の作成	・検体配付を伴う精度管理調査試行、結果解析 ・包括的な細菌精度管理要領の作成

12

# . 分担研究報告書



## 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

研究分担者	木村 博一	国立感染症研究所感染症疫学センター第6室長
	村上 光一	国立感染症研究所感染症疫学センター第5室長
	宮崎 義継	国立感染症研究所真菌部長
	四宮 博人	愛媛県立衛生環境研究所長
	調 恒明	山口県環境保健センター長
	大石 和徳	国立感染症研究所感染症疫学センター長
研究協力者	水越 文徳	栃木県保健環境センター
	小淵 正次	富山県衛生研究所
	貞升 健志、千葉 隆司	東京都健康安全研究センター
	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

### 研究要旨

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 法および NoV シークエンス・分子系統樹解析）に関する研修を行った。研修受講者は23名で、地方衛生研究所在籍歴は、7か月～10年7か月であった（平均±標準偏差：3年2か月±2年3か月）。研修受講者は、同一試薬・同一機器を用い、3日間連続で、リアルタイム PCR 法による標準曲線作成および試料中の NoV 遺伝子コピー数の定量を行った。また、GII.4 の PCR 産物を用い、シークエンスおよび系統樹解析も行い、塩基配列の正確度や系統樹の精密度に関する研修も行った。本研究において、リアルタイム PCR 法では、最小測定感度の確保、標準曲線の精確度、試料定量の精確度ならびに陰性対照の精確度を各々1点とし、シークエンス・系統樹解析においては、PCR の精確度、シークエンスの精確度ならびに系統樹の精確度を各々1点とし、合計8点で受講者の個別評価（A～D 評価）も行った。さらに、実習終了後、実習レポート提出および受講者の個別面談を行い、本研修内容における技術的な助言および指導も行った。本研修における受講者の評価は A 判定（7点以上）が3名、B 判定（5～6点）が17名ならびに C 判定（4～5点）が3名であった。今後、さらに本研究を進展させ、地研におけるウイルス検査精度の確保・改善に資する詳細な検討と研修を行う必要があると思われる。

### A．研究目的

地方衛生研究所（地研）は、各自治体における科学的・技術的中核機関として位置づけられている。よって、国民の健康危機管理にかかわる各法律に定める自治体の行政検査には高い精度が求められる。さらに、平成27年には、感染症法の改正に伴い、同法における感染症発生動向調査病原体検査においても検査結果の精度保証がなされた行政検査を行うことが義務付けられた。このような背景から、地研においては、精度保証の手法を取り入れた病原体検査を行うことが必要不可欠になっている。

近年、病原微生物の検出・同定検査には遺伝子学的手法が幅広く取り入れられている。その中でも、特にリアルタイム PCR 法とシークエンス・分子系統樹解析は、種々のウイルス遺伝子の精密な検出および定量や検出された遺伝子の詳細な遺伝学的特性を把握する上で重要な検査法と位置づけられている。実際、これらの方法は、ノロウ

イルス、インフルエンザウイルスおよび麻疹ウイルスなどの多くのウイルス感染症の検査診断法として、地研で多用されている。これらの検査診断における精度保証は、各機関における検査精度の確保・向上のみならず、地研全体での検査水準の確認および確保のためにも必要であることはいうまでもないことと思われる。しかし、我が国において、精度保証の手法を取り入れた病原体検査に関する研修は、ほとんど行われていないのが現状である。今回、このような背景から、精度保証の手法を取り入れたウイルス検査診断技術に関する研修を行った。

### B．研究方法

#### 1) 対象

国立保健医療科学院・国立感染症研究所共同主催・短期研修ウイルス研修受講者23名を本研究の対象とした。対象の地研在籍歴は、7か月～10年7か月であった（平均±標準偏差：3年2か月

±2年3か月)。23名中、都道府県から17名、政令指定都市から4名、中核市から2名参加しており、そのうち18名は、NoVの行政検査の経験を有していた。なお、各受講者に対し、本研究への参加ならびに研修で得られたデータを秘匿化して使用することに関し、口頭で同意を得ている。

#### 1) 研修事前試験

まず、研修3週間前に同一ロット由来の試薬および試料の調整および分注をおこない、凍結保存をした。さらに研修2週間前に実務経験5年7か月の衛生研究所常勤職員が、研修用テキストに従い、3日間連続で事前試験を実施した。なお、本試験は研修用に分注した試薬および研修で使用する機器を使用し、同一測定位置で試験を行った。また、本研修に用いる実習書の作成も新たに行った。

#### 2) 精度保証に関する知識および解析法の習得

本研究においては、検査診断実習に先立ち、法令に基づく、精度保証に関する必要かつ重要な知識の習得や検査データの統計学的解析に関する基礎知識に関する講義を行った(実質3時間)。また、この講義を基に、実習期間中、実習手技や知識に関する補足の講義を実習前あるいは実習終了後に連日行った。

#### 3) NoV リアルタイム PCR 法

公定法を基にした研修用テキストおよび同一分注試薬・試料および同一機器を用いて、研修生ごとに3重測定を行った。事前試験と同様に、同一機器の同一測定位置で、3日間連続測定した。連日、検量線を作成し、相関係数( $R^2$ )、変動係数(CV)、試料定量の精確度について評価を行った。

#### 4) NoV シークエンス・分子系統樹解析

リアルタイムPCRと同様に、同一分注試薬・試料、同一機器を用いて試験を行った。COG2FおよびG2-SKRをプライマーとして用い、常法によるPCR増幅をおこない、ダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列に、あらかじめ配布した参照株の塩基配列を加え、最尤法による系統樹作成を行った。解析した塩基配列および系統樹の精確度を評価した。

#### 5) 解析データの個別評価

得られたデータを以下の6項目、i)標準曲線の精確度(CV<5%、 $R^2$ >0.99、10copies/assay)(各1点合計3点)、ii)試料定量の精確度(CV<5%以下)(1点)、iii)陰性対照の精確度(1点)、iv)シークエンスPCRの精確度(1点)、v)シークエンスの精確度(1点)、vi)系統樹の精確度(1点)、合計8点として判定を行った。7点以上をA評価、5~6点をB評価、4~5点をC評価、4点未満をD評価とした。さらに、実習終了後には、個別面談を行い、技術的な助言および指導も行った。また、

本研修のレポート提出ならびにアンケート調査も行った。

## C . 研究結果

### 1) 事前試験結果

結果を図2に示す。被験者による事前試験において、3日ともNoVリアルタイムPCR法における標準曲線の相関係数( $R^2$ )は0.99以上であった。また、検量線の各コピー数におけるCVはすべて5%以下であった。試料定量値の日差変動も5%未満であり、研修に使用する検査試薬・機器には問題がないと判断した。

### 2) NoV リアルタイム PCR 法における標準曲線および試料解析結果

各受講者の検量線の結果を図3に示す。受講者23名のうち、初日に2名、2日目に1名に、標準物質や試料をプロトコルと異なったwellに添加したため、検量線を作成することができなかったため、データ解析から除外した。また、初日8名、2日目あるいは3日目に5名が作成した標準曲線において、 $R^2$ が0.99未満であった。図3に示すように、作成した標準曲線において、低濃度ほど研修者間のCt値のばらつきを認めていた。 $10^3$ コピー/well以上ではすべての研修生で蛍光シグナルを認めていたが、 $10^2$ コピー/wellでは2名の研修生が1wellで蛍光シグナルを認めなかった。さらに $10^1$ コピー/wellで、多くの研修生が蛍光シグナルを検出できなかった(図4)。なお、試料の定量に関してはすべての研修生でCV<5%であった。陰性対照において、実験室内コンタミネーションは、図5のように3日目に多くみられた。

### 3) NoV シークエンス・分子系統樹解析

全23名中、20名ではシークエンス解析による塩基配列に問題は認められなかった。3名中、2名ではプライマー配列のトリミングをしておらず、1名にリードミスがみられた。系統樹の作成は、すべての受講者で問題はみられなかった。

### 4) 解析データの個別評価

全23名中、A判定(7点以上)が3名、B判定(5~6点)が17名ならびにC判定(4~5点)が3名であった。提出された実習レポートを基に、全ての研修者に、個別面談を行い、本実習において、細部にわたる問題点の列挙と問題点の技術的解決に関する助言および指導を行った。さらに、各受講者の同意を得て、研修終了後、各施設にて、本研修と同じ手法でNoVリアルタイムPCR法の再実験・解析を行うとともにデータの還元により、研修後の成果を再評価することとした。

### 5) アンケート調査結果

多くの研修者から、研修前後における技術ならびに知識水準の向上とともに、本研修により、今まで行っていた手技を見直すことができたとい

う回答が得られた。

#### D．考察

本研究においては、精度保証の手法を取り入れたノロウイルス遺伝子検査法に関する研修を行った。その結果、本研修により、ほとんどの受講者において、NoV 検査法の精度保証に関する知識の理解や実験手技の水準が向上したと思われた。

本研究に適用したノロウイルス遺伝子解析法は、地研において、既に確立されている方法であり<sup>1)</sup>、ほとんどすべての地研において、行政検査のみならず、ノロウイルス感染症の分子疫学に関する調査研究にも用いられていると思われる。よって、適切な技術を基盤とし、かつ一定期間の経験を有する技術者であれば、今回の解析項目においては適切なデータが得られると思われる。本研修においては、NoV リアルタイム PCR 法における標準曲線作成および試料測定値において、おおむね良好な結果が得られた。また、シーケンス解析・系統樹作成に関してもほとんどの受講者の技術水準に問題がないこともわかった。

過去の研究によれば、本方法における基礎知識や技術に関し、検査現場で習得する機会が乏しいとの指摘がある<sup>2)</sup>。この原因として、地研における微生物検査において、予算・定員などの検査資源の削減が続き、職員の技術水準と検査精度の維持が困難となっていることが考えられる<sup>2)</sup>。したがって、今後もこのような状況が続けば、検査精度を十分に担保した行政検査が各自治体で行うことが困難になる可能性がある。今後、このような状態を改善するため、本研究で行ったような、地研における微生物検査の精度保証の手法を取り入れた研修を継続的に実施できるような体制整備が極めて重要であると思われる。

#### E．研究発表

なし

#### F．知的財産の出願・登録状況

なし

#### 参考文献

1. ノロウイルスの検出法について，食安監発第 1105001 号.
2. 地方衛生研究所における病原微生物検査の外部制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 平成 27 年度 総括・分担研究報告書

#### 謝辞

本研究にご協力いただいた各衛生研究所に感謝します。

	1	2	3
1	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>
3	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
4	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
5	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>
6	10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>
7	sample	sample	sample
8	NTC	NTC	NTC

標準物質

図 1. NoV リアルタイム PCR 反応系

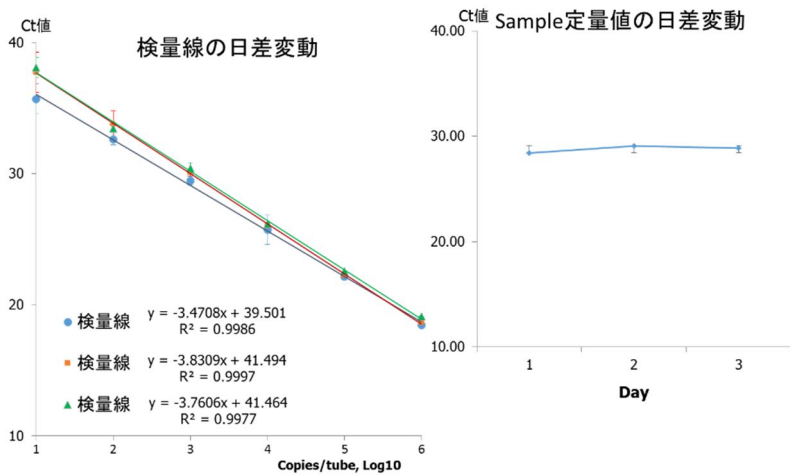


図 2. 事前試験結果

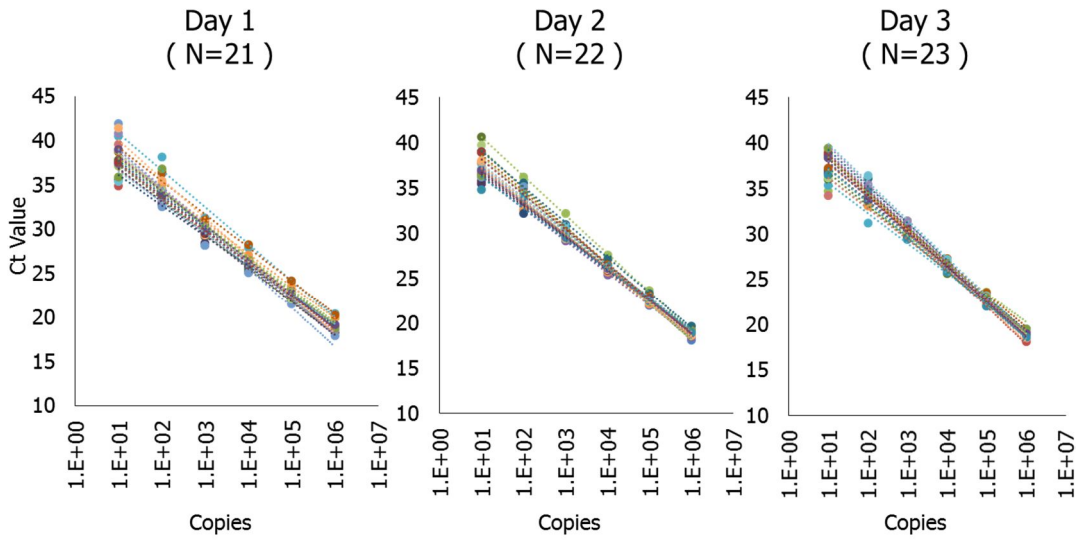


図 3. 本研修で得られた標準曲線

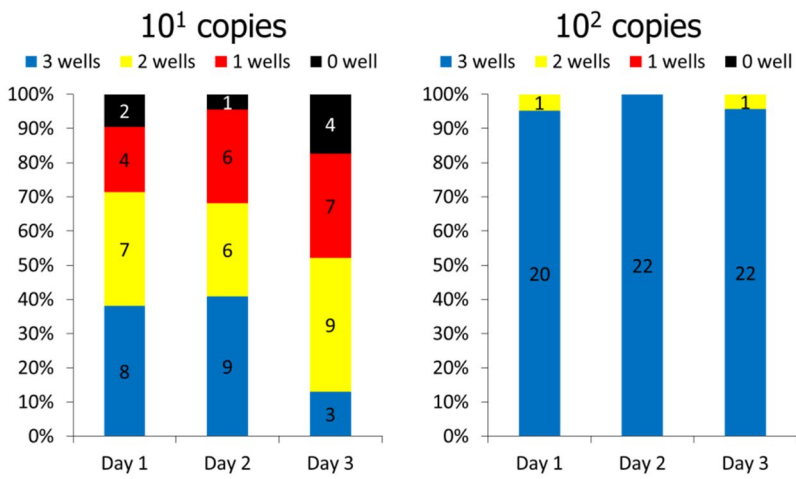


図 4. 低コピー数の標準コントロールで蛍光シグナルが検出された well 数

\*69 wells/day (23人×3wells)にNTCのCt値40未満検出

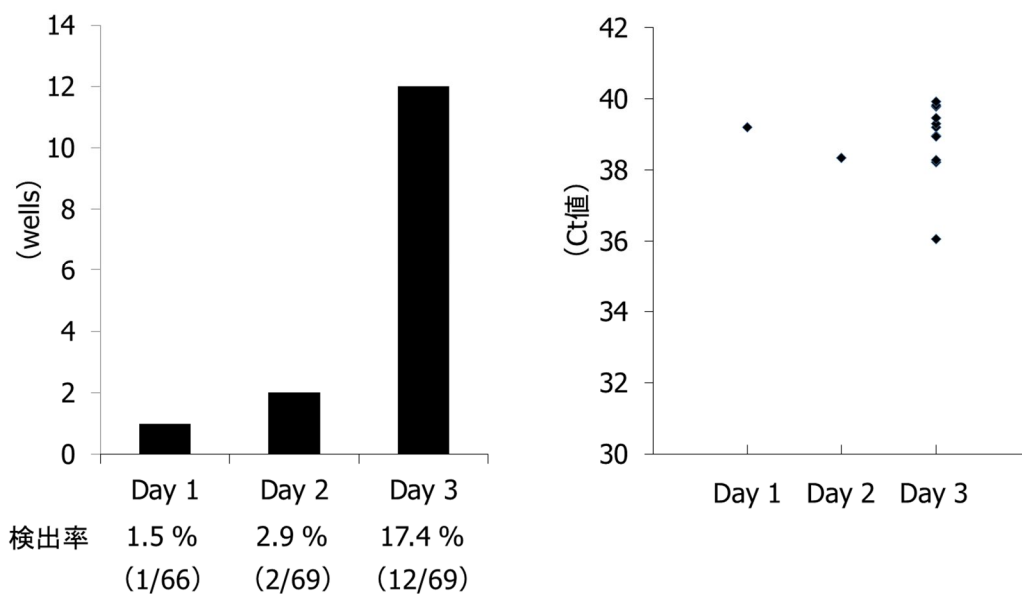


図 5. 実験室内コンタミネーションの頻度

## 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

研究分担者	吉田 弘	国立感染症研究所ウイルス第二部主任研究員
研究協力者	伊藤 雅、皆川 洋子	愛知県衛生研究所
	北川 和寛	福島県衛生研究所
	近藤眞規子	神奈川県衛生研究所
	高橋 雅輝	岩手県環境保健研究センター
	中田 恵子	大阪府立公衆衛生研究所
	濱崎 光宏	福岡県保健環境研究所
	峯岸 俊貴	埼玉県衛生研究所
	山下 育孝	愛媛県立衛生環境研究所
	山下 照夫	修文大学

### 研究要旨

手足口病検査を対象とした外部精度管理調査用試料調製の条件検討を行った。起因ウイルスであるエンテロウイルスを感度の高い CODEHOP-snpCR 法で同定する場合、同定結果の信頼性確保にはウイルス感染価と PCR によるウイルスゲノム検出下限値、遺伝子配列解析による同定可能なウイルスゲノム下限値を把握した上で、目的とする検出感度、正確性を設定し、試料調製を行う必要性が認められた。

本法による信頼性の評価は既知の標準 RNA を用いたエンドポイント測定により施設間の比較調査が可能であると考えられる。このため RNA を安定に保管する条件を検討した。自家調整 RNA 及び市販 RNA コントロールを RNA 保管用製品(RNAstable)を用い、安定化させる条件について一定の結果を得たが、施設内変動を減少させる条件をさらに検討する必要がある。

遺伝子検査による同定目的の定性試験には、比較的価格の安い FTA Elute カードに高力価ウイルス、高濃度 RNA を固定することで CODEHOP 法で検出可能な RNA が回収可能であり、外部精度管理調査を目的とした試料輸送に適用可能と考えられる。

### A. 研究目的

感染症発生動向調査事業における5類定点把握疾患のうち主に小児科定点で報告される手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎患者に対する病原体検査では多様な血清型のエンテロウイルスが検出されることが知られている。このうち手足口病は主にエンテロウイルス 71 (EV71)、コクサッキーウイルス A16 (CA16)、CA6 が検出され、特に EV71 感染はまれに重篤な臨床症状を引き起こす場合も知られており、近年では CA6 感染による爪甲脱落症を伴うケースも報告されている。なお一部をのぞき、エンテロウイルス感染症には有効なワクチン、抗ウイルス薬は存在しない。

感染症法上、手足口病は臨床診断による届出を基本とし、病原体検査の必要性は明示されていないものの、上記の理由で起因ウイルスの流行状況を明らかにすることは公衆衛生上意義がある。

従来エンテロウイルス検査は感受性のある培養細胞を用いたウイルス分離と型特異的な抗血清による中和試験で検査が実施されてきた。しかしウイルス分離、抗血清による同定試験は、コス

トは比較的安いものの、技術習得に時間を要し、かつ検査結果を得るのに数週間必要なことから、近年では従来法を併用しつつ、遺伝子検査による病原体検索が普及している。

遺伝子検査によるエンテロウイルスの血清型分類は主要な抗原決定部位を含む VP1 領域の塩基配列を調べ、標準株(参照株)との比較により 75% 以上一致するものを、当該血清型とすることと定義されている。

しかしエンテロウイルスの血清型は 100 種類以上が知られ、各血清型内の VP1 領域も遺伝的に多型なことから、これまで多くの種類のプライマーが提唱され、各検査室で適宜組み合わせられてきた。

USCDC の Nix らは咽頭拭い液など微量に含まれるエンテロウイルスゲノムの VP1 領域を高感度、かつ広範囲な血清型も検出できる CODEHOP (consensus-degenerate hybrid oligonucleotide primer)-snpCR 法(以下 CODEHOP 法)を開発した。

日本国内の小児科定点より提出される検体は咽頭拭い液が多く、エンテロウイルスの多様な血

清型を検出する必要がある。そのため地方衛生研究所でも本法を導入している検査室は他の方法の併用を含め 38 箇所であった<sup>1)</sup>。

H28 年 4 月に施行された改正感染症法では 5 類定点把握疾患の病原体検査についても一定の信頼性を担保することが求められている。しかし検査方法は、各地方衛生研究所間で異なるため、検査の質を統一した基準で評価することは困難である。

本研究では、検査体制が異なる現状を踏まえ、エンテロウイルス検査の質の評価手法について、比較的国内外で普及している CODEHOP 法を対象とした外部精度管理調査の導入方法を検討する。

具体的には CODEHOP 法で外部精度管理調査に用いる送付試料の調製条件と評価方法、手足口病検査の信頼性の基準、について検討をしたうえで、試行的に検体送付を行い、外部精度管理調査の実施可能性、そして CODEHOP 法以外の遺伝子検査法への応用可能性について研究を行うものとする。

## B . 研究方法

### 1. ウイルス RNA

1) ウイルス: RD-A 細胞に EV71 BrCr 株を接種し CPE が +4 になった時点で回収した。凍結融解 (1 回) 後、3000rpm で遠心し、上清を回収した。1ml に分注し、-30 度保管した。巻き込み法 (細胞数は  $1.0 \times 10^{-5}/\text{ml}$ ) によるマイクロタイター法で力価を測定した。

2) RNA 抽出: 力価を測定した EV71 BrCr 株を用いて QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini Kit にてウイルス RNA を精製した。

3) 商用 RNA: 市販の RNA コントロールの評価のために VirceII 社の EV71 BrCr 株陽性コントロール RNA を用いた。添付マニュアルに従い 19800GC/uI (50uI) を調製した。

### 2. ウイルス RNA の検出法

1) CODEHOP-snpPCR: Nix 等の方法<sup>2)</sup>に基づいた。なお反応系は 1/2 容量 (25uI) とし、RNA は 2.5uI 用いている。電気泳動は 2% アガロースゲルで行い、5uI アプライし、増幅産物をバンドの濃さで +1 から +4 を目視で判定した。なお本法はウイルスゲノムの VP1 から VP3 領域の約 1000bp について逆転写反応を行い、1stPCR で約 760bp、2ndPCR で約 370bp を増幅する検出系である。

2) ウイルスゲノムコピー (以下 GC) 量の測定: ウイルス保管、回収条件を定量的に評価するために、Nijhuis らの方法を若干変更<sup>3)</sup>し、one step RT-qPCR にて 5' 非翻訳領域 155bp の増幅を行った。コントロールプラスミドには人工遺伝子合成サービスを利用した。容量は 25uI とし、RNA は

3uI 使用。反応試薬は Quantitech Multiplex RT-PCR (QIAGEN) を用いた。反応系は 2 穴ずつ用いた。

### 3. ウイルス RNA の保管条件

FTA Elute (Whatman)、RNAstable (Biomatrix) の 2 種類を用いて、異なる濃度の RNA/ウイルスを固定、そして保管温度 (室温、4 度、-30 度) を変え保管した。一定の期間の後、回収したのち、CODEHOP-snpPCR で増幅の確認、そして RT-qPCR で GC 量の変動を測定した (図 1)。

#### 1) FTA Elute カードを用いたウイルス、ウイルス RNA 回収試験

FTA Elute カード (サークル径 11mm) に 40uI の希釈したウイルス、ウイルス RNA をしみこませ、3 時間風乾後、専用パウチに入れ保管した。

RNA 回収には 4mm パンチを用いて、2 枚打ち抜き、先行研究で用いた方法で RNA を回収した<sup>4)</sup>。

#### 2) RNAstable を用いたウイルス RNA 回収試験

自家調整ウイルス RNA、あるいは市販 RNA コントロール 10uI を RNAstable にアプライし、一晚キャビネット内で乾燥後、温度、濃度を変え保管した。RNA をリカバーした後 CODEHOP-snpPCR で増幅の確認、RT-qPCR で GC 量を測定した。

### 4. 倫理面の配慮

個人情報には取り扱わない。

## C . 研究結果

### 1. ウイルス力価と CODEHOP-snpPCR による検出と GC 量の関係

CODEHOP 法による手足口病検査の信頼性評価を目的とした外部精度管理調査用試料は、ウイルス、ウイルス RNA、市販のウイルス RNA コントロールを用いることが想定される。病原体サーベイランスにおける検査の質管理の基準を検討するために、ウイルス感染価と CODEHOP 法による検出可能なウイルス GC 量の関係を調べた。

用いた EV71 (BrCr 株) の力価は RD-A 細胞を用いた場合、マイクロタイター法で  $10^{6.5} \text{CCID}_{50}/50\text{uI}$  であった。ウイルスから RNA を精製後、 $10^{-1}$  から  $10^{-8}$  までの 10 倍希釈列を作製し、2.5uI の RNA を用いて CODEHOP-snpPCR による検出、3uI の RNA を用いて RT-qPCR による GC 量を測定した (図 1)。同様に市販の RNA ( $2.0 \times 10^4 \text{GC}/\text{uI}$ ) を希釈し CODEHOP 法で検出し、ウイルス力価と GC 量の関係を比較した。(図 2)

その結果自家調製 vRNA を  $10^{-8}$  まで希釈したとき ( $10^{-1.5} \text{CCID}_{50}/50\text{uI} = 0.03 \text{CCID}_{50}/50\text{uI}$  相当)、CODEHOP 法では検出可能であったが、RT-qPCR では RNA を  $10^{-7}$  希釈 ( $10^{-0.5} \text{CCID}_{50}/50\text{uI} = 0.3 \text{CCID}_{50}/50\text{uI}$  相当) したときでも数コピー検出できた。したがっていずれかの方法で検出すれば理論上、 $1 \text{CCID}_{50}/50\text{uI}$  以下の感染価の時でも、ウイ



ルスゲノムが検出できることになる。

他方市販 RNA コントロールは CODEHOP 法により 70 コピーまで検出可能であったが、RT-qPCR では数コピー/uI まで検出可能であった。

自家調整 RNA、市販 RNA とも、RT-qPCR では数コピーが検出可能だが、CODEHOP 法では検出可能は GC 量が異なる、つまり CODEHOP 法で増幅する領域（約 1000bp）は RT-qPCR の領域（155bp）より長い、つまり増幅可能なフラグメントの含有量は異なっていると考えられた。この現象が RNA 調製時のロット間の差と考えれば、外部精度管理調査用に用いる RNA 調製には CODEHOP 法による検出下限値と対応する GC 量を事前に測定しておく必要があると考えられる。

更に、1 CCID<sub>50</sub> 以下、つまり数～数十コピー数の GC 量は遺伝子検査において検出できても、シーケンス反応による遺伝子配列による同定には困難なことが多い。そのため、精度管理用試料調整時には、CODEHOP 法による検出限界 GC 量と感染価を把握したうえで、目的に応じ適切な量を調製する必要があると考えられる（図 2）。

## 2. FTA Elute カードを用いたウイルス、ウイルス RNA 回収試験

外部精度管理調査用試料送付に FTA Elute カードの適応可能性を検討した。FTA Elute カードにウイルスを固定すると、抽出作業なしに RNA が抽出できることを先行研究（参考文献 4）にて示している。今般精製したウイルス RNA を固定した場合についても比較検討を行った。

施設内変動を観察するため-1 と-2 に希釈したウイルス、ウイルス RNA を各々 40uI を FTA Elute カードに固定し、1 日後（4 度保管）4 名の術者で回収を行った結果を図 3 に示す。

10<sup>-1</sup> 希釈（10<sup>5.5</sup>CCID<sub>50</sub>/50uI）、10<sup>-2</sup> 希釈のウイルスは抽出後何れも比較的安定して検出でき先行研究と同様の数%の回収率であった。次にウイルス RNA の場合、10<sup>-1</sup> 希釈で 4 名とも同様の数%の回収率であったが、10<sup>-2</sup> 希釈では大きなばらつきが見られた（図 2）。

先行研究で FTA Elute カードはウイルス力価が高いときは回収率に変動が少なく、低いと大きくなる傾向を示している。このように FTA Elute カードは、回収率は約 1/100 程度であり、ウイルス力価が高い場合は比較的安定、今般検討したウイルス RNA 単独の場合でも量が多ければ比較的安定に回収可能であった。

## 3. RNastable を用いたウイルス RNA、商用 RNA コントロールの回収試験

CODEHOP 法は高感度にウイルスゲノム検出可能な方法である。本法を導入する検査室間の信頼性評価する方法のひとつは、同じ濃度の標準 RNA を配布し、各検査室でエンドポイントを測定するこ

とで検出感度の比較が考えられる。この目的には RNA を安定化する必要がある。前述の FTA Elute カードは回収率が低いため、エンドポイント測定目的の RNA 試料送付には向かない。

非感染性で、かつ GC 量が品質管理された多くの種類の商用の PCR 陽性コントロール用 RNA/DNA が入手できる。しかし市販品は高価なため、これを適宜希釈し、回収率が高い方法で保管できれば、EQA への応用は広がるものと考えられる。今般、さらに RNA を安定的に保存する製品、RNastable を用いて保管し、自家調整 RNA を用いて保存した場合を比較した。

1)市販 RNA の RNastable を用いた際の保管温度と回収率

VirceIRNA（100 倍希釈液）10uI を RNastable チューブへアプライし乾燥させた。室温、4 度、-30 度にて 5 日保管後、10uI の DW にて回収し CODEHOP 法、RT-qPCR にて検出した。その結果 CODEHOP 法では 5 日後-30 度保管のみ RNA が検出できた。なお GC 回収率は RNastable 使用前の 1/3 程度に減少していた。また室温、4 度、-30 度とも回収できた GC 量はほぼ同じであり、温度環境が CODEHOP で増幅可能な RNA の安定性に影響したと考えられた（図 4）。このため、155bp を増幅する RT-qPCR の場合は、室温保管でも問題ないと考えられたが、より長い配列を増幅する CODEHOP 用 RNA を RNastable で調製するならば、RNA を安定かつ検出可能な量に再調整して検討する必要があり、今後追試予定である。

2)RNastable で保管した市販 RNA のエンドポイント測定

VirceIRNA（10 倍希釈液：）を-30 度にて 5 日保管後回収し、希釈し CODEHOP 法にて検出したところ、CODEHOP 法で 200 倍希釈（70GC/uI 相当）まで検出可能であった。

以上により RNastable が FTA Elute カードに比べ回収率が安定であることから、高濃度、短期間、冷凍条件なら RNA を安定に保管できることを示し、CODEHOP 法の施設間の検出感度比較調査のために応用可能であることを示す。

3)施設内変動

つぎに施設内変動を調べるため VirceIRNA（10 倍希釈液）を 3 名の術者によりエンドポイントを測定したところ、1 名のみ再現可能であり、RNastable からの回収方法を改善する必要性が認められた。

4)RNastable による自家調整 RNA の保管温度と回収率

高濃度 RNA の安定性を調べるため自家調整ウイルス RNA を用いた実験を行った。ウイルス RNA 10uI を 10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup> に希釈し、室温、4 度、-30 度で保管し、TE（pH8.0）20uI で回収し CODEHOP

法、RT-qPCRにて検出した。

いずれの希釈倍率、温度環境ともウイルス RNA は安定的に検出された。このことは比較的高濃度な RNA の場合、RNAstable で安定して保管できることを示す(図5)。

#### D. 考察

ウイルスゲノムを数コピーまで検出可能な CODEHOP 法を用いた手足口病検査のための外部精度管理調査に用いる RNA の調製条件を検討した。送付用試料はウイルス、ウイルス RNA、商用 RNA コントロールを想定し、送付方法、濃度、温度環境の諸条件を検討した。CODEHOP 法は定性的にウイルスゲノムを検出する方法である。保管条件検討時に RT-qPCR により、GC 量の変化をモニターしつつ、検討を行うこととした。

最初にウイルス感染価と RNA 検出系を検討したところ、1 CCID<sub>50</sub> 以下、すなわち数コピーでも CODEHOP 法、RT-qPCR 法でも検出可能であった。

次に市販 RNA を用いた CODEHOP 法による検出下限値を調べたところ、市販品には自家調製 RNA と同等の数コピーまで検出できたが、CODEHOP 法では 100GC/uI 程度が検出下限値(感染価にして 1 CCID<sub>50</sub> 程度)であり検出範囲の乖離が見られた。これは、RNA 調製時の変動によるものと示唆される。

従って精度管理試験品の再現性、安定性、均一性を担保しておく必要性を示唆する。

他方、病原体サーベイランスでは、血清型の報告を行うにあたり、ダイレクトシーケンスによる塩基配列検索により同定を行う。この場合 CODEHOP 法で増幅したバンドが薄い場合、シーケンサ反応が失敗することが知られており、数十コピー以下の検出下限値を精度管理の対象とするのは現実的ではなく、シーケンス反応が可能な RNA 量、加えて 1CCID<sub>50</sub> 以上の感染価相当の RNA 量を設定した上で、CODEHOP 法によりウイルスゲノムを検出できるかどうか(検出感度)、適切に同定できるか(同定の正確性)、について検討すべきである。

なお塩基配列解析により同定可能な GC 量以下の場合、エンテロウイルス同定不能と報告されるが、疫学的な背景など総合的な評価によりポリオを否定することが感染症法上は重要である。

外部精度管理調査用 RNA 試料配布のため、施設内変動を把握するため FTA Elute カード、RNAstable、の 2 種類を用いて RNA の安定性につき温度、濃度など保管条件を検討した。

FTA Elute カードは先行研究で示したように、高濃度でさえ変動が見られ数%の回収率であるが、ウイルス RNA の場合も同様に数%の回収率であり高濃度なら、RNA 試料輸送用に適用可能と考

えられる。これに対し、RNAstable の回収率は 1/3 以上であることが分かり、qPCR 用の 100bp 程度の短いフラグメントならば室温でも数日安定であったが、CODEHOP 法用には-30 度保管のほうが適切と考えられた。

また RNAstable を用いた市販 RNA の保管条件について、複数の術者により回収を行い、施設内誤差を検討したが、変動が大きく見られ、これは低い濃度による不安定さが要因と考えられる。今後適切な濃度条件を再検討することとする。FTA Elute、RNAstable の操作性、回収率などは図に取りまとめた(図6)。

自家調整 RNA、市販品 RNA の保管条件について数日の輸送期間なら、少なくとも-30 度なら安定な条件が得られたが、施設内変動はさらなる検討(術者による変動と保管期間)が必要である。

CODEHOP 法以外の遺伝子解析による同定法も国内で用いられており、今後 VP1 領域による解析法、VP4 領域の解析法などについて、検出感度と、同定可能な GC 量と感染価の関係を明らかにしたい。

#### E. 結論

1. エンテロウイルス RNA 検出を目的とする外部精度管理調査用試料調製時の条件を検討した。ウイルス感染価と PCR によるウイルスゲノム検出下限値、遺伝子配列解析による同定可能なウイルスゲノム下限値を比較した上で、施設間の比較目的とする検出感度、正確性を設定し RNA 試料調製を行う必要性がある。

2. エンテロウイルス検査用に用いられている CODEHOP 法は感度が高い手法であり、本法による検査の信頼性は既知の標準 RNA を用いたエンドポイント測定により施設間の比較調査は可能であると考えられた。様々な疾患の遺伝子検査に応用可能な市販の RNA コントロールを RNAstable を用いて安定化させる条件について一定の結果を得たが、施設内変動を減少させる条件をさらに検討する必要がある。

3. 高い力価のウイルス、高濃度の RNA を用いた回収試験なら、比較的価格の安い FTA Elute カードを用いた CODEHOP 法で十分検出可能であり、試料輸送に適用可能と考えられる。

#### F. 健康危険情報

総括研究報告書に記載

#### G. 研究発表

1) 論文発表

1. 板持雅恵, 滝澤剛則, 伊東愛梨, 三浦美穂, 伊藤雅, 小澤広規, 北川和寛, 葛口剛, 後藤明子, 島あかり, 下野尚悦, 高橋雅輝, 筒井理華, 中田恵子, 中野守, 西澤佳奈子, 濱崎光

- 宏, 吉富秀亮, 堀田千恵美, 松岡保博, 三好龍也, 吉田弘: 平成27年度ポリオ環境水サーベイランス(感染症流行予測調査事業および調査研究)にて検出されたエンテロウイルスについて 病原体検出情報 37(10):208-209,2016.
- 2.Tao Z., Wang Z., Lin Z., Wang S., Wang H., Yoshida H., Xu A., Song Y. One-year Survey of human enteroviruses from sewage and the factors affecting virus adsorption to the suspended solids. Sci. Rep. 6, 31474,2016.
- 3.濱崎光宏, 吉田弘:エンテロウイルスのウイルス学的検査診断 小児科 57, 949-956, 2016.

## 2) 学会発表

- 1.吉田弘:環境水ウイルスサーベイランスとは。第 57 回日本臨床ウイルス学会ランチョンセミナー(2016.6.19 郡山市)
- 2.吉田弘:感染症法改正にかかわる病原体サーベイランスと信頼性確保について。平成 28 年度地域保健総合推進事業 地全協九州支部地域専門家会議(2016.10.20-21 佐賀市)

## H . 知的所有権の出願・登録状況

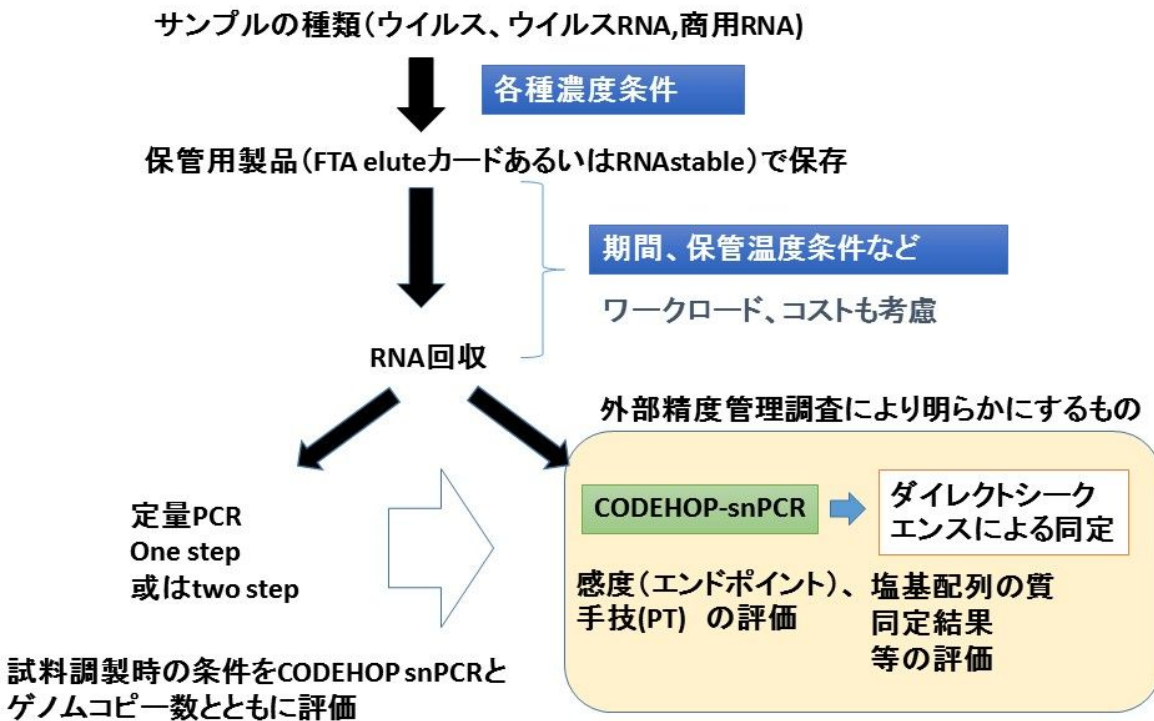
1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 参考文献

1. H25年度厚生労働科学研究「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」(宮崎班)分担報告書
2. Nix.WA. et.al: J Clin Microbiol 44(8): 2698-6704 .2006.
3. Nijhuis.M. et.al: J Clin Microbiol 40: 3666-3670 .2002.
4. Li,Y., et.al.:J Virol Methods 186:62-67,2012.

図1

配布試料の調製条件



CODEHOP snPCR検出とシーケンス可能なコピー数の関係

図2

ウイルスカ価と検出系について

ウイルス希釈	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	
Virus titer (-logCCID50 /50ul)	6.5	(5.5)相当	(4.5)	(3.5)	(2.5)	(1.5)	(0.5)	(-0.5)	(-1.5)
vRNA (GC/ul)	ND	ND	6.8E+05	6.4E+04	5.6E+03	6.4E+02	6.0E+01	6.8E+00	不検出
CODEHOP-snPCR	ND	ND	++++	++++	++++	++++	+++	++	+
Vircell RNA希釈液(理論値2.0E+04)					10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>		10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
CODEHOP-snPCR					ND	1.4E+02 (7.0E+01)	(3.5E+01)	4.4E+00 (1.5E+00)	1.5E+00
					++++	+++	+++	+/-	-

シーケンス反応の下限10<sup>2</sup>~10<sup>3</sup> GC/ul

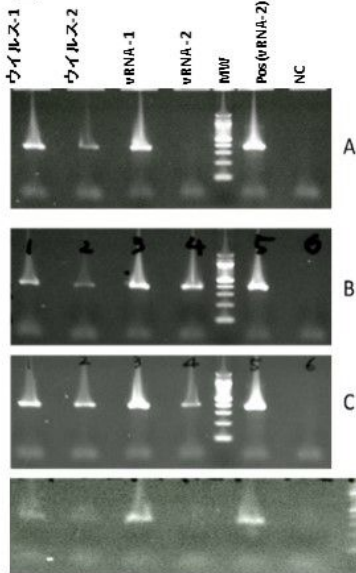
CODEHOP-snPCRの検出限界

CODEHOPなら数千以上のGCが検出できることを目安としてはどうか

ウイルスゲノムは検出できてもシーケンスは不可→遺伝子による同定は不可(エンテロNTとして報告)

エンテロNTは感染価を含めポリオ否定が重要(個票を含め総合的な判断が必要)

図3



FTAelute 回収結果(4人で実施)

FTAeluteカードから回収したRNAのCODEHOP PCRの結果 (固定1日後、4度保管の条件)

	Virus (6.5CCID50)		vRNA		Pos vRNA	NC
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-2</sup>	
A	++++	++	++++	-	++++	-
B	++++	++	++++	++++	++++	-
C	++++	++++	++++	++	++++	-
D	++++	++	++++	-	++++	-

ウイルスの方が比較的安定。-2のvRNAを回収時、不安定

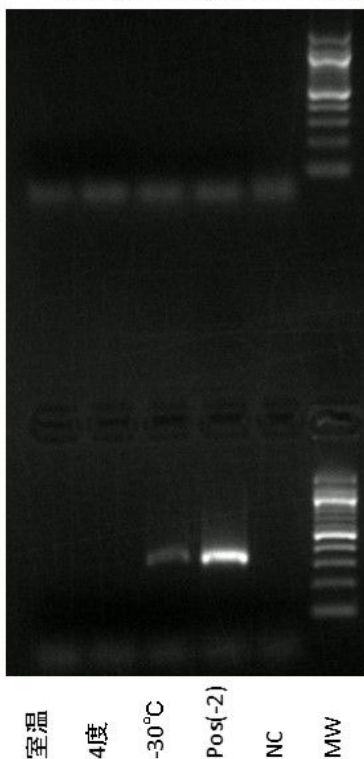
回収したウイルス、ウイルスゲノムのコピー数(GC/ul)

コントロール のGC/ul	Virus		vRNA			
			Recovery (%)		Recovery (%)	
	-1	-2	-1	-2	-2	
	1.3E+04	6.7E+02	4.0E+02	0.0	undetect	NA
	8.7E+03	7.7E+02	6.3E+04	2.7	6.3E+03	3.5
	7.0E+03	1.1E+03	4.0E+04	1.7	1.1E+03	0.6
	8.7E+03	9.3E+02	1.2E+05	5.3	undetect	NA

\*CODEHOPによる検出では強いバンド

図4

RNA stableを用いたRNA安定性の確認



Vircell RNA(10<sup>-2</sup>) 乾燥固定。CODEHOP snPCRと RT-qPCRはone step

1st

	室温	4°C	-30°C	Pos(-2) 0day
GC/3ul	2.0E+2	1.9E+1	1.9E+2	6.6E+2(CT=32.2)
CODEHOP (2.5ul)	-	-	+	++++

2nd

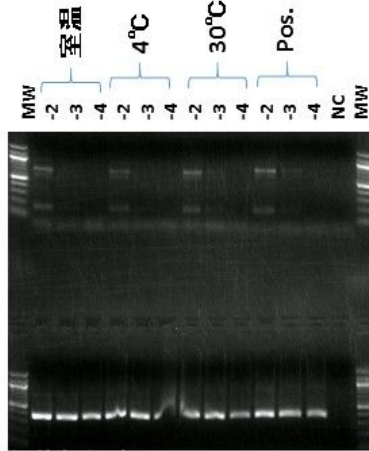
-30°CだとCODEHOPで検出可能。しかし弱い  
他方、5日後保管温度と関係なくGC量はほぼ同じ  
RNAstable使用により、GC量は約1/3に減少

FTA eluteの回収率は数%なので、RNA量を検討すれば  
PT用試料/標準品送付(濃くすれば)に凍結状態なら使  
える可能性あり

5日経過

12日後は不検出 (data not shown)

図5 RNAstable使用



RNAstableを用いたウイルスRNA回収試験

1st ウイルスRNAを-2から-4まで10倍希釈  
RNAstableに10ulアプライ  
4°C、overnightで乾燥  
翌日、室温、4°C、-30°Cにて保管  
6日後 20ul TE(8.0)にてリカバー

2nd

希釈したウイルスRNAと保管温度の関係(GC/ul)

Virus dilution(x10)	control			RNA stable (6days)		
	vRNA	Ct	1/2vRNA	RT	4°C	-30°C
-2	3.0E+05	21.0	1.5E+05	1.4E+05	1.5E+05	1.3E+05
-3	1.6E+04	25.3	0.8E+04	1.4E+04	1.5E+04	1.3E+04
-4	2.8E+03	27.7	1.4E+03	1.3E+03	1.4E+03	1.4E+03

10ulアプライし、20ulでリカバーするといずれの温度環境下でも6日後は、非常に安定していた(CODEHOPの結果、コピー数とも)

GC量が $10^3$ 以上なら安定する模様

図6

検体保管・輸送に用いる各種製品の評価のサマリー

	RNA固定	RNA回収	回収率	価格	温度安定性
FTA elute card (40ul)	容易 3hrs	容易 (数十分)	ばらつく (高濃度にするこ と)	450円(40ulx4サーク ル:1サークル)	数日なら室温OK
FTA カード (125ul)	容易 1hrs	抽出キット 要。煩雑	Not done	555円/枚(125ulx1 サークル)	Not done
RNAstable (10-20ul)	容易 Over night	容易(15 分)	安定	1560円(チューブ)	vRNAで室温で1週 間安定を確認。 市販RNAは追加調 査をさらに実施予 定

### 3. 赤痢菌検査の外部精度管理調査に関する事前準備調査

研究分担者	村上 光一	国立感染症研究所感染症疫学センター室長
	大石 和徳	国立感染症研究所感染症疫学センター室長
	滝澤 剛則	富山県衛生研究所長
	四宮 博人	愛媛県立衛生環境研究所長
研究協力者	泉谷 秀昌、緒方喜久代、大西 真	国立感染症研究所
	勢戸 和子	大阪府立公衆衛生研究所
	磯部 順子	富山県衛生研究所
	世良 暢之	福岡県保健環境研究所
	平井 昭彦、河村 真保、小西 典子、貞升 健志	東京都健康安全研究センター
	青木美耶子、鈴木 匡弘、松本 昌門	愛知県衛生研究所

#### 研究要旨

地方衛生研究所（地衛研）で実施する細菌検査の信頼性確保のため、外部精度管理を実施することは重要である。今回、「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、平成 29 年度に実施することを決定した。そこで本年度は、外部精度管理実施に先立ち、必要な手順や問題点を予め検証することを目的に研究を進めた。実際には保存により抗原性が変化しやすい赤痢菌に対して、抗原性を維持するための継代培養法を検討し、適切な培養方法を確立した。その成果をもとに、平成 29 年度配布する菌株を選択するため、候補菌株を実際にワーキンググループ内の機関に輸送し、到着後の抗原性の変異や生化学性状の妥当性を検査した。その結果をもとに、平成 29 年度に地衛研に配布する菌株の候補を選択した。これにより、平成 29 年度の精度管理実施の基盤となる部分の準備が完了した。今回、「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の実施には、送付菌株の適切な継代等、細菌学的な準備が必要であることが明らかとなった。

#### A．研究目的

外部精度管理は、信頼性の確保ばかりでなく、地方衛生研究所（地衛研）における検査業務をより一層充実させることとなる。このため、来年度（平成 29 年度）多くの地衛研を対象とした外部精度管理を実施するにあたって、必要な手順や問題点を予め検証することを本年度の研究目的とした。

#### B．研究方法

##### 1. 実施項目の選定

昨年度（H27 年度）実施された先行研究（佐多班）の検討結果を参考として<sup>1)</sup>、赤痢等の三類感染症検査に該当する菌種から、研究班内の意見を集約し、細菌小班にて来年度実施対象菌種を選定することとした。

##### 2. ワーキンググループ

細菌小班の下に、複数の地衛研及び国立感染症研究所（感染研）からなるワーキンググループ（WG）

を組織し、検討を行うこととした。

##### 3. 対象地方衛生研究所の選定

佐多班報告書<sup>1)</sup>を参考にしつつ、細菌 WG 内で素案を提起し、細菌小班、ついで全体会議で、選定方法の了承を受けることとした。

##### 4. 配付候補菌株の選定とその評価

佐多班報告書の記載内容<sup>1)</sup>を尊重し、もっとも典型的な菌株を対象として調査することとした。菌種決定後は、来年度配布菌株を決定するため、実際に候補菌株を感染研より細菌 WG に郵送し、抗原性、生化学性状、遺伝的性状等の評価を行った。

##### 5. 平成 29 年の細菌 WG 内での役割分担計画

調査を平成 29 年度前半で行う計画であるため（後述）役割ごとに主たる担当機関を定め、効率よい運営を図ることとした。

##### 6 温度管理のための口ガーの使用・不使用の検討

佐多班報告中、試料郵送中の温度が試料に影響を与える可能性が言及され<sup>1)</sup>、更なる検討を行うか否か、検討をすることとした。

(倫理面への配慮)

本研究で使用した赤痢菌については、すでに患者情報が連結不可能匿名化されており、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針の対象とされない。

## C. 研究結果

### 1. 実施項目の選定

佐多班報告書にあるように、細菌性赤痢は三類感染症で、検査結果の社会的影響は大きく、検査精度が求められる。その上、赤痢菌は検査診断(同定)が容易でなく<sup>2-5)</sup>、地衛研への確認依頼が多い<sup>2)</sup>こと等から、来年度の検査対象菌株を「三類感染症検査に係る『赤痢菌』の同定」とした。菌種を明らかにしない3菌株を送付し、各菌株が赤痢菌であるか否か、赤痢菌である場合、菌種は何かを回答することを設問として想定した。如上の計画の下、来年度、多数の地衛研を対象に赤痢菌の精度管理を実施するための予備検討を本年度の実施項目とした。

### 2. 参加施設

希望施設を募り、全国の地方衛生研究所を包括的に評価するため、地域および赤痢菌取り扱い経験の有無等を勘案し、偏りなく対象施設を選ぶこととした。選定条件を表1に示す。

### 3. ワーキンググループ

4機関の地衛研(東京都健康安全研究センター、富山県衛生研究所、大阪府立公衆衛生研究所、愛知県衛生研究所)と感染研の研究協力者等からなる細菌WGを組織し、配付菌株の選定、実施計画の立案等を行うこととした。本年度の事前検討のための送付試料の準備及び発送は、感染研・感染症疫学センターが担当することとした。検討結果の評価は、細菌WGの中で行い、細菌小班の総評を受けることとした。

### 4. 配付候補菌株の選定

佐多班報告書の記載「もっとも典型的な赤痢菌を対象として調査するのが望ましい」に従い、配付する試験菌株(以下、配布菌株)は、典型的な性状を示す赤痢菌株(2株、内訳は *Shigella flexneri* 及び *Shigella sonnei* 各1株)及び赤痢菌と性状が類似した大腸菌株(1株)とすることとした。配布菌株選別にあたり、赤痢菌株に関しては、同一菌種から複数の菌株を候補として試験し(一次候補菌株)その中から赤痢菌4株(*S. flexneri* 及び *S. sonnei* 各2株)を選び(二次候補菌株)さらに来年度の菌株配布時に、二次候補菌株の中から最も状態のよい赤痢菌2株(*S. flexneri* 及び *S. sonnei* 各1株)並びに赤痢菌に性状が類似した大腸菌株を送付株とすることとした。

一次候補菌株は、感染研・感染症疫学センターで選択し、二次候補菌株は、細菌WGで行う試験

の結果で評価・選択することとした。

菌株選定のための確認項目として、*Salmonella-Shigella* 寒天培地上での発育、血清型決定にともなう抗原の状態、*invE* 及び *ipaH* の保有に加え、非運動性、乳糖及び白糖からの酸の非産生、リジン脱炭酸試験陰性の項目を挙げた。これらの性状が明瞭であること、特にR集落形成が顕著でないことを重視した。このような条件に鑑み、*S. sonnei* 3菌株及び *S. flexneri* 3菌株を一次候補菌株として選定した。

### 5. 一次候補菌株の評価と二次候補菌株の選定

表2-1に示すT9(*S. flexneri*)、16-52(*S. flexneri*)、C(*S. flexneri*)、T12(*S. sonnei*)、A(*S. sonnei*)及びB(*S. sonnei*)菌株を一次候補菌株とした。大腸菌はT10(大腸菌)を選択した。これら菌株を、先ず抗血清への凝集に関して検討したところ、表2-1に示すようにT9、A、B及びC菌株に非特異凝集が認められた。特に、A菌株では、抗血清D1への凝集が全くみとめられなかったため、この時点でA菌株を候補から除外した。ついで、表2-1に示す問題(非特異凝集)があった菌株(但しA株を除く)を、pH7.8のリン酸緩衝液で作成したNutrient Broth No.2(Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)(含:0.8%の胆汁酸塩)(以下、pH7.8胆汁酸塩ブイオン)にて継代培養した。なお胆汁酸塩は、Bile salts No.3(Thermo Fisher Scientific)を用いた。その結果、抗原性について非特異凝集に改善が認められた(表2-2)。以上の結果から、T9(*S. flexneri*)、16-52(*S. flexneri*)、B(*S. sonnei*)及びT12(*S. sonnei*)を二次候補菌株とした。なお、これらの菌株の生化学性状等を検討した結果、特に問題は認められず、いずれも典型的赤痢菌の性状を示した。

### 6. 細菌WGによる二次候補菌株の評価

二次候補菌株及びT10(大腸菌)を細菌WGに送付し、実際に同定作業を行い問題点等を検討した。配布する菌株を準備するにあたり、下記の操作を行った。-80にて保管している菌株をNutrient Broth No.2にて培養し(約16時間、35)、これをpH7.8胆汁酸塩ブイオンにて培養(4時間、35)、培地最表面から一白金耳の菌液を採取し、pH7.8胆汁酸塩ブイオンに接種し、培養(一晚、35)、翌日、当該培地最表面から一白金耳の菌液を採取し、pH7.8胆汁酸塩ブイオンに接種し、培養(4時間、35)、培地最表面から一白金耳の菌液を採取し、pH7.8胆汁酸塩ブイオンに接種・培養(一晚、35)、これを遠心分離し、菌体をマイクロバンク(Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Ontario, Canada)にて、-80で保存した。ただしT-10に関しては胆汁酸塩を含まないpH7.8のリン酸緩衝液で作



成した Nutrient Broth No.2 (以下、pH 7.8 普通ブイヨン) を用い、同様の操作を行った。

この赤痢菌保存菌株から、必要に応じ pH 7.8 普通ブイヨンに培養した菌株を、さらに pH 7.8 のリン酸緩衝液で作成した普通寒天 (日水製薬、東京) (含: 0.3% の胆汁酸塩) に接種し、これを配布試料とした。T10 菌株については、冷凍菌株を pH 7.8 普通ブイヨンにて培養し、pH 7.8 のリン酸緩衝液で作成した普通寒天に接種し、これを送付検体とした。

結果を表 3-1 から 3-5 に示す。二次候補菌株の生化学性状等に関しては概ね問題は認められなかった。菌株 T-12 及び B において発育が認められない機関が見られた。そのため、後日、菌株 T-12 及び B について、細菌 WG に再送し、発育を確認した。

#### 7. 温度管理のための口ガーの使用・不使用の検討

昨年度佐多班の研究で十分な結果が得られたため、昨年度報告書の内容で十分対応可能であることから、来年度、当該項目は実施しないこととした。

#### 8. 平成 29 年の組織作りと役割分担

効率的な事業推進を図るために、役割ごとに主たる担当機関を定めることとしたが (表 4) 事務負担が主たる担当機関に過度に集中しないよう細菌 WG 内で配慮することとした。

#### 9. 日程

試料の地衛研への配布は、平成 29 年 5 月末から 6 月初頭が望ましく、参加施設の募集は平成 28 年度中から行うことが必要であるとの結論に達した。

### D. 考察

#### 1. 赤痢菌の選定

赤痢菌は伊藤らの報告にもあるように、同定が比較的難しく、赤痢菌以外の菌種が赤痢菌と誤って同定されることが頻出される。特に市販の菌種同定用のキットを用いるとこの傾向が顕著であるとされる<sup>3)</sup>。このため、赤痢菌の検査は地衛研に期待される部分が大きく、地衛研にとって重要な検査項目となっている。

#### 2. 菌株の選択

赤痢菌は、長期保存により抗原性が変化することが経験的に知られている。比較的 pH の高い液体培地で培養することで、保存菌株中の抗原性を維持している細胞が選択されることが経験的に知られており、今回、その技術を応用した。また、胆汁酸塩の濃度が比較的高い平板培地で培養された菌株 (特に *S. sonnei*) は、細胞侵入性に関するプラスミドの脱落が起き難いことが経験的に知られており、今回、当該プラスミドの脱落

を防止する目的で、胆汁酸塩を培地に添加した。

配布菌株に関しては、-80 の保存であっても抗原性の変化が認められたが、比較的高い pH の液体培地を用いた培養及び胆汁酸塩を含む培地の選択により、比較的良好な結果を得ることができた。

### E. 結論

三類感染症検査に係る『赤痢菌』の同定について、来年度、地衛研を対象に外部精度管理調査を実施するため、4 施設の地衛研及び感染研からなる細菌 WG にて、対象地衛研の選定方法、菌株の選定、スケジュール等の素案を作成し、細菌小班の承認を得た。大規模な外部精度管理調査を実施するにあたって、配付株の配布には、継代培養法を工夫し、保存条件を考慮する必要があることをはじめ、十分な準備が必要であることが明らかとなった。また、実施結果の集計や解析は専従者が担当することが望ましいと考えられた。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

なし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

### 参考文献

1. 佐多徹太郎ら. 2015. 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 27 年度 総括・分担研究報告書.
2. 伊藤健一郎, 山下和予, 吉川昌江, 野地元子, 齊藤剛仁, 岡部信彦, 淳 寺, 廣瀬健二, 渡辺治雄. 2005. 赤痢菌同定の問題点: アンケート調査結果. IASR 26:94-96.
3. 宮本豊一, 相楽裕子. 2002. 赤痢菌同定検査の問題点と現場からの提案. IASR 24:213-214.
4. 甲斐明美, 河村真保, 横山敬子, 高橋正樹. 2002. 赤痢菌同定の問題点 - 東京都. IASR 24:211-212.
5. 久高潤, 中村正治, 系数清正, 平良勝也, 安里龍二, 安富祖忠章, 比嘉政昭, 上原真理子, トーマ・クラウディア. 2002. 赤痢菌の同定に関する問題事例 - 沖縄県. IASR 24:208-209.

表1. 平成29年度 地域別対象及び参加施設数

地域(対象施設数)	人口 (万人)	参加施設数			計
		赤痢菌を扱った経験			
		あり	数回	なし	
北海道・東北・新潟 (11)	1,686	1	1	1	3
関東甲信静 (28)	4,944	2	1	2	5
東海・北陸 (8)	1,260	1	1	1	3
近畿 (15)	2,276	1	1	2	4
中国・四国 (11)	1,170	1	1	1	3
九州 (12)	1,323	1	1	1	3
計	12,659	7	6	8	21

表2-1. 一時候補菌株と凝集する抗血清

菌株 / 抗血清	A多価	A1多価	B多価	C多価	C1多価	C2多価	C3多価	D多価	D I	D II	PCR 検査
T9 ( <i>S. flexneri</i> )	-	-	+	+	+	+	-	-	未実施	未実施	<i>invE, ipaH</i> 陽性
16-52 ( <i>S. flexneri</i> )	未実施	未実施	未実施	未実施	未実施	未実施	未実施	未実施	未実施	未実施	<i>invE, ipaH</i> 陽性
C ( <i>S. flexneri</i> )	+	+	+	-	-	-	-	-	未実施	未実施	<i>invE</i> 陰性
T12 ( <i>S. sonnei</i> )	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	<i>invE, ipaH</i> 陽性
A ( <i>S. sonnei</i> )	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>invE</i> 陰性
B ( <i>S. sonnei</i> )	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>invE, ipaH</i> 陽性
T10 (大腸菌)	-	-	-	-	+	-	-	-	未実施	未実施	<i>invE</i> 陰性

表2-2. 一時候補菌株のうち表2-1に示す問題があった菌株を pH 7.8 のリン酸緩衝液で作成した普通ブイヨン(含:0.8%の胆汁酸塩)にて継代培養した時の抗血清との凝集(但しA株を除く)

	A多価	A1多価	B多価	C多価	C1多価	C2多価	C3多価	D多価	D I	D II	PCR 検査
T9 ( <i>S. flexneri</i> )	±	±	++	-	-	-	-	-	未実施	未実施	<i>invE, ipaH</i> 陽性
C ( <i>S. flexneri</i> )	±	-	++	-	-	-	-	-	未実施	未実施	<i>invE</i> 陰性
16-52 ( <i>S. flexneri</i> )	-	-	++	-	-	-	-	-	未実施	未実施	<i>invE, ipaH</i> 陽性
B ( <i>S. sonnei</i> )	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	<i>invE, ipaH</i> 陽性

表 3-1. 検討結果全体のまとめ（ワーキンググループに菌株を送付し、評価を得た結果）

No.	菌種	発育菌株数	遺伝子検出菌株数		非特異的 血清凝集反応
			<i>invE</i>	<i>ipaH</i>	
T9	<i>S. flexneri</i> 2a	5	5	5	0
T16-52	<i>S. flexneri</i> 2a	5	5	5	0
T12	<i>S. sonnei</i>	1	1	1	0
B	<i>S. sonnei</i>	3	3	3	0
T10	非赤痢菌	5	0	0	5

表 3-2. T9 株 *Shigella flexneri* 2a 検討結果

地方衛生研究所 所在地都道府県等	分離平板接種	分離平板発育	集落	血清凝集反応	<i>invE</i>	<i>ipaH</i>	非典型的性状	同定結果
東京都	直接	有	SS寒天：R型あり DHL寒天：R型、1コロニーのみ発育	B多価+++ フレキシネリ型 +++ (3)4群 +++	陽性	陽性	特になし	<i>S. flexneri</i> 2a
富山県	直接/増菌	有	小型・S型 (BTB, MacConkey, DHL, SS, SSB, SSSB)	ルネリ, (3)4	陽性	陽性	マンニット+	<i>S. flexneri</i> 2a
愛知県	直接	有	白色集落	複数種類血清に凝集, B多価が最も強く凝集	陽性	陽性	白糖遲分解	<i>S. flexneri</i> 2a
大阪府	増菌	有	SS; 白大小濃淡あり, DHL; 白や不正円	B多価, 11, (3)4	陽性	陽性	特になし	<i>S. flexneri</i> 2a
国立感染症研究所細菌第一部	直接	有	小集落有	B, 11, (3), 4	陽性	陽性	特になし	<i>S. flexneri</i> 2a

表 3-3. T16-52 株 *Shigella flexneri* 2a 検討結果

地方衛生研究所 所在都道府県等	分離 平板 接種	分離 平板 発育	集落	血清凝集反 応	<i>invE</i>	<i>ipaH</i>	非典型的 性状	同定結果
東京都	直接	有	SS寒天：発育 ++, S型集落 DHL寒天：発育 ++, S型集落	B多価+++ フレキシネ リ型+++ (3)4群 +++	陽性	陽性	特になし	<i>S.</i> <i>flexneri</i> 2a
富山県	直接	有	均一・S型 (BTB, MacConkey, DHL, SS)、大小 混在・S型 (SSB, SSSB)	フルネリ , (3)4	陽性	陽性	マンニッ ト+	<i>S.</i> <i>flexneri</i> 2a
愛知県	直接	有	白色集落	複数種類血 清凝集, B多 価が最も強 く凝集した	陽性	陽性	特になし	<i>S.</i> <i>flexneri</i> 2a
大阪府	増菌	有	SS; 白ほぼ均 一、DHL; 白とや やピンクの大き め集落	B多価, II, (3)4	陽性	陽性	特になし	<i>S.</i> <i>flexneri</i> 2a
国立感染症研究所 細菌第一部	直接	有	小集落有	B, II, 3, 4	陽性	陽性		<i>S.</i> <i>flexneri</i> 2a

表 3-4. T12 株 *Shigella sonnei* 検討結果

地方衛生研究所 所在都道府県等	分離平 板接種	分離 平板 発育	集落	血清凝集 反応	<i>invE</i>	<i>ipaH</i>	非典 型的 性状	同定結果
東京都	TSB	無						
富山県	直接/ 増菌	無						
愛知県	直接/ 増菌	無						
大阪府	増菌 (TSB)	有	SS; ピンク, 密集部では赤、 DHL; ピンク中 ~大	D多価、 D II	陰性	陽性	特に なし	<i>S.</i> <i>sonnei</i> (II相)
大阪府	再試験 (TSA)	有	SS釣菌株	D多価、 D I	陽性	陽性	特に なし	<i>S.</i> <i>sonnei</i> (I相)
国立感染症研究 所細菌第一部	直接/ 増菌	無						

表 3-5. B 株 *Shigella sonnei* 検討結果

地方衛生研究所 所在都道府 県等	分離平板接 種	分離平板 発育	集落	血清凝集 反応	inv E	ipa H	非典 型的 性状	同定結果
東京都	TSB	直接：無 増菌：有	SS寒天：発育 +++，やや小さめ のS型集落 DHL寒天：発育 +++，大小混在の 集落，R型あり	D多価+++ 相+ 相++	陽性	陽性	特 に な し	<i>S. sonnei</i>
富山県	直接/一度液 体培地で増 菌して	無						
愛知県	直接	有	白色集落 S型、R型集落混 在	ソネD多 価に凝集 した	陽性	陽性	特 に な し	<i>S. sonnei</i> (I相) コリ シン型 6
大阪府	TSB	有	SS; 白ぼぼ均 一、DHL; ピンク と白微小集落	D多価、DI	陽性	陽性	特 に な し	<i>S. sonnei</i> (I相)
国立感染症研 究所細菌第一 部	直接、増菌	無						

表 4. 平成 29 年の役割分担

役割	主たる担当	備考
配布菌株の調整	国立感染症研究所・感染症疫学センター	配布菌株の調整、国立感染症研究所細菌第一部への配布菌株の送付
菌株の発送及びそれに付帯する事務	国立感染症研究所・細菌第一部	地方衛生研究所への配布菌株の送付、それに伴う所内手続き
検査要領等の作成	富山県衛生研究所及び国立感染症研究所・感染症疫学センター	検査要領の作成とそれに伴う事務
成績（菌種同定）の集計	国立感染症研究所・細菌第一部・感染症疫学センター	菌種同定成績の集計、解析、報告書の当該部分の作成
付帯質問の作成、成績の集計	愛知県衛生研究所	菌発育の有無、使用培地、検査法等に関する質問作成、その地衛研への送付、成績の解析、報告書の当該部分の作成
平成29年度報告書作成	富山県衛生研究所	報告書の作成、その他関連する事務
地衛研等との折衝、連絡	愛知県衛生研究所	参加希望の把握、地衛研への事務連絡、成績返却等及びそれに伴う事務
不測の作業・事務	愛知県衛生研究所	上記に含まれない事、突発的な事務等



#### 4. 東京都における衛生検査機関を対象とした精度管理調査事業について

研究分担者 滝澤 剛則 富山県衛生研究所長  
研究協力者 平井 昭彦、河村 真保、小西 典子、貞升 健志、大井 洋  
東京都健康安全研究センター

##### 研究要旨

精度管理は各検査施設における検査技術の維持・向上を図り、施設間の技術格差をなくす目的で実施されている。東京都においては、昭和 53 年より東京都・特別区衛生検査機関（都区内保健所および衛生研究所）における精度管理調査を実施しており、都区内保健所の技術維持・更新に大きな役割をしてきたといえる。平成 27 年度に実施した精度管理調査を中心に東京都における精度管理の概要について報告する。

##### A. 研究目的

精度管理は各検査施設における検査技術の維持・向上を図り、施設間の技術格差をなくす目的で実施する。東京都においては、昭和 53 年より東京都・特別区衛生検査機関（都区内保健所および衛生研究所）における精度管理調査を実施している。

今回、平成 27 年度に実施した都区精度管理調査（腸内細菌）の実施概要について報告する。

##### B. 研究方法

###### 1. 実施項目

赤痢菌、サルモネラおよび腸管出血性大腸菌（0157,026,0111）の分離・同定とした。ただし、5 検体中の 1 検体は出題範囲外の腸間系病原体とし、自由参加型とした。

なお、本精度管理の基本方針<sup>1)</sup>に従い、日常の試験検査における検査技術を客観的に把握して評価すること、結果に問題点または疑義があった場合レポート提出を求めてその点を把握し、評価に反映させること、評価の結果、検査技術に問題があったことが判明した場合は、個別指導によるフォローアップを行うこととした。

###### 2. 実施時期

平成 27 年 11 月 10 日～21 日を試料配布および検査期間とし、平成 28 年 1 月 27 日に講評を行った。

###### 3. 試料の作製

1 試料につき 1 種類の純培養菌を添加して作製した<sup>2)</sup>。培養菌液は試料配布 2 日前、出題株毎に TSB 培地（BD）に接種し、37 一晚培養により調整した。試料配布前日、ペプトン食塩緩衝液（二

ツスイ）に上記 TSB 培養液を添加し、 $10^6$ ~ $10^7$ /ml になるように希釈し、5 菌株の各試料液とした。試料は 0.5ml を輸送用培地（トランススワブ）に分注、作製し、配布当日まで常温保存した。

試料は国連規格に準じたバイオハザード防止用検体輸送箱に入れ、さらにジュラルミン製輸送箱に入れたものをゆうパックにて送付した。なお、試料は特定病原体を含むため、手順書とは別に開封厳禁の封筒内に菌株名を含む項目名を入れた。

###### 4. 参加機関

特別区保健所 18、東京都保健所 2、健康安全研究センター 1 の計 21 機関が参加した。

（倫理面への配慮）

本研究で使用した菌については、すでに患者情報が連結不可能匿名化されており、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針の対象とされない。

##### C. 研究結果

###### 1. 結果の解析

参加 21 施設において、試料 1～4 いずれも 100% の正解率であった。自由参加項目であった 5 番目の項目についてもすべての施設が参加し、かつ正答率は 100% であった。

##### D・E. 考察・結論

精度管理は検査技術の維持・向上にとっても重要であり、精度管理試料の作製の際には機関によって検査レベルに差があるため、出題菌のレベルをどこに合わせるかを考える必要がある。平成 17 年以降、菌の安定性、話題性を考え、毎年 5 題の出題をしているが、問題作成には苦慮している。出題は難しい課題ばかりでなく、近年の菌の分離

状況を反映させたものが好ましい。生化学性状、血清凝集反応、薬剤耐性、病原因子の遺伝子検出等の再現性を含めて安定していることを確認しなければならない。

検査を受講する側としては、基本操作の確認を行えらるとともに、稀な菌を扱うチャンスでもあるため、常に参加する意欲を持つ必要があるとともに、実施する側としては、その意欲を生かすべく広報を行うべきである。

過去に精度管理を実施した例で、「適」とはしたが助言等を行った例、「不適」例があった。適としたが助言を行った事例は、サルモネラ 04 群と回答しているのに、毒素試験欄に VT2+ と記載している場合等、記載ミスと思われるものが多かった。一方、不適事例は陰性例のはずなのに、菌が分離されたと回答した例であった。

検査実施後、不適がある場合にはそのままにしておくのではなく、レポート提出等を課しており、より学習能力が向上するようなシステムを組んでいる。また、レポート提出でも足りない場合には、精度管理後の研修を組むことも可能になっている。

このような一連の精度保障体制をしっかりと自治体レベルで維持していくことも、精度管理上重要と考えている。

#### **F . 健康危険情報**

特になし

#### **G . 研究発表**

なし

#### **H . 知的財産権の出願・登録状況**

なし

#### **参考文献**

1. 精度管理調査実施要綱(平成2年3月20日制定)
2. 平成27年度 東京都・特別区衛生検査機関における精度管理調査報告書、都区保健衛生連絡協議会健康安全部会、試験検査分科会精度管理検討委員会専門委員会(東京都福祉保健局)



## 東京都・特別区衛生検査機関における精度管理調査

- 昭和53年度から年1回実施  
 S53～H元年: 個々の検査技術者の研修としての位置付け  
 H2～ :各検査施設における検査技術の維持・向上を図り施設間の技術格差をなくす目的(施設参加)
- 精度管理の主眼:「科学的な衛生行政を推進してゆくうえで不可欠な試験検査の精度の維持及び向上を図ることを目的とする」  
 (都区精度管理調査実施要綱)
- 実施対象: 都区内保健所及び衛生研究所等(自由参加)
- 実施内容: 腸内細菌、水質、食品化学及び食品細菌等
- 実施時期: 例年、11月初旬～中旬(腸内細菌)
- 専門委員(内容毎): 東京都及び特別区から任命  
 試料の作成および配布は東京都健康安全研究センターが行う

1

年度	1	2	3	4	5
H17	EHEC O157(VT1, VT2)	陰性(EIEC O124)	<i>S. Litchfield</i>	<i>S. Paratyphi A</i>	<i>S. boydii</i> 18
H18	<i>S. Typhi</i>	<i>S. Infantis</i>	<i>S. boydii</i> 8	EHEC O157(VT1, VT2)	<i>S. flexneri</i> 3a
H19	<i>S. flexneri</i> 6	陰性( <i>P. shigelloides</i> )	<i>S. Enteritidis</i>	陰性( <i>Edwardsiella tarda</i> )	EHEC O157(VT1, VT2)
H20	EHEC O157(VT2)	<i>S. sonnei</i>	<i>Salmonella</i> O4 : i : -	EHEC O26(VT1)	<i>S. boydii</i> 1
H21	EHEC O157(VT1, VT2)	EHEC O26(VT1)	EHEC O111(VT1)	<i>S. Oranienburg</i>	<i>S. flexneri</i> 3a
H22	<i>S. flexneri</i> 2a	陰性 ( <i>S. boydii</i> 9に混濁の <i>E. coli</i> )	EHEC O157(VT1, VT2)	<i>Salmonella</i> II (O4: b: -)	<i>S. Enteritidis</i>
H23	陰性 (EIEC O124)	EHEC O111:NM(VT1, VT2)	<i>S. Anatum</i> (O3,10)	<i>S. boydii</i> 4	陰性( <i>Edwardsiella tarda</i> )
H24	<i>S. sonnei</i>	<i>S. flexneri</i> 88-893	EHEC O157(VT1, VT2)	<i>S. flexneri</i> 4c	陰性( <i>Y. enterocolitica</i> )
H25	<i>S. Adelaide</i> (O35)	<i>S. Chester</i> (O4) リンジー	<i>S. flexneri</i> 6	陰性 (EIEC O143)	EHEC O26(VT2)
H26	<i>S. sonnei</i>	EHEC O157(VT2)	陰性(EHEC O121 VT1)	<i>S. flexneri</i> 4a	<i>S. Chester</i> (O4)
H27	<i>S. Schwarzengrund</i>	EHEC O157(VT1, VT2)	<i>S. Oranienburg</i>	<i>S. sonnei</i>	EHEC O145(VT2)

自由参加検体

★毎年5検体を配布

★H27年度から自由参加検体(チャレンジ検体)を配布

H19: 感染症法の改正 \* チフス・パラチフスA菌はBSL3での取扱に→出題範囲の限定  
 \* 病原体の運搬方法の変更→ゆうパックでの配布に変更

H20: 大量調理施設衛生管理マニュアルの改正 \* O157以外の血清型も対象とする

H26: 食品からの腸管出血性大腸菌検査法(通知法)にO121, O145, O103が追加される

## 平成27年度都区精度管理調査 (腸内細菌)の実施概要

3

### 【実施項目及び内容】

赤痢菌、サルモネラ及び腸管出血性大腸菌(O157, O26, O111)の分離・同定

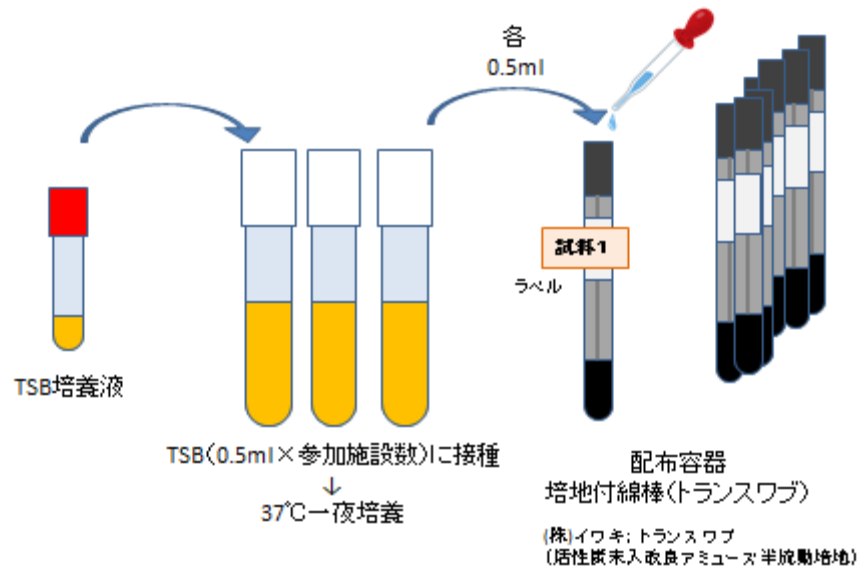
ただし、5検中1検体については自由参加型とする。

### 【実施時期】

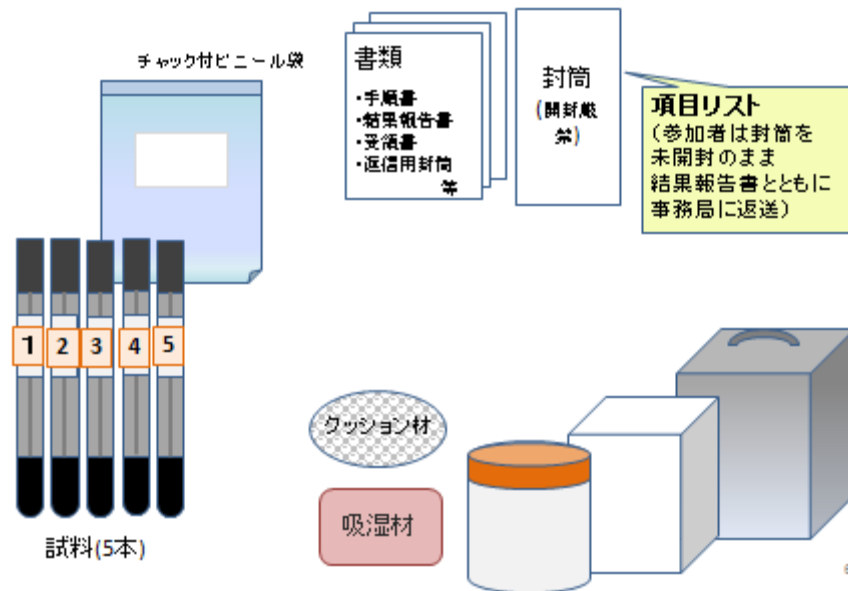
- (1)検体発送日 H27年11月10日(火)
- (2)講評 H28年1月27日(水)
- (3)技術指導 H28年2月中旬

4

## 試料の作製



## 郵送(ゆうパック)



平成27年度都区精度管理調査(腸内細菌)

- 試料作製: 11月9日 試料No.1~5  
(24時間後、48時間後、10日後に発育試験を行う)
- 発送: 11月10日(ゆうパック)  
\* 常温で搬送  
\* 島しょ保健所には一日前倒して発送
- 結果報告書提出〆切: 11月20日

7

平成27年度都区精度管理調査(腸内細菌)

結果報告書書式

平成27年度 都区精度管理<腸内細菌>報告用紙		自治体参加項目 (参加する 参加しない)																				
試験No.		計測番号:																				
試料採取 日時・部位	生 化 学 的 性 状 試 験																				検出判定Code 検出の有無 記号は000 有 無 検出の場合 検出番号 (1~1000の範囲に記入)	
	TSE	LEI	OLIG	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖	乳糖		
試料																						
※ 上記の生化学的性状のうち、実施しないものは空白に記述して下さい。また、検出番号は実施した性状の1000以内で範囲に記入下さい。																						
自治体 参加項目の有無(参加しない)		検出判定Codeの有無(検出番号を記入)		備考		検出判定 (検出判定Codeを記入)																
* 自治体参加																						

8

都区精度管理調査における実際の回答例と対応  
(過去の事例)

「不適」とした例

出題菌	解答例	実際の解答	対応等
<i>S. flexneri</i> 4a	赤痢菌 (フレキシネル4a) または フレキシネル赤痢菌	陰性	「不適」とし、レポート提出
<i>S. flexneri</i> 88-893(仮称)	赤痢菌 (フレキシネル) 赤痢菌 赤痢菌の疑い 判定保留 のいずれか	陰性	「不適」とし、レポート提出

9

都区精度管理調査における実際の回答例と対応  
(過去の事例)

「適」としたが、助言等を行った例

出題菌	解答例	実際の解答	対応等
<i>S. Chester</i>	サルモネラ O4群 ( <i>S. Chester</i> )	サルモネラ O4群 毒素試験及び病原因子検査結 果の欄にVT2+と記載あり	「適」 記載ミス?コメントで注意喚起
<i>S. Adelaide</i>	サルモネラ O35群 ( <i>S. Adelaide</i> )	サルモネラ O35群 ( <i>S. Adelaide</i> ) 生化学的性状記載欄に 「オキシダーゼ+」の記載あり	「適」 記載ミス?コメントで注意喚起
腸管出血性大腸菌 O157(VT1, VT2産生)	腸管出血性大腸菌 O157 (VT1, VT2)	腸管出血性大腸菌O157 Vero毒素・VT1+	「適」 コメントで毒素産生性について 再確認を依頼

10

【精度管理試料作製時に思うこと】

- \* 参加施設によって検査のレベルに差がある
  - 出題菌のレベルの設定をどこに合わせるか?
    - ・ 基本の確認
    - ・ 稀な菌を扱うチャンス
- \* 生化学性状、血清凝集反応の再現性
- \* コントロール菌株配布としての意味(EHEC等)

11

## 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

研究分担者	皆川 洋子 調 恒明 四宮 博人 岸本 壽男 佐野 一雄 滝澤 剛則 山本 容正 宮崎 義継、脇田 隆字、大石 和徳	愛知県衛生研究所 山口県環境保健センター 愛媛県立衛生環境研究所 岡山県環境保健センター 名古屋市衛生研究所 富山県衛生研究所 大阪府立公衆衛生研究所 国立感染症研究所
研究協力者	猿木 信裕 大井 洋 香月 進 岸本 剛 末吉 利幸 （以上項目小班） 松本 昌門、伊藤 雅、広瀬かおる、垣添 寛和 及びアンケート調査に協力された地方衛生研究所担当者	群馬県衛生環境研究所 東京都健康安全研究センター 福岡県保健環境研究所 埼玉県衛生研究所 山口県環境保健センター

### 研究要旨

地方衛生研究所（地衛研）全国協議会（地全協）会員（全81機関）に宛てて「病原体検査の質確保」体制構築状況の調査を実施し、80機関より回答を得て現状を把握した。法改正施行に伴い、多くの地衛研では新たに信頼性確保部門管理者・検査部門管理者・検査区分責任者の配置や標準作業書の整備など検査管理体制の構築が既になされていた。標準作業書、検査標準品（標準株や陽性対照など）、外部精度調査への参加希望についても調査した。病原体検査を実施する人員・予算・機器設備等に関する様々な問題点も明らかになった。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についても調査したところ、21%にあたる17機関より、実績ありとの回答が得られた。

### A. 研究目的

平成28年4月に施行された改正感染症法に基づき病原体情報の収集に法的根拠が付与され知事等の事務となり、検査を担当する地方衛生研究所（地衛研）には検査精度の維持向上とともに定期的な精度管理への参加が課せられた。本分担研究では、先行研究でも調査された検査体制・精度管理を希望する項目等について再度調査を行って法改正後の状況を把握し、地域における病原体検査レベルの維持及び強化に有用な対策の実現につなげる。

### B. 研究方法

#### 1. アンケート調査

平成28年11月現在の地方衛生研究所全国

協議会（地全協）会員（全81機関）に宛てて「病原体検査の質確保」体制構築状況の調査（資料1 依頼文及び資料2 調査票参照）を実施し、その結果を1月11日に開催した全体班会議の場等において、ウイルス小班・細菌小班的専門家も交えて検討した（資料4 追加パワーポイント参照）。

### C. 研究結果

#### 1. 地衛研を対象とするアンケート調査実施

平成28年11月下旬に依頼し、12月中旬までを回答期限とする余裕のない日程であったが、地全協会員全81機関中80機関の協力を得て地衛研の現状把握できた。以下項目ごとに調査結果の概要を記す。項目別回答結果の

解析図表は、後出の資料3に記載した。

なお回答のなかった1機関のほか、1機関からは法に基づく検査を実施していない旨の回答が寄せられたため解析対象は79機関となった。さらに二類感染症やウイルス検査を実施していないと回答した機関が、主に政令指定都市以外の市及び特別区に数機関あり、ほとんどの項目において回答総数は78機関以下となっている。

## 2. アンケート調査結果概要(2) 病原体検査の管理体制について

「検査施設における病原体等検査の業務管理要領」(平成27年11月17日 健感発1117第2号)(管理要領)に基づく信頼性確保部門管理者、検査部門管理者、検査区分責任者の設置状況について尋ねたところ、信頼性確保部門は回答79機関中74機関(93.7%)が設置済であった。信頼性確保部門管理者は検査機関に常勤であることは求められていないため主な所属について尋ねたところ、70.2%が所に常勤、残りは自治体本庁若しくは保健所所属であった。職位は77%(57機関)が課長級以上(部長級、次長級を含む)、最も低い職位は主任級であった。

検査部門管理者及び検査区分責任者の設置状況を尋ねたところ検査部門管理者のみ配置しているとの回答が5機関(うち3機関は1名、2機関は2名)からあった。管理要領によれば、検査部門管理者及び検査区分責任者は兼務してもよいとされており、各々の業務分担も異なることから、これら5機関では検査部門管理者が検査区分責任者を実質的に兼務しているのではないと思われる。

検査員数は2~23名(平均7.4名)であった。但し6名以下が60%を占めていた。部門管理者・区分責任者を含む関係職員総数は4~26名(平均9.9名)であったが、9名以下が62%を占めており一部の機関を除いて人員配置は厳しいと考えられる。

## 2. アンケート調査結果概要(2) -1 二類感染症(結核を除く)遺伝子検査の人員体制

二類感染症において地衛研で陰性であった場合検査結果が確定するウイルス遺伝子検査については90%にあたる72機関から回答があり、検査は開庁時66%、閉庁時は90%が1-2名で実施していると回答した。一方結果判定の報告には92%にあたる67機関が2人以上で確認後に報告する、と回答しており、1人との回答は5機関のみであった。

## 2. アンケート調査結果概要(2) -2 三類感染症検査の人員体制

腸チフス、コレラ、細菌性赤痢など三類感染症の病原細菌検査体制について75機関から回答があり、検査は開庁時82%、閉庁時は95%が1-2名で実施されていた。結果判定については91%にあたる68機関が2人以上で確認後に報告すると回答していた。

## 2. アンケート調査結果概要(2) 機器設備点検予算の確保(現場の実感)

地衛研の予算確保は自治体本庁等他機関が担当するケースが多いと考えられたため、現場の実感について尋ねたところ、75機関が回答した。機関の機器設備点検予算は、前年度に比べ改善を実感した機関が過半数を占めたが、28年度及び次年度以降とも「十分確保」と回答したのは1機関のみで、28年度に改善の見られなかった機関は3割を占めた。過半数は次年度以降も維持~改善される見通しと回答した。但し調査を実施した11月時点で十分確保と回答したのは2機関のみであった(今回のアンケート調査期間は自治体予算議決前の時期にあたったこともあり、次年度の状況に関して明言を避けた機関が多かった)。

## 2. アンケート調査結果概要(2) 機器設備の更新増設予算(現場の実感)

75機関が回答し、全く不足(42%)、次年度分確保見込み(21%)、わからない・不明(21%)の順で28年度十分に確保と回答した機関は3機関(4%)にとどまった。1年以内に必要な具体的機器は、53機関(71%)より計200点の回答があった。

## 2. アンケート調査結果概要(2) その他: 検査管理及び実施体制に関する自由記載

資料には、自治体を都道府県(県と略記)



指定都市(市と略記)、その他の市及び特別区(他と略記)の3つに区分し、記載内容を

- ・信頼性確保部門
- ・検査部門の人員
- ・機器設備更新増設・保守点検を含む予算
- ・検査管理体制全般
- ・標準作業書(SOP:Standard Operation Procedure)、外部精度調査(EQA: External Quality Assurance)の5項目に分類して掲載した。

信頼性確保部門管理者について食品GLP(Good Laboratory Practice)の信頼性確保部門管理者や所属長にお願いしている機関の一部には新たな病原体検査対応を行う余裕がないことを危ぶむ記述がみられた。また検査要員の確保(定数・経験とも)に苦労している趣旨の記述も目立った。

## 2. アンケート調査結果概要(3)SOP, 標準品, EQA-二類感染症

75 機関より回答があった。SOP 整備状況は、最近国から標準品の配布があり二類感染症となった鳥インフルエンザ及び MERS については、作成済機関が 77%にあたる 58 機関にのぼった。

標準品の要望について、SOP 作成済若しくは予定している機関を対象に集計したところ、SARS、急性灰白髄炎及び結核について不所持かつ配布を希望する機関があった。また現在既に所持しているが、劣化等に備えて配布を希望する機関は、調査した全ての二類感染症についてみられた。

EQA のニーズは鳥インフルエンザが最も高く、SARS が低かった。急性灰白髄炎及び SARS は、EQA 参加の要否を未定と回答した機関が多かった。

## 2. アンケート調査結果概要(3)SOP, 標準品, EQA-三類感染症

三類感染症については74機関から回答があり、SOP 作成は予定の機関を含めて 72-73 機関と極めて高率であった。

標準品配布を希望する機関は、現在所持不所持を合わせるとほぼ半数を占めた。また EQA を希望

する機関数は、疾患別に 65~55 と高率であった。

## 2. アンケート調査結果概要(3)SOP, 標準品, EQA-四類感染症

四類感染症のうち、ジカウイルス感染症、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)、チクングニア熱、つつが虫病、デング熱、日本紅斑熱、日本脳炎、レジオネラ症、レプトスピラ症の9疾病について調査したところ、74 機関から回答があった。ウイルス感染症で主に遺伝子検出を行うデング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は 47-50 機関が SOP 作成済であり、作成予定をあわせると 69-71 機関を占めた。次いで細菌感染症のレジオネラが 38 機関(予定を含めると 62 機関)であった。一方日本脳炎、ツツガムシ病(リケッチアは分類上は細菌に属するが偏性細胞内寄生性病原体であるためウイルスが担当する機関も多い)、日本紅斑熱(同左)は作成予定のない機関が 1/3 を占めた。一方レプトスピラの SOP 作成機関は、予定を合わせても 15 機関と少なかった。

## 2. アンケート調査結果概要(3)SOP, 標準品, EQA-五類感染症-季節性インフルエンザ

74 機関から回答があり、SOP は 2017 年 11 月の時点で 65 機関が既に作成済、7 機関が作成予定であった。

標準品を不所持と回答した機関は 4 機関のみであったが、配布を希望する機関は併せて 39 と過半数を占めた。

EQA は今年度厚生労働省により実施されたこともあってか 65 機関が希望していた。

## 2. アンケート調査結果概要(3) SOP, 標準品, EQA-五類感染症

季節性インフルエンザを除く五類感染症のうちカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症(CRE と略記)、劇症型溶血性レンサ球菌感染症、後天性免疫不全症候群(AIDS と略記)、侵襲性髄膜炎菌感染症、侵襲性肺炎球菌感染症、バンコマイシン耐性腸球菌感染症(VRE と略記)、風しん及び麻しんの 8 疾病について調査した。74 機関から回答があり、麻しん・風しんは高率であった。一方エイ

ズ(HIV 検査)、侵襲性髄膜炎菌感染症及び侵襲性肺炎球菌感染症は、SOP 作成予定のない機関が過半数を占めた。劇症型溶血性レンサ球菌感染症、侵襲性髄膜炎菌感染症、侵襲性肺炎球菌感染症、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症(CRE)、バンコマイシン耐性腸球菌感染症(VRE)は上記 2 グループの中間的な状況であった。

## 2. アンケート調査結果概要(3)その他の感染症に対する SOP 準備状況

36 機関から以下の 19 疾病のべ 244 疾病について作成済との回答があった。(二類感染症)ジフテリア、(四類感染症)A 型肝炎、E 型肝炎、ウエストナイル熱、(五類感染症-全数報告)急性脳炎、多剤耐性アシネトバクター感染症、(五類感染症-定点把握)感染性胃腸炎、手足口病・ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、RS ウイルス(感染症)、流行性耳下腺炎、無菌性髄膜炎、流行性角結膜炎、百日咳、水痘、突発性発しん、伝染性紅斑、A 群溶血性レンサ球菌感染症、出血性結膜炎。

## 2. アンケート調査結果概要(3)本調査対象以外の感染症に関する標準品の要望

32 機関より具体的な病原体名若しくは疾病名による回答があった。具体的な病原体名に加えて、「感染性胃腸炎」「呼吸器疾患の病原体」「脳炎の病原体」等診断名に対する包括的な対照品の要望が計 7 機関よりあった。回答のあった疾病名・病原体名は以下の通り。(四類感染症)A 型肝炎、E 型肝炎、(五類感染症-全数報告)侵襲性インフルエンザ菌感染症、マラリア、急性脳炎の病原体、(五類感染症-定点把握)突発性発しん、感染性胃腸炎、エンテロウイルス、伝染性紅斑、百日咳菌、アデノウイルス、水痘、ノロ・サポ・アストロウイルス、RS ウイルス、流行性耳下腺炎。

## 2. アンケート調査結果概要(3)その他の感染症に対する EQA 実施の要望

17 機関から 7 疾病に対するのべ 21 疾病について要望があげられていた。(五類感染症-全数報告)侵襲性インフルエンザ菌感染症、マラリア、(五類感染症-定点把握)エンテロウイルス、感染性胃腸炎、ノロウイルス、百日咳、侵襲性インフル

エンザ菌感染症、A 群溶血性レンサ球菌感染症。

## 2. アンケート調査結果概要(3)SOP、陽性対照の確保、EQA に対する自由記載

SOP、陽性対照など標準品、EQA について、多くのコメントが寄せられた。

## 2. アンケート調査結果概要(4)保健所・衛生検査所等の外部精度管理への協力

回答のあった 80 機関の 21%にあたる 17 機関が他機関への精度管理用検体提供等を実施していた。保健所に対しては 14 機関、民間の衛生検査所に対して 9 機関、保健所・衛生検査所以外の試験検査機関への協力は 3 機関であった。

## 2. アンケート調査結果概要(5)法に基づく検査が開始されて改めて気づいたこと、コメント等自由記載

自機関あるいは地全協を含む地研間の連携や、自治体内機関との関係、厚生労働省・感染研との関係について、多様なコメントが寄せられた。資料 3 には、

- ・地研内の検査体制及び地研間連携
  - ・厚生労働省・感染研に関するコメント・願望
  - ・本庁等自治体内他機関との関係
- の 3 項目に分類のうえ収載した。

## D. 考 察

### 1. 地衛研における病原体検査管理体制

検査管理体制は 94%にあたる 74 機関が立ち上げ済であったが、食品や水質・医薬品検査等の GLP に関する既存システムに準じた体制を構築した機関が多い印象であった。

信頼性確保部門管理者は 3 割の機関が地衛研外に設置されており、課長級以上の職員に担当させている機関が多い。「管理要領」には信頼性確保部門管理者への研修等に関する記述はないが、結論の項に述べるとおり病原体検査の「質」確保には食品検査等の GLP とは異なる視点も必須となるため、今後信頼性確保部門管理者に対する情報提供(研修等)を考慮するべきかもしれない。現場の検査部門管理者らが信頼性確保部門所掌事務の大半を

行っている機関もあると聞いており、新たに生じた業務量の負担の吸収に苦労している状況が垣間見られた。また検査部門管理者のみ設置し区分責任者はいないと答えた機関が合計5機関あったが、実質上兼務しているのではないかと考えられた。

検査員を含む現場の病原体検査人員は、2012/2013 シーズンに実施したインフルエンザ及びウイルス検査体制アンケート調査時の回答（ウイルス検査担当者総数平均3.8名）と比較したところ、増員された機関はほとんどないと思われた。

多くの地方自治体は今後人口減少が見込まれ、自治体職員の増員は期待できないことから、検査管理体制についても要点は押さえつつ事務量の増加は極力抑える必要性が痛感された。

検査の実施及び検査結果の確認及び報告体制について、ウイルス遺伝子検出が主体となる二類感染症と、細菌検査結果が従事制限等の根拠とされる三類感染症を対象に調査した。ウイルス・細菌とも個々の検査は見守りを含めて1-2名が担当しているが検査結果報告前の確認は2名以上で実施している機関が9割を占めた。一方で検査結果報告は1名（担当者と思われる）で行うと回答した地衛研もあり、検査結果を確認する体制は一様ではないと考えられた。

## 2. 病原体検査関連の設備機器点検及び更新・増設予算確保等の状況

検査の質を確保する上で、法改正に伴い検査機器の点検費用を求める根拠が与えられたことは大きな前進である。とりわけ二類感染症に関する遺伝子検査結果は、地衛研が実施して陰性であった場合確定となる（陽性者が増えた場合、地衛研が実施した陽性の検査結果をもって確定とされることもある）など、輸入感染症を含む感染症対策上重大な影響を及ぼすものである。現行のリアルタイムPCRをはじめとする検査機器の多くは複雑かつ精密であり、光学系のトラブルに対してウイルスや細菌の専門家が対応できる余地はほとん

どなく、老朽機器の動作状態に不安を覚えながら検査を実施していた検査区分責任者や検査員にとって、心理的負担軽減が期待される。

一方で予算総額の大きな増額は期待できない自治体の方が多いと思われることから、設備・機器点検等義務的経費の増大は微生物担当部署に配分される予算運用のさらなる硬化を招くこととなり、突発的事態に備えた検査試薬・器具等備蓄の確保並びに関連する調査研究にマイナスとなる懸念がある。

## 3. 標準作業書(SOP)、標準品の確保、外部精度調査について

検査法の例示については感染研への期待が寄せられた。SOPは他の地衛研作成分を参考にしたいという意向が表明された。法に定められた疾病は病原体が明確に定義されているものばかりではないため、疾病別SOPに疑問を呈する意見がある一方、例えば「急性脳炎」、「感染性胃腸炎」といった疾病ごとに、包括的な標準品提供等を求める意見もあった。

標準品の確保は、検査管理の基本となるものであり、定期的あるいは必要に応じて供給されるシステムが期待される。感染研の各専門部室が中心となり、レファレンスセンター等を通じて地衛研も連携する形でのシステムづくりが期待される。

外部精度調査については、ウイルスと細菌についてそれぞれ毎年実施を希望する意見があり、一方業務量の観点から1年間に参加可能な項目数は限定されるという声もあった。

## 4. 地域において地衛研が果たしている精度管理用検体提供等の役割

地域保健対策の推進に関する基本的な指針(2)は、地衛研に「地域における科学的かつ技術的に中核となる機関」としての役割を求めている。一部の地衛研は、30年以上にわたり地域の保健所試験検査課・民間衛生検査所等検査機関に対して細菌検査用精度管理検体の供給などを担当しており、27年度においても17機関の実績が明らかになった。法改正に伴い、感染症法に基づく検査を実施する保健所試験検査課にも研修や精度管理を行う義務が

生じており、将来は全国規模に加えて地全協組織でいえば支部（全国に6つ）あるいはブロック（支部内に2つ程度）レベルの精度管理等連携を考えることも有益と思われる。

## E. 結論

改正感染症法施行1年目における地衛研の病原体検査管理体制について、地全協会員を対象に調査したところ、ほぼ全ての機関から協力を得られ、当事者の関心の高さがうかがわれた。

人員・機器設備・予算の各項目について、法改正前より改善した点もあるものの依然として厳しく次年度以降の見通しが立ち難い機関が多い印象であった。

標準作業書(SOP)は、行政検査を実施する上で最低限の流れは決めておくべきであろうが、感染症検査は病原体の迅速かつ正確な把握が優先されるべきであり、病原体の変異に伴う核酸増幅プロトコルの変更や性状の微妙な変化に伴う増殖に最適な培地の変更等には速やかに適応しなければならない等、食品GLP等とは異なる点を十分に認識するとともに、現場における事務負担の過度な増大は避ける必要がある。

標準品・陽性対照の確保及び新たに課せられた外部精度調査実施に対する要望は高かった。感染研との密接な連携及び地全協（全国並びに支部若しくはブロックレベル）間の相互協力により、個々の地衛研における検査管理体制の確立・維持、及び検査部門管理者等現場担当者へのサポートを強化する必要がある。

## F. 研究発表

### 1) 論文発表

関連発表はなし

### 2) 学会発表

なし

## 参考文献

1. 皆川洋子、他. 2014. インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間および国立感染症研究所との連携強化に関する研究. 平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「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」（H25-新興-一般-002）分担研究報告書
2. 地域保健法第四条第一項の規定に基づく地域保健対策の推進に関する基本的な指針（平成6年12月1日厚生省告示第374号）最終改正：平成27年3月27日厚生労働省告示第185号

## 資料

- 1 アンケート調査依頼文
- 2 アンケート調査票
- 3 アンケート解析図表
- 4 追加パワーポイント資料

## 1 アンケート調査依頼文

平成 28 年 11 月 29 日

地方衛生研究所全国協議会会員各位  
(病原体検査部門管理者若しくは担当者様)

感染症法に基づく病原体検査体制に関する調査協力をお願い(依頼)

いつもお世話になっております。

改正感染症法施行後最初のインフルエンザ流行期を迎え、多忙な毎日をお過ごしのことと拝察します。精度管理班では前任の佐多先生により、法施行直前の検査体制等に関する調査が実施されました。今回は、地衛研における改正感染症法施行後の体制を確認するとともに、「法に基づく検査の質」の維持向上を図るなかで浮かび上がってきた問題点の共有を図る目的で、アンケート調査を計画しました。また、かねてから同様の調査を感染症対策部会も予定していたので同時に実施(シートを分ける形で)することとしました。研究班分調査結果概要は機関が特定されない形で研究報告書に記載し、部会分調査結果概要は地全協ネットワークを介して会員に還元させていただきます。

つきましては別添のシート1(研究班分)及びシート2(部会分)について、12月11日(月)までに電子メール([eiseiken@pref.aichi.lg.jp](mailto:eiseiken@pref.aichi.lg.jp))又は地研 info にてご回答をいただきたく、御依頼申し上げます。

お忙しい中お手数をおかけしますが、何卒ご協力のほどよろしくお願い申し上げます。

地全協感染症対策部会 部会長 四宮 博人  
(愛媛県立衛生環境研究所)

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)」班 研究代表者・地全協精度管理部会 部会長 皆川 洋子  
(愛知県衛生研究所)

## 2 アンケート調査項目

感染症法改正に伴い「検査施設における病原体等検査の業務管理要領」が示され、感染症検査の業務管理が強化されました。アンケートにご協力をお願いいたします

**選択肢** 緑のセル: プルダウンメニューから適切な選択肢を選んでください。

### (1) 研究所・回答者情報をお願いします

研究所名:	
回答者所属部署:	
回答者職名・氏名:	
連絡先 TEL:	
連絡先 e-mail:	

### (2) 感染症に係る検査について、貴施設における現在の状況をお答えください。

病原体検査の管理体制についてお尋ねします。

信頼性確保部門管理者の主な勤務公署は衛研ですか？本庁等他所属ですか？

選択肢: 1. 所に常勤  
2. 本庁の職員(衛研兼務を含む).  
3 保健所等他機関の職員

信頼性確保部門管理者の職名を教えてください。

(例: 副所長、次長、企画情報部長)

上記信頼性確保部門管理者の職位をご教示ください。

選択肢: 1. 本庁部長相当, 2 本庁次長相当,  
3 本庁課長相当,  
4 本庁係長(課長補佐)相当,  
5 本庁主査相当

検査部門管理者は何名ですか？

名

検査区分責任者は何名ですか？

名

検査区分責任者のうち部門管理者と兼務している職員は何名ですか？(兼務者のない場合は0と記入してください)

名

感染症法に基づく感染症検査の人員体制についてお尋ねします。

検査区分責任者・検査部門管理者以外の検査員は、貴機関全体で合計何名ですか？

名

### -1 感染症法に基づく二類感染症(結核を除く)遺伝子検査(調査研究等は除きます)の人員体制についてお尋ねします。

現在、結核を除く二類感染症(SARS, MERS など)遺伝子検査を1項目以上実施されていますか？

選択肢 1. はい, 2. いいえ

(「いいえ」を選択された場合は、-2に進んでください)

開庁時間内に実施する検査の各項目(例: 鳥インフルエンザ H5N1 疑い例の遺伝子検査)は、通常何人で実施しますか？(検査実施時に検査手技を担当(見守りを含む)する標準的な人数をお答えください)

選択肢 1. 1人, 2. 2人, 3. 3人以上

緊急検査等で閉庁時に実施する検査の各項目(例: 鳥インフルエンザ H5N1 疑い例の遺伝子検査)は、通常何人で実施しますか？(夜間休日検査当番が1名の場合は、1名を選択してください)

選択肢 1. 1人, 2. 2人, 3. 3人以上

施設として検査結果の報告(本庁等への電話による速報を含みます)を行うまでに、検査実施者を含めて最低何人が検査結果の判断(検査実施及び結果の解釈若しくは判定)に関わりますか？

選択肢 1. 1人, 2. 2人, 3. 3人以上

(行政担当者に速報を入れる前に、検査担当者の出した結果を確認する最低の人数をお答えください 担当者のみの場合は1名となります)

-1 感染症法に基づく三類感染症検査(調査研究等は除きます)の人員体制についてお尋ねします。

開庁時間内に実施する検査の各項目(例:EHEC 分離同定)は、通常何人で実施しますか？

(検査実施時に各項目の検査手技を担当する標準的な人数をお答えください)

選択肢 1.1人, 2.2人, 3.3人以上

緊急検査等で閉庁時に実施する検査の各項目(例:EHEC 分離同定)は、最低何人で実施しますか？

(夜間休日検査当番が1名の場合は、1名を選択してください)

選択肢 1.1人, 2.2人, 3.3人以上

施設として検査結果の報告(本庁等への電話による速報を含みます)を行うまでに、検査実施者を含めて最低何人が検査結果の判断(検査実施及び結果の解釈若しくは判定)に関わりますか？(行政担当者に速報を入れる前に、検査担当者の出した結果を確認する最低の人数をお答えください 担当者のみの場合は1名となります)

選択肢 1.1人, 2.2人, 3.3人以上

機器設備の点検及び更新についてお尋ねします。(本庁等に照会が必要だが時間がない場合等は、「わからない・不明」を選択してください)

法改正の実現に伴い、点検費用の確保が大いに期待されましたが、現時点における現場の実感としてはいかがですか？

選択肢 1.十分確保,  
2.かなり改善したがまだ不十分,  
3.改善はほとんどなく不十分,  
4.わからない・不明

点検費用等の確保について、29年度の見通しはいかがですか？

選択肢 1.十分確保される,  
2.不十分だが現状維持,  
3.不十分かつ減額のおそれ,  
4.わからない・不明

機器の更新・増設に必要な予算が、今年度若しくは次年度執行分として確保される見込みはいかがですか？

選択肢 1.今年度十分に確保,  
2.次年度分確保見込み,  
3.全く不足,  
4.わからない・不明,  
5.必要な機器はない

1年以内に更新を要する機器があれば、名称と数を記載してください

(例:リアルタイムPCR 1台、オートクレーブ 1台)

その他:検査管理及び実施体制について、気になる点等ありましたら自由に記載して下さい。

(3)個々の感染症に係る検査について、A.標準作業書(SOP)の準備状況、B.陽性対照配布の要否、C.外部精度管理(EQA)参加希望の有無をお答えください。

(選択肢)

A. 標準作業書(SOP)の準備 1.作成済, 2.今後作成予定, 3.予定なし

B.陽性対照配布の要否 1.確保済配布不要, 2.保有しているが配布を希望,

3.保有せず配布希望, 4.配布希望なし

C.外部精度管理(EQA)参加希望 1.あり, 2.なし, 3.未定

二類 急性灰白髄炎  
二類 結核  
二類 重症急性呼吸器症候群(SARS)  
二類 中東呼吸器症候群(MERS)  
二類 鳥インフルエンザ(H5N1), 同(H7N9)

三類 コレラ  
三類 細菌性赤痢  
三類 腸管出血性大腸菌感染症  
三類 腸チフス  
三類 パラチフス

四類 ジカウイルス感染症  
 四類 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)  
 四類 チクングニア熱  
 四類 つつが虫病  
 四類 デング熱  
 四類 日本紅斑熱  
 四類 日本脳炎  
 四類 レジオネラ症  
 四類 レプトスピラ症

五類 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症  
 五類 劇症型溶血性レンサ球菌感染症  
 五類 後天性免疫不全症候群(AIDS)  
 五類 侵襲性髄膜炎菌感染症  
 五類 侵襲性肺炎球菌感染症  
 五類 バンコマイシン耐性腸球菌感染症  
 五類 風しん  
 五類 麻しん  
 五類 インフルエンザ(いわゆる季節性インフルエンザ)

上記以外の感染症で SOP を準備し検査を実施している病名がありましたら、記載してください。  
 上記以外の感染症で陽性対照配布を希望する項目がありましたら、記載してください。  
 上記以外の感染症で EQA 参加を希望する項目がありましたら、記載してください。  
 その他:SOP、陽性対照の確保、EQA について意見がありましたら自由に記載して下さい。

**(4)保健所、衛生検査所等の外部精度管理を実施(あるいは実施に協力)していますか。**

選択肢 1.はい, 2.いいえ

「はい」の場合、年間の配布対象機関数を右記の属性毎にお答えください。

(4)-1 保健所

(4)-2 衛生検査所(検査センター等)

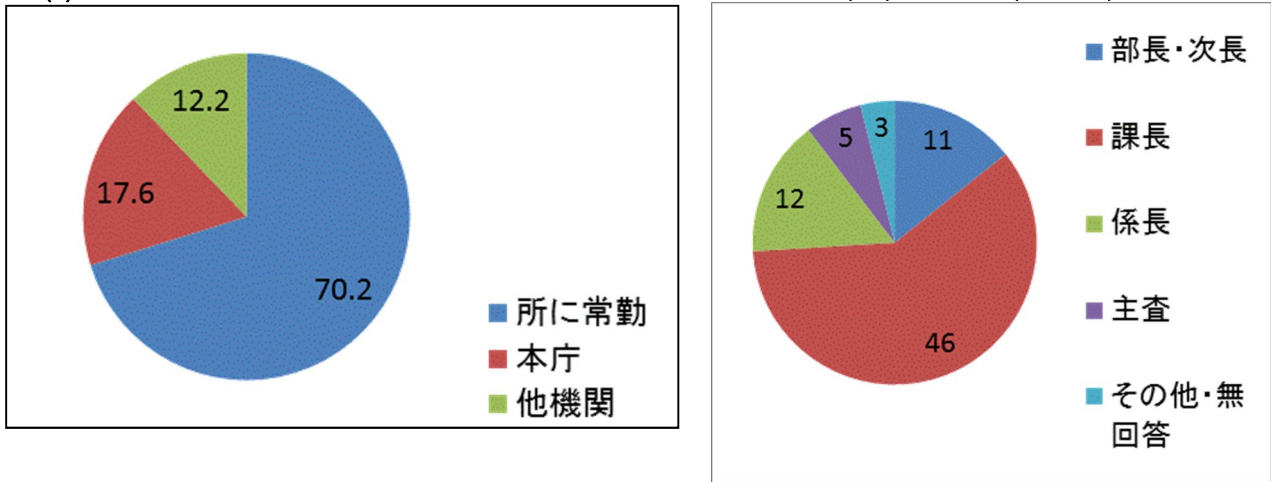
(4)-その他

**(5)その他:法に基づく検査が開始されて改めて気づいたこと、コメント等記載して下さい。**

厚生労働科研究班(項目小班)からのお尋ねは以上です。ご協力ありがとうございました。



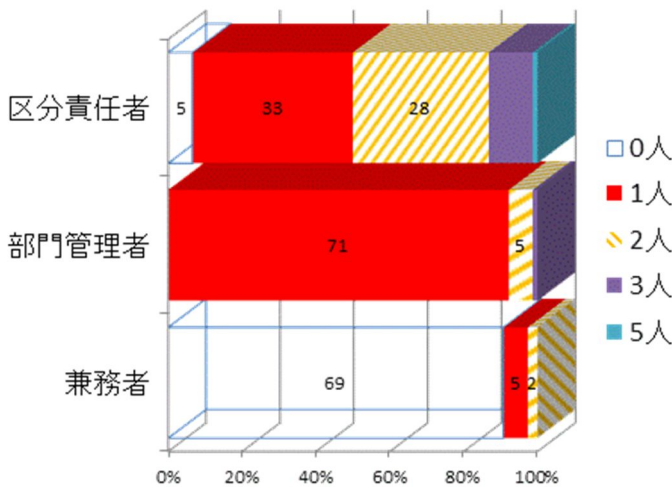
(2) 病原体検査の管理体制:信頼性確保部門管理者の所属の割合(%)及び職位(機関数)



- ・信頼性確保部門は回答79機関中74機関(93.7%)が設置済。
- ・上図に示すとおり、所属は70.2%が所に常勤
- ・職位は77% (57機関)が課長級以上。

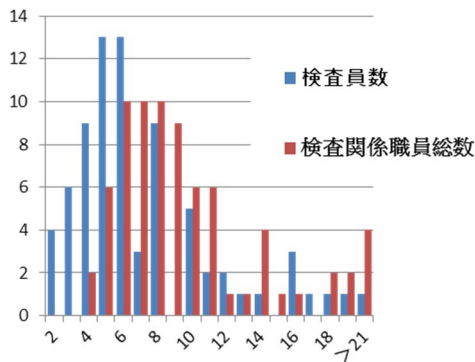
(2) 病原体検査の管理体制:検査部門管理者・区分責任者の状況

- ・回答79機関中77機関が設置。
- ・図及び表に示すとおり、兼務若しくは区分責任者未設置機関は12(16%)。併せて2-4名の機関が80%を占める。



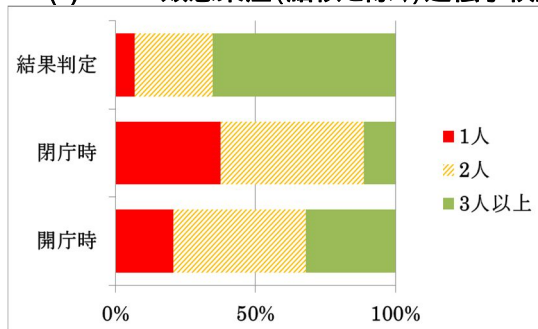
部門管理者	区分責任者	(兼務)	総数	機関数
1	0		1	3
1	1	1	2	5
1	1	0	2	28
2	0		2	2
2	2	2	4	2
1	2	0	3	26
1	3	0	4	8
2	3	0	5	1
3	5	0	8	1

(2) 病原体検査の管理体制:検査部門管理者・区分責任者・検査員の配置状況



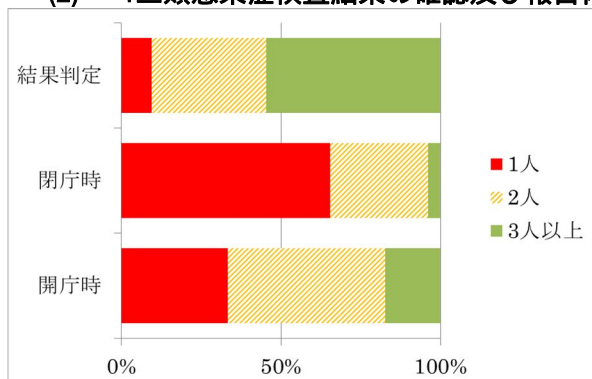
- ・左図に示す通り、検査員数は2～23名(平均7.4名)。但し6名以下が60%を占める。
- ・部門管理者・区分責任者を含む関係職員総数は4～26名(平均9.9名)。但し9名以下が62%を占める。

(2) -1二類感染症(結核を除く)遺伝子検査の人員体制



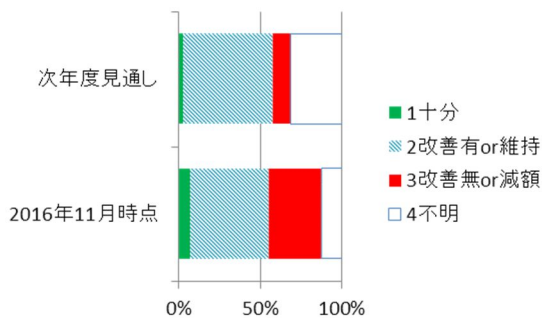
- ・検査は開庁時66%,閉庁時は90%が1-2名で実施
- ・結果は92%が2人以上で確認後に報告

(2) -1三類感染症検査結果の確認及び報告体制



- ・検査は開庁時82%,閉庁時は95%が1-2名で実施
- ・結果は90%が2人以上で確認後に報告

(2) 機器設備点検予算の確保(現場の実感)



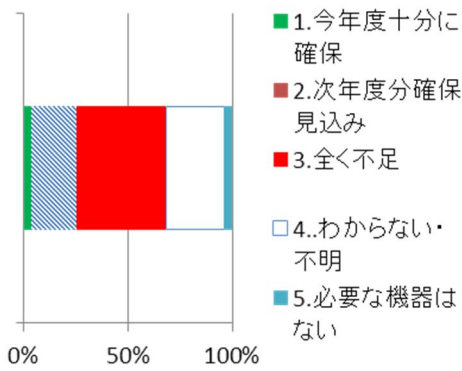
75機関の回答は、下表のとおり分布していた。

次年度見通し

2016年 11月時点	1 十分確保	2 維持	3 減額?	4 不明	(小計)
1 十分確保					
2 改善有、 不十分	1	0	1	3	5
3 改善なし、 不十分	1	26	3	6	36
4 不明	0	13	4	7	24
(小計)	0	2	0	8	10
	2	41	8	24	75

- ・前年度に比べ改善を実感した機関が過半数を占めたが、28年度及び次年度以降とも「十分確保」と回答したのは1機関のみで、28年度に改善の見られなかった機関は24機関と3割を占めた。
- ・過半数は次年度以降も維持-改善される見通しと回答。但し11月時点で十分確保との回答は2機関のみ。

(2) 機器設備の更新増設予算(現場の実感)



- ・75機関が回答し、全く不足(42%)、次年度分確保見込み(21%)、わからない・不明(21%)の順で28年度十分に確保と回答した機関は3機関(4%)にとどまった。
- ・1年以内に必要な具体的機器は、53機関(71%)より計200点回答があった。概要は下表のとおり。

品名等	機関数	
遺伝子検査リアルタイム PCR	15	品名(数字は希望機関数)は以下の通り。 乾熱滅菌器 1 超音波(ビレット用)洗浄機 1 製氷機 1 超純水製造装置 2 遺伝子抽出装置 2 分光光度計 1 トランスイルミネーター1 紫外線照射装置 1 ゲル撮影装置 3 電気泳動槽 1 振とう器 1 マイクロプレートリーダー1 顕微鏡撮影装置 1 データロガー(自記温度計) 1 PC サーバシステム 1
遺伝子検査コンベンショナル PCR	18	
遺伝子検査リアルタイム LAMP	4	
シークエンサー	4	
超低温フリーザー	20	
ショーケース、冷凍庫、冷蔵庫	28	
安全キャビネット、クリーンベンチ	12	
(振とう)恒温槽、ふ卵器、インキュベーター	26	
遠心機	14	
オートクレーブ	21	
顕微鏡	5	
その他	33	
総品数	200	

(2) その他:検査管理及び実施体制に関する自由記載。

35機関よりコメントが寄せられた。(次ページ表参照:原文のうち「です、ます」調を「である」調に統一等、一部文章に手を加えています。)

人員、機器設備点検費用、機器設備更新増設費用等に関する記述が多かった。

(2) その他:検査管理及び実施体制について、気になる点等ありましたら自由に記載して下さい。

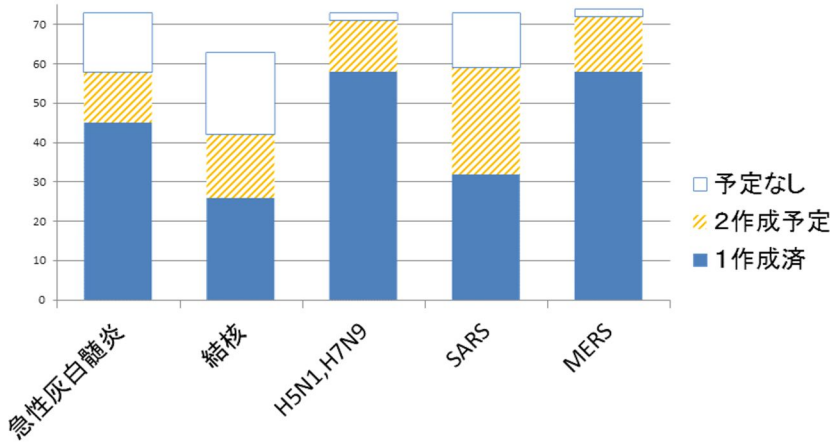
県市の別	意見等
<b>(信頼性確保部門関連)</b>	
県	(1)検査実施体制に保健所を含めている自治体数・(2)保健所が含まれる場合、信頼性確保部門管理者また連絡・調整など実務を行うものの勤務公署・(3)信頼性確保部門の連絡・調整など実務を行うものの職位・(4)保健所の検査実施体制やSOPの準備状況についてご教授頂きたい。
市	信頼性確保部門を担う企画調整担当の業務拡大に伴う人員配置が不十分である。また、検査部門を担う微生物担当においても、法改正により業務増大しているものの、人員増の要求は厳しい状況である。
県	(2) 次年度以降変更を検討中 ・信頼性確保部門管理者については、来年度以降所内での担当者の確保が難しい状況であるが、他所属で担当する見通しも立っていない。 ・また、信頼性確保部門に感染症に関する専門知識を持った人材を当てるのが困難で、十分な機能を発揮できないおそれがある。
県	本庁主管課に信頼性確保部門管理者を置くことを断られたので、所長にお任せしているが、経費がかかる改善措置に関しては、予算的な保証が取れないので、実効性に不安がある。
県	信頼性確保部門責任者は、食品の食品衛生検査管理監に、兼務でお願いしている状況である。双方の業務量の増大と内部点検項目の充実の観点から、将来的には分けて設定することが必要になるのではないかと感じる。
<b>(検査部門の人員関連)</b>	
県	・ウイルス検査担当者が2名のみで、複数の検査項目が重複した場合、検査工程の見守り等を担当する職員の確保に苦慮する。 ・閉庁時に実施する検査において、検査工程の見守り等を担当する職員の確保に苦慮する。
市	検査員の異動の間隔が短く、人材育成が追い付かない。
県	機器の更新・点検に必要な費用及び検査を実施する人員を確保できる見込みが立っておらず、非常に苦慮している。
県	当所の病原体等検査業務管理要領では、区分責任者が全ての検査について結果を最終確認し、成績書作成を指示するよう規定されているが、検体数増加により区分責任者1人では確認しきれないおそれがある。また、区分責任者不在時の対応に課題がある。
県	・人材面では、ベテランが退職後、若手職員の比率が増加したが、ジョブローテーション等により核になる職員(中堅・ベテラン)の確保が厳しい状況にある。 ・検査は単純化されてきているが、反対に求められる判断・知識の専門性は増しており、OJTのみの育成では効果が得られにくい状況にある。 ・にわか知識では検査現場全体を把握・管理していくことが難しくなっており、管理者側の切磋琢磨も必要と考えている。
市	信頼性確保部門を担う企画調整担当の業務拡大に伴う人員配置が不十分である。また、検査部門を担う微生物担当においても、法改正により業務増大しているものの、人員増の要求は厳しい状況である。
市	全庁的な人員削減が行われており、検査担当者の人員確保が難しい。
他	係内は細菌系、ウイルス系それぞれに明確な分担がなく、全員がそれぞれに可能な範囲で検査に対応している。対応可能な検査項目が少ないが、現状では当所で可能なものは一通り実施してしている状況であり、現状ではこれ以上の業務拡張(項目拡大)は困難と考えている。
他	感染症担当が2名しかおらず、緊急時の対応に苦慮している。 備品購入費の予算措置条件が「国庫補助の充当見込み」であるため、今年度のように補助金を減額されると計画的な備品購入(更新)に支障をきたす。
県	(2) -1上:ケースバイケースだが、少なくとも2名以上 (2) -1下:電話等による確認・報告を含む ・数少ない検査員の年齢性別構成が偏っており、且つ業務の高い専門性から、出産・育児休業中の代替職員の確保が困難で、仮に確保されたとしても機能不全に陥る危惧を抱いている。
県	法改正により、事務作業、検査業務は増えるが人員増は難しいのが現状。
市	人事異動が頻繁にあり、適正な人材を確保することは難しい。

(機器設備更新増設・保守点検を含む予算関連)	
県	平成 28 年度における感染症発生動向調査事業の国庫負担金の交付額があまりに少額だったため、法改正に伴い新たに必要となった機器の購入ができない状況にある。また、機器更新計画の見直しが必要となり、性能に不安を抱える機器により検査せざるを得ない状況にあり、検査精度を担保できない可能性がある。
県	機器の更新・点検に必要な費用及び検査を実施する人員を確保できる見込みが立っておらず、非常に苦慮している。
県	予算面では、検査機器(備品)の更新等が後手後手になり、全体的に苦慮している。
他	法改正に伴い精度管理費に要する国庫負担金の基準額の増額はあったが、一方で感染症基盤整備事業防疫用備品費負担金がカットされ、検査機器整備の長期計画が見通せなくなり不都合を感じている。
市	市の財政が厳しいなか、検査機器及び検査費等の予算確保が難しい。
県	検査機器の更新について、今年度、国庫補助(感染症予防事業費:防疫備品)が要求通りにつかず、予定通りに備品の更新ができなかった。
県	病原体検査要領の適用範囲(1類、2類および新型インフル)外の検査は「適用外」との判断になり、機器の保守や整備がしにくい。
県	機器設備の更新等については、国費 1/2 のため県費の調達が不可欠であり、その部分が確保できず活用が困難である。
市	全国から要望が急増したために今年度は各自治体 1~2 台分しか認められなかった感染症予防事業費負担金が、次年度以降どのようになるのか心配している。
市	全市的に予算が削減される中、各検査担当から優先度を考慮して保守点検費用を要求している。厚生労働省からの通知で保守点検を行わなければならない機器を明示した通知を発出していただくと予算の確保が少しは行いやすくなると思う。
他	備品購入費の予算措置条件が「国庫補助の充当見込み」であるため、今年度のように補助金を減額されると計画的な備品購入(更新)に支障をきたす。
他	平成 29 年度は BSL2 レベルの設備について今までどおりの保守点検を行うだけなので現状維持はできる。当所には BSL3 の設備がないため、このたびの法改正を機に予算要求したが、多額の予算が必要なため 29 年度は予算不採択となった。BSL3 の設備を整備する場合の補助金を別枠で設けてほしい。また、BSL3 の設備を設置する場合には保守点検費用は足りるかどうか不明。
県	点検費用は経常経費内でまかなう事になり、現在の各事業から削れる予算が殆ど無く、終了する事業はほぼない状況での予算確保は非常に厳しく、50%国費負担であっても残り50%の県費の予算確保がままならない状況。本来は毎年業者点検すべき機器を、それなりに動いているからと職員が点検した事にせざるを得ない状況で、この先シーリングがかかり予算が更に削減される事を考慮すると先行きを非常に心配している。
他	機器の保守費用に対する補助金は新設されたが、メーカー保守期間を過ぎた機器を更新するための費用(病原体等検査用備品費)は、今年度減額査定された。補助金の拡充を希望する。
県	(2) -1 前年度、検査部門で最低限必要と考えていた額を予算要求していたにもかかわらず、国の補助金上限を楯に減額された。
県	(2) -3 多数の機器があり、複数年で少しずつ更新しているため、単年度で見れば全く不足である。
県	保守点検費に関しては、圧倒的に不足している(現状の2倍額は必要)
市	機器の保守や試薬管理を適正に実施するためには予算が必要であるが、新規での要求では難しい。
県	検査機器は高額で財政からリースを考えると言われる。検査機器のリース料も国の補助の対象となったが、保守経費と同じ精度管理費枠のため、検査機器をリースすると保守経費の補助がなくなってしまう。リース料と保守経費と別枠にしてほしい。
県	備品購入費の 5 割補助では備品を購入することができないため、10 割補助が良い。
県	高額機器更新の際、リース充当予算枠が少ないためにリースを検討できない。高額機器のメーカーにおける更新期間が短いために保守契約等への柔軟な対応が可能なリース契約の検討も必要と考える。
市	前設問で「わからない・不明」とした理由:29 年度予算に、遺伝子検査機器の点検及び機器の更新を要求しているが現時点では議決前なので見直し等について「わからない・不明」とした。
県	機器の保守点検費用については、本庁に予算要求中。更新する機器は、現在のところない。

(検査管理体制全般に関連するコメント・疑問)	
県	当自治体では、病原体検査の管理体制について未だ協議中であり骨格も未決定である。細菌検査については、大半の感染症事例(三～四類)、食中毒事例(三～四類)ともに探知後の検査は保健所での対応であることから、当所において臨床検体を扱うことはまれである。そのため、当所の細菌検査の SOP は、保健所での検査終了後に搬入された菌株の性状確認検査について整備しているところである。なお、一部の感染症事例および食中毒事例の中で、保健所で原因菌を確定させることができなかった場合や、より詳細に確認する必要がある場合においては、その原因菌究明検査について担当することがある。しかしながら、これらは決まった SOP 等で対応できるものではなく、臨機応変に対応しているところである。つまり、これらの特別な原因究明検査については、菌株の確認検査について前述 SOP を使用しているが、検体からの分離培養等を含むその他検査については、現時点で SOP 整備をしていないのが現状である。
県	三類感染症については、事例発生の仕分けとして「感染症」または「食中毒」としての届出があると思われる。食中毒であったとしても NESID 上での患者および保菌者の届出は必要であるが、これら食中毒事例発生時の検査についても、「検査施設における病原体等検査の業務管理要領」の規定が適応されると考えて良いのかご教示願いたい。
(SOP,EQA 関連)	
県	検査精度の向上から、外部精度管理に参加することは意義があるが、日常業務の兼ね合いから参加する項目数は限定される。
県	外部精度管理調査において、評価について明記されていない場合、改善措置の必要性についての判断に苦慮する。
県	外部精度管理を受ける必要性は感じているが、精度管理のための費用は確保されておらず、また人員にも限りがあり、対応に苦慮している。
県	外部精度管理を受ける必要性は感じているが、1 年間に受けられる項目数には予算及び人員に限りがあり、対応に苦慮している。
市	3,4,5 類感染症検査に使用する、試薬、機械器具等の管理について、信頼性確保部門から管理簿の作成を指示されている。法律上は必要ないと思うが、作成すればより検査の信頼性が担保される。このあたりの他都市の運用(作成)状況等、確認できればありがたい。
県	結核菌検査については、当所では VNTR 検査のみ対応していることから、一般的な培養や薬剤感受性検査については SOP を整備していない。百日咳菌検査(五類)については、LAMP 法のみ対応している。レジオネラ症(四類)、A 群溶血性レンサ球菌感染症(五類)については、臨床検体から検査対応している。以上を踏まえ、(3)に回答する。
県	ノロウイルスの検査マニュアルを感染研より公表していただきたい。
県	食品 GLP の SOP と使用が重なる機器については、点検簿は1つにまとめて良いか。

県は都道府県、市は指定都市、他はその他の市区。

(3)SOP, 標準品, EQA-二類感染症  
標準作業書(SOP)-二類感染症



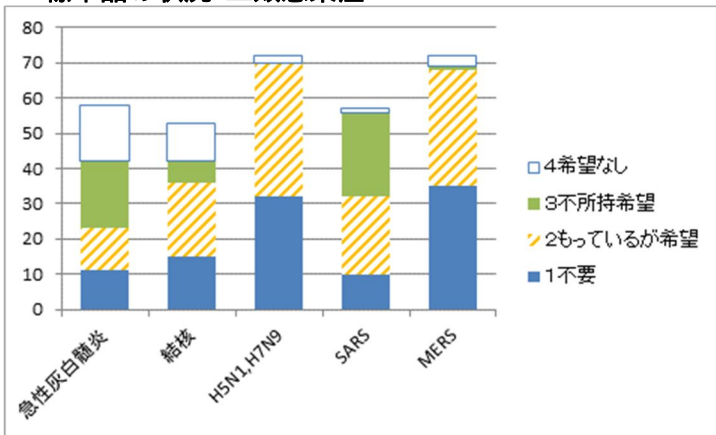
75機関が回答。

- ・SOP整備状況は、最近国から標準品の配布があり、二類感染症となった鳥インフルエンザ及びMERSについては、作成済機関が77%にあたる58機関にのぼった。
- ・標準品はSOP作成済若しくは予定している機関について集計したところ、SARS,急性灰白髄炎及び結核について不所持であるため配布を希望する機関があり、所持しているが配布を希望する機関は、調査した全ての二類感染症についてみられた。
- ・EQA（外部精度調査）のニーズは鳥インフルエンザが最も高く、SARSが低かった。急性灰白髄炎及びSARSは未定の機関が多かった。

SOP整備状況

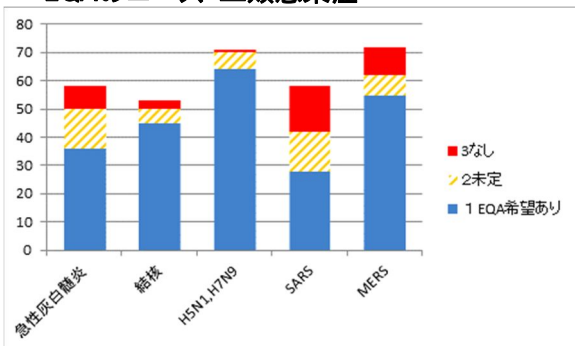
	急性灰白髄炎	結核	H5N1,H7N9	SARS	MERS
1作成済	45	26	58	32	58
2作成予定	13	16	13	27	14
3予定なし	15	21	2	14	2

標準品の状況-二類感染症



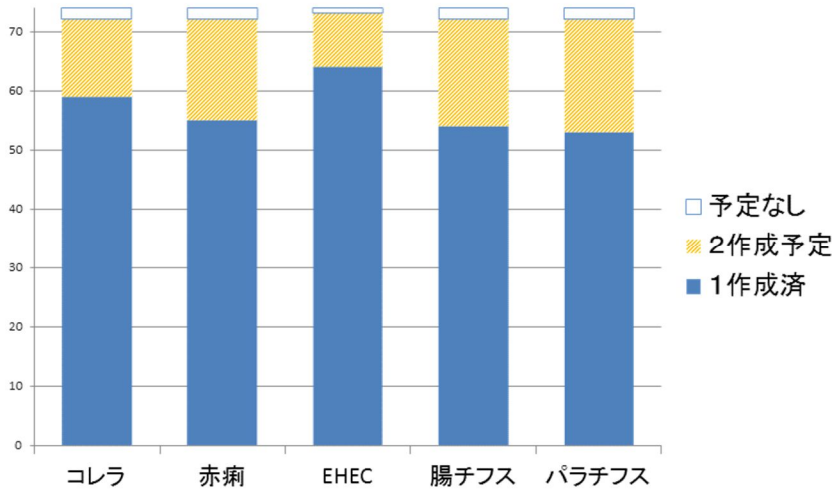
	急性灰白髄炎	結核	H5N1,H7N9	SARS	MERS
1不要	11	15	32	10	35
2もっているが希望	12	21	38	22	33
3不所持希望	19	6		24	1
4希望なし	16	11	2	1	3

EQAのニーズ-二類感染症



	急性灰白髄炎	結核	H5N1,H7N9	SARS	MERS
1EQA 希望あり	36	45	64	28	55
2未定	14	5	6	14	7
3なし	8	3	1	16	10

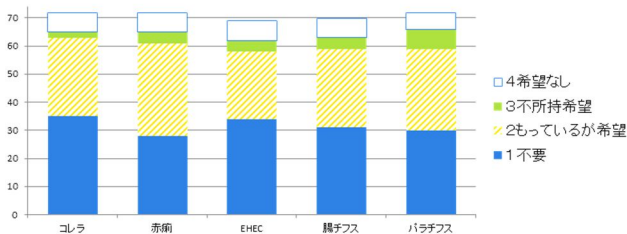
(3)SOP, 標準品, EQA-三類感染症  
標準作業書(SOP)-三類感染症



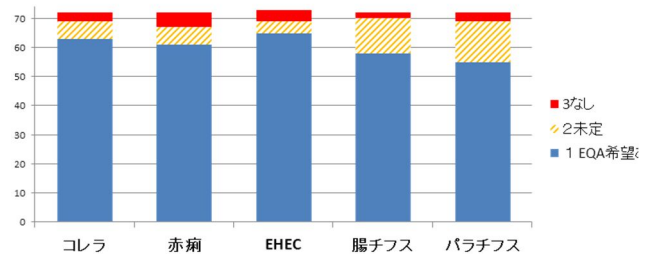
- 74機関から回答があり、SOP作成は予定の機関を含めて72-73機関と極めて高率であった。
- 標準品配布を希望する機関は、現在所持不所持を合わせるとほぼ半数を占めた。
- EQAを希望する機関数は、疾患別に65~55と高率であった。

	コレラ	赤痢	EHEC	腸チフス	パラチフス
1作成済	59	55	64	54	53
2作成予定	13	17	9	18	19
予定なし	2	2	1	2	2

標準品の状況-三類感染症



EQAのニーズ-三類感染症



標準品の希望

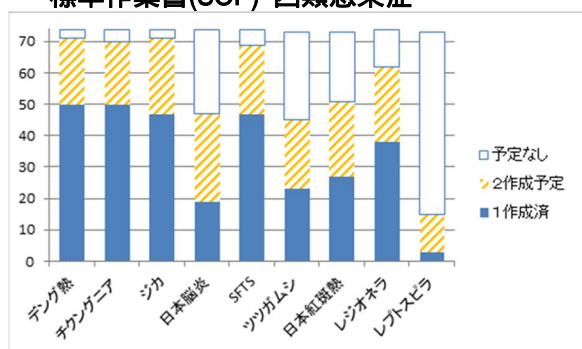
	コレラ	赤痢	EHEC	腸チフス	パラチフス
1不要	35	28	34	31	30
2もっているが希望	28	33	24	28	29
3不所持希望	2	4	4	4	7
4希望なし	7	7	7	7	6



### EQAのニーズ-三類感染症

	コレラ	赤痢	EHEC	腸チフス	パラチフス
1EQA 希望あり	63	61	65	58	55
2未定	6	6	4	12	14
3なし	3	5	4	2	3

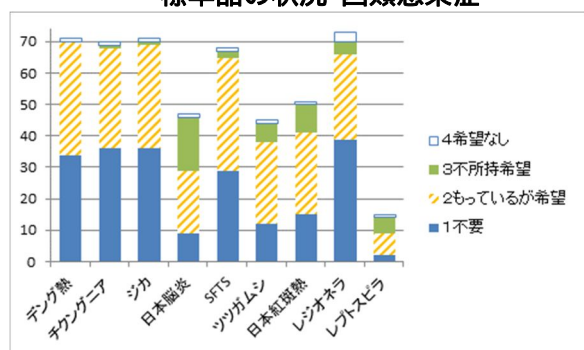
### (3)SOP, 標準品, EQA-四類感染症 標準作業書(SOP)-四類感染症



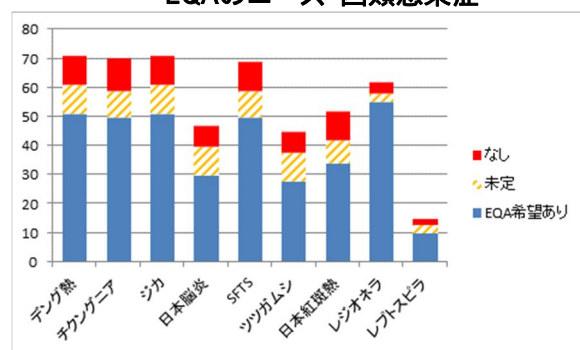
74機関から回答があり、ウイルス感染症のなかで主に遺伝子検出を行うデング熱、チクングニア、ジカウイルス感染症、SFTSは47-50機関がSOP作成済、作成予定をあわせると69-71機関を占めた。ついでレジオネラが38機関（予定を含めると62機関）であった。一方日本脳炎、ツツガムシ病、日本紅斑熱は作成予定のない機関が1/3を占めた。レプトスピラのSOP作成機関は、予定を合わせても15機関と少なかった。

	デング熱	チクングニア	ジカ	日本脳炎	SFTS	ツツガムシ	日本紅斑熱	レジオネラ	レプトスピラ
1作成済	50	50	47	19	47	23	27	38	3
2作成予定	21	20	24	28	22	22	24	24	12
予定なし	3	4	3	27	5	28	22	12	58

### 標準品の状況-四類感染症



### EQAのニーズ-四類感染症



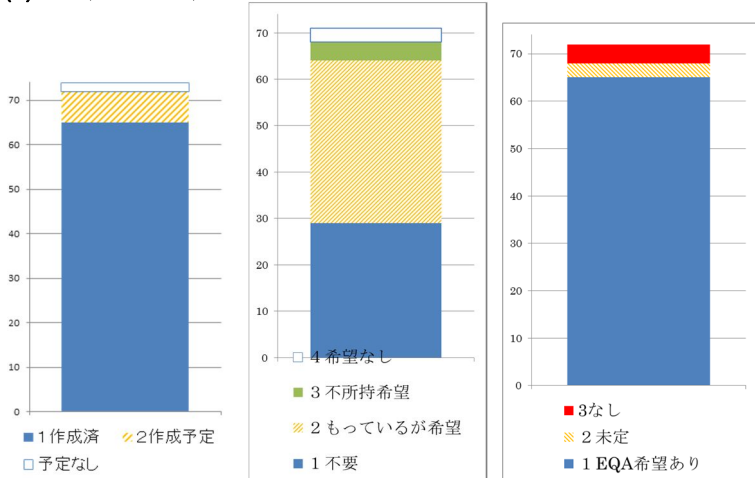
### 標準品の状況-四類感染症

	デング熱	チクングニア	ジカ	日本脳炎	SFTS	ツツガムシ	日本紅斑熱	レジオネラ	レプトスピラ
1不要	34	36	36	9	29	12	15	39	2
2もっているが希望	36	32	33	20	36	26	26	27	7
3所持希望	0	1	1	17	2	6	9	4	5
4希望なし	1	1	1	1	1	1	1	3	1

### EQAのニーズ-四類感染症

	デング熱	チクングニア	ジカ	日本脳炎	SFTS	ツツガムシ	日本紅斑熱	レジオネラ	レプトスピラ
EQA 希望あり	51	50	51	30	50	28	34	55	10
未定	10	9	10	10	9	10	8	3	3
なし	10	11	10	7	10	7	10	4	2

(3)SOP, 標準品, EQA-五類感染症 季節性インフルエンザ

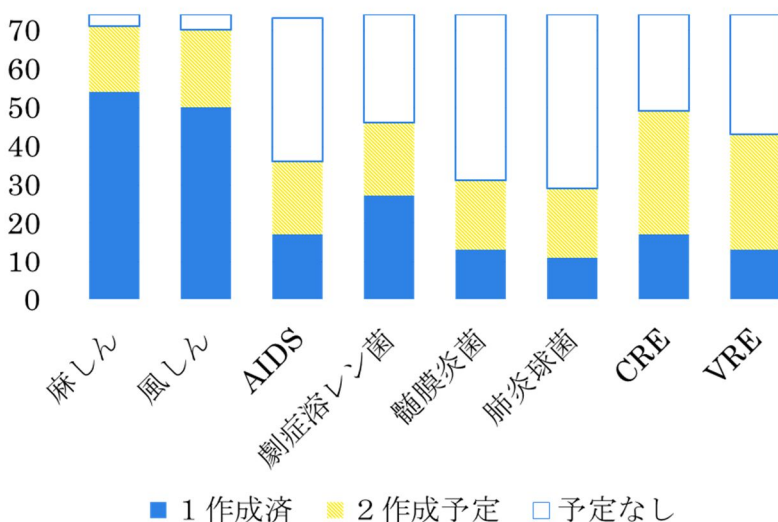


- ・季節性インフルエンザについて74機関から回答があり、SOPは2017年11月の時点で65機関が既に作成済、7機関が作成予定であった。
- ・標準品は不所持と回答した機関は4機関のみであったが、配布を希望する機関は併せて39と過半数を占めた。
- ・EQAは今年度厚生労働省により実施されたこともあってか65機関が希望していた。

SOP, 標準品, EQA-季節性インフルエンザ

		標準品		EQA 参加	
1作成済	65	1不要	29	1EQA 希望あり	65
2作成予定	7	2もっているが希望	35	2未定	3
予定なし	2	3不所持希望	4	3なし	4
		4希望なし	3		

(3)SOP, 標準品, EQA-五類感染症  
標準作業書(SOP)-五類感染症



74機関から回答があり、麻しん・風しんは高率であった。エイズ(HIV検査)、侵襲性髄膜炎菌感染症及び侵襲性肺炎球菌感染症は、SOP作成予定のない機関が過半数を占めた。

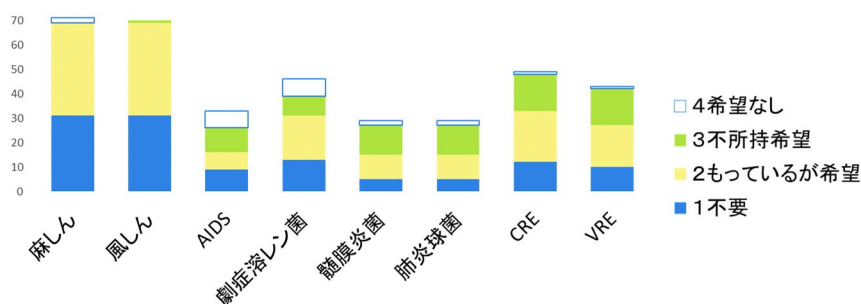
標準作業書(SOP)-五類感染症

	麻しん	風しん	AIDS	劇症溶レン菌	髄膜炎菌	肺炎球菌	CRE	VRE
1作成済	54	50	17	27	13	11	17	13
2作成予定	17	20	19	19	18	18	32	30
3予定なし	3	4	37	28	43	45	25	31

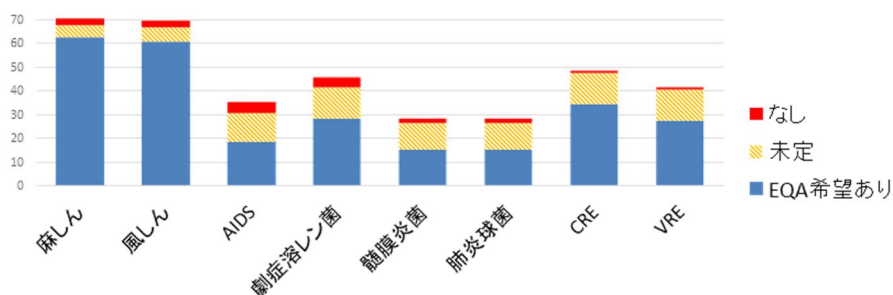
標準品の状況-五類感染症

	麻しん	風しん	AIDS	劇症溶レン菌	髄膜炎菌	肺炎球菌	CRE	VRE
1不要	31	31	9	13	5	5	12	10
2もっているが希望	38	38	7	18	10	10	21	17
3不所持希望	0	1	10	8	12	12	15	15
4希望なし	2	0	7	7	2	2	1	1

### 標準品の状況-五類感染症



### EQAのニーズ-五類感染症



### EQAのニーズ-五類感染症

	麻しん	風しん	AIDS	劇症溶レン菌	髄膜炎菌	肺炎球菌	CRE	VRE
1EQA 希望あり	63	61	19	29	16	16	35	28
2 未定	5	6	12	13	11	11	13	13
3 なし	3	3	5	4	2	2	1	1

### (3) 標準作業書(SOP)-その他作成状況

感染症名	機関数	備考
ジフテリア	3	二類
A型肝炎	19	四類
E型肝炎	12	四類
ウエストナイル熱	5	四類
急性脳炎	5	五類全数
多剤耐性アシネトバクター感染症	3	五類全数
感染性胃腸炎	24	五類定点
手足口病・ヘルパンギーナ	20	五類定点
咽頭結膜熱	19	五類定点
RSウイルス	14	五類定点
流行性耳下腺炎	13	五類定点
無菌性髄膜炎	12	五類定点
流行性角結膜炎	12	五類定点
百日咳	12	五類定点
水痘	8	五類定点
突発性発疹	6	五類定点
伝染性紅斑	6	五類定点
A群溶レン菌感染症	6	五類定点
出血性結膜炎	3	五類定点

36機関からのべ244項目について作成済との回答があった。

**(3) 標準品の要望(本調査対象以外の感染症に関するもの)**

32機関より具体的な回答があげられた(おおよそ病原体別リストを下表に示す)。

具体的な病原体名に加えて、「感染性胃腸炎」「呼吸器疾患の病原体」「脳炎の病原体」等診断名に対する包括的な対照品の要望が計7機関よりあった

感染症名	機関数	備考
突発性発しん	6	五類定点
E型肝炎	5	四類
(感染性胃腸炎)	5	五類定点
エンテロウイルス	5	五類定点
伝染性紅斑	5	五類定点
百日咳菌	5	五類定点
アデノウイルス	4	五類定点
水痘	4	五類定点
A型肝炎	3	四類
ノロ・サポ・アストロウイルス	3	五類定点
RSV	3	五類定点
侵襲性インフルエンザ菌感染症	2	五類全数
マラリア	2	五類全数
流行性耳下腺炎	2	五類定点
(急性脳炎の病原体)	2	五類全数

**(3) EQA実施の要望(本調査対象以外の感染症に関するもの)**

感染症病名・病原体名等	機関数	備考
エンテロウイルス	5	五類定点
感染性胃腸炎	4	五類定点
ノロウイルス	3	五類定点
百日咳菌	3	五類定点
侵襲性インフルエンザ菌感染症	2	五類全数
マラリア	2	五類全数
A群溶レン菌感染症	2	五類定点

**(3) その他:SOP、陽性対照の確保、EQAに関する意見(自由記載)。**

原文のうち「です、ます」調を「である」調に統一等、一部文章に手を加えています。

**(3) その他:SOP、陽性対照の確保、EQAについて意見がありましたら自由に記載して下さい。**

県市の別	意見等
	(SOP)
県	可能であるならば、SOPの整備が完了、あるいは完了見込の地衛研のSOPを公開していただき、雛型とさせていただきたい。 感染研ホームページの病原体検出マニュアルをもっと充実させ、各地衛研のSOP整備の後押しをお願いしたい。
市	当所では法改正以前からSOPを作成しているが、その際、感染症名ではなく病原体名で作成しており、とりあえずそのまま使用している現状。
市	SOPの作成は、感染症毎に作成することになっている。一つの感染症の原因は、一つのウイルスとは限らないため、検査現場にそぐわない。ウイルス(微生物)毎に作成する方が作成しやすい。
県	SOPについてはすべてを準備すべきであるが、検査をしているもののみを整備するという理解でも良いのか。
市	作成予定なしのSOPについて、今後検査が生じる場合には作成予定。

市	当市においては、腸管出血性大腸菌などの3類感染症の接触者調査は、法第17条に基づく検査として実施しており、担当課からは法第15条による検体搬入の予定がない旨の報告を受けているため、該当するSOPについては現在作成していない。
県	SOPを作成しなければならない疾患が多く、随時必要性に応じ優先順位をつけ、作成しているが、そのための事務量が多く、忙殺されている。
他	当所のSOPの多くは文章形式ではなく作業手順チェックシートの体裁をとっている。この是非についてはいろいろな見解があるかとは思っているが、実際の作業を円滑に進める上で必要にして十分な記録管理を行うことができるので、当面は作業手順チェックシートを中心としたSOPの整理を行っていると考えている。
市	EQA実施にあわせて、対象とする病原体のSOPの例示があればありがたい。
県	・結核菌については、結核菌VNTR型別検査を実施しており、SOPは作成済み、陽性対象は保持しており配布は不要で、EQAの参加は希望する。 ・カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症については、薬剤耐性遺伝子検査を実施しており、SOPは作成済み、陽性対照は保持しており配布は不要で、EQAの参加は希望する。
他	感染研の病原体マニュアルを充実してほしい。
県	SOPについてウイルスやリケッチアの遺伝子検査について「今後作成予定」と回答しているものは、現在、各検査について「作業手順・記録書」に基づいて対応し記録し、泳動結果やリアルタイムPCRでのプレート結果を付しており、検査区分責任者が、「作業手順・記録書+目視可能な結果」で結果の確認を行い、データのさかのぼりもできるようにしている。
市	細菌感染症について、どの程度SOPを作成すべきかわからない。
県	SOP作成の基となる「病原体検出マニュアル」の内容を充実していただきたい(感染性胃腸炎はロタウイルスについてのみで、他の起因ウイルスについての記載もお願いしたい)。
県	レジオネラ検査については、感染症法に基づくSOPはないが、県で「レジオネラ症患者発生対応マニュアル」を作成しており、その中で検査法のSOPの記載がある。
県	国立感染症研究のHPで、病原体検出マニュアルが、未整備のものがあるので、整備してもらいたい。
<b>(標準品、陽性対照)</b>	
県	陽性対照の配布にあたっては、菌株かDNAかの調査をして頂きたい。
他	現在、当所において、ウイルスの分離培養検査は未整備のため、陽性検体を陽性対象として確保することが不可能である。また、検査実績のない細菌についても陽性対照がないのが現状である。このため、特にウイルスの陽性対照については、配付を強く希望する。
他	陽性対照はこれまでも多くを様々な形で分与されてきているため、保有しているものもあるが、一定期間ごとに(定期的)更新を図る必要があるのではないかと考える。
県	陽性対照については対象とする検査内容によっては、既保有のものが活用できない可能性も考えられるため、その場合は配布をお願いしたい。
県	稀にしか検査依頼がないが、E型肝炎の陽性対照の配布を希望。
市	陽性対照について、過去に国から配布されたものの履歴があればご教示頂きたい。
他	当所はBSL3の設備がないため、結核菌等の菌株の陽性対照は取り扱えない。上記で陽性対照があると回答した中には遺伝子検査用の陽性対照のみの場合がある。
県	・結核菌については、結核菌VNTR型別検査を実施しており、SOPは作成済み、陽性対象は保持しており配布は不要で、EQAの参加は希望する。 ・カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症については、薬剤耐性遺伝子検査を実施しており、SOPは作成済み、陽性対照は保持しており配布は不要で、EQAの参加は希望する。
市	4類マラリア、5類赤痢アメーバなど形態学的に診断するための陽性コントロール(標本)を配布してほしい。
県	・日本脳炎の陽性対照について遺伝子5型を配布してほしい。 ・コンタミ等一目でわかるようなリコンビナントの陽性対照がほしい。
県	日本紅斑熱やつつが虫病、レプトスピラ症等は陽性対照の配布があれば、臨床検体の遺伝子検査実施を検討したいと考えている。
市	細菌の陽性対照は菌株の配布を希望します。

(EQA)	
県	EQA を実施する場合は、評価についても示していただきたい。
市	外部精度管理を行った後に、必ず結果に対する解説と注意すべき点を加えてほしい。フォローアップ研修もぜひ行って、衛生研究所全体の検査レベルの引き上げを図ってほしい。ただし、長期の研修は人員不足の施設では参加が難しいと考えられるため、短期間のポイントを押さえた研修を希望する。
市	細菌、ウイルス各分野で年1回ずつの実施を希望する。
県	細菌とウイルスについて、それぞれ毎年 EQA をして欲しい。
県	EQA については、遺伝子検査のみが対象のように思えるが、地研の立場としてそれだけで良いのか。分離は不要なのか？
県	全国的に発生が多い(届出の多い)感染症や輸入感染症を優先して対象にして欲しい。
県	EQA については、機器の更新やメンテナンス等、検査体制整備に必要な予算要求につながる視点を加えて実施してもらえれば助かる。
市	毎年全ての項目のEQAに参加することは、人員・予算の面から不可能である。
市	外部精度管理について、参加の希望はあるが、人力的理由により、希望する項目すべてを行うことは難しい。
他	EQA は実施されるなら可能な範囲で積極的に参加したいと考えている。
県	後天性免疫不全症候群(AIDS)については HIV 薬剤耐性変異の研究班が実施する EQA に継続参加中であり、HIV 検査の研究班が計画している EQA にも本年度参加予定。
市	EQA 実施にあわせて、対象とする病原体の SOP の例示があればありがたい。
県	保健所も参加できるようにして欲しい。
県	EQA の案内は前年度(または4月上旬)に行ってほしい。
県	・結核菌については、結核菌 VNTR 型別検査を実施しており、SOP は作成済み、陽性対象は保持しており配布は不要で、EQA の参加は希望する。 ・カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症については、薬剤耐性遺伝子検査を実施しており、SOP は作成済み、陽性対照は保持しており配布は不要で、EQA の参加は希望する。

県は都道府県、市は指定都市、他はその他の市区。

#### (4)保健所・衛生検査所等の外部精度管理への協力

	実施 衛研 数	対象機 関数計	配布数の分布									
			23	21	10	7	6	5	4	3	2	1
保健所	14	81	1		1	2	1	1	3	2	2	1
衛生検査所	9	66	1	1				1	1	3	2	
その他	3	10					1			1		1

17機関が実施していた。

(5)その他:法に基づく検査が開始されて改めて気づいたこと、コメント等記載して下さい。

県市の別	意見等
<b>(地研内の検査体制及び地研間連携関連)</b>	
他	検査室のレイアウト, 機器の整備について, 再考する必要を感じた。
県	感染症法改正に依頼検体が整理された反面、弾力性の低下が懸念される。発生動向調査のどの項目にも含まれず、かつ保健所が動かないような症例をどのように扱うべきかに苦慮する場合がある。
市	人員が担保されないの、検査結果報告が従来より遅れる。
市	感染症は、高感度で迅速な診断、感染拡大防止が最優先されるべきと思うのだが、精度管理の導入で検査に時間がかかり、高感度というよりは再現性等が優先されこれでのよいのかと思うことがある。 従前に比して、検査の時間、手間がかなり増えている。 検査に携わる人員が足りない。 検査の透明化妥当性、わかるが、手間とコストがかかり、そこまで必要なのかと疑問に思うことがある。
他	試験検査の実施記録を丁寧にとることの必要性を改めて認識している。実施した実験の説明がきちんとつけられるような記録はどのようなものであるべきか、模索及び改良を継続しながら、少しずつ向上を図っていきたいと考えている。
県	書類の作成・管理が煩雑となっており、人員増が見込めない昨今、もう少し簡略化できないものかと考えている。総論的に検査手技を全国的に統一し、どの自治体で実施しても同じ結果が得られる、という法改正の主旨は理解できるが、衛生「研究所」が「検査所」になってしまわないかという懸念も残る。衛生研究所設置の法的根拠も含め、法律上の重責に見合った裏付けがあればと考える。
県	計画的に収去をを行う食品 GLP に関わる食品検査と違い、感染症においては、突発事例、集団発生事例等、実際に事件が発生すれば事務作業を行う時間が取りにくい。
県	県の予算の総枠は決められているので、機械の保守点検費や精度管理費用等の間接経費がかさむと、検査に当てる費用がその分だけ削減され、検査ができない状態に追い込まれかねない
県	感染症法改正に依頼検体が整理された反面、弾力性の低下が懸念される。発生動向調査のどの項目にも含まれず、かつ保健所が動かないような症例をどのように扱うべきかに苦慮する場合がある。
県	マニュアルを整備すれば検査を実施できるという理解だが、実際にはコスト、人的問題でできない場合も想定される。そのような場合の検査の依頼先は感染研であるが、必ずしも感染研がすべての検査を受け入れてくれる訳でもないため、地研間での行政依頼の枠組みがあった方が良いのではないか。
<b>(厚生労働省・感染研に関するコメント・願望)</b>	
県	衛生研究所設置の法的根拠も含め、法律上の重責に見合った裏付けがあればと考える。
県	検査の質を確保するためには、財源確保が最も重要と考える。国は法改正後、当面、国庫負担金の交付額を増額すべきと考える。
市	検査室の改造、改修に係る費用についての助成措置をお願いしたい。 法に規定された検体検査についての試薬類の配布をご考慮していただきたい。
県	高額機器の更新費用の捻出が困難な状況にあり、国庫補助金の補助率を上げたり、対象品目の拡大が望まれる。
県	病原体検出マニュアルが作成されていない病原体について SOP の作成が困難。
<b>(本庁等自治体内他機関との関係に関するコメント)</b>	
県	医療機関や保健所の理解と協力がきわめて重要であることを再認識している。
県	食品 GLP ほどの切実さが、本庁主管課サイドにない。食品検査では回収命令等の行政処分があるので、裁判になっても負けないように厳格にするのだろうが、感染症検査の場合は、そこまでする必要がないとの認識のようだ。
<b>(感染症担当行政機関以外の医療機関等に関するコメント)</b>	
他	改正感染症法に基づく定点等医療機関からの検体数の確保が難しい状況であり、依頼課を通じ、医療機関への周知を依頼している。
県	医療機関や保健所の理解と協力がきわめて重要であることを再認識している。
県	「法で定められた」ということで、医療機関が身構えた部分があり、検体採取意欲が萎縮した定点が出ている。
県	病原体定点からの検体確保が難しい。

県	法に基づく検査開始前に県で実施要領を作成していた項目については、整合性を含め再度関係機関と協議しなければならない。 県は都道府県、市は指定都市、他はその他の市区。
---	--



## 項目小班活動状況

平成28年度全体班会議

日時: 2017年1月11日(水)

場所: 国立感染症研究所 共用第二会議室

項目小班 ・精度管理項目の精査 ・他施設等の状況把握等	皆川 (愛知) 15名	佐野(名古屋) 猿木(群馬) 香月(福岡) 山本(大阪府) 岸本(岡山) 大井(東京) 滝澤(富山) 末吉・調(山口) 四宮(愛媛) 岸本剛(埼玉県) 脇田・宮崎・大石(感染研)
-----------------------------------	-------------------	---

**厚生労働科研 佐多班(H26, H27年度)を引き継ぐ形**(平成28, 29年度 2年計画)  
5月10日～ 地全協理事会後 一部関係者と打合せ  
感染研細菌第一部 大西部長、分担研究者らと打合せ  
10月25日(火) 項目小班会議(地全協精度管理部会と合同開催)  
11月29日 アンケート発送(精度管理部会・感染症対策部会分と同時)  
12月25日 回答締切 (81機関中80機関より回答協力あり)  
2017年1月11日(水) 全体会議

### H28項目小班アンケート17年1月時点のまとめ

1. 人員体制・点検費用・機器更新増設等予算  
信頼性確保及び検査部門区分管理体制はほぼ全ての機関で設置済  
但しマンパワーの確保(質・量とも)に多くの自治体が苦慮
2. 手順書(SOP): 主な二類、三類感染症については7割以上が準備済  
五類定点感染症については、病原体名か感染症疾患名(例:手足口病、感染性胃腸炎)毎か、は機関により分かれている。
3. 標準品についても、病原体(核酸のみ、菌株)以外に疾患名に基づく物品の配布希望が一部機関から寄せられた。
4. 外部精度管理調査の参加希望は、二類、三類についてはおおむね高率。
5. 他機関(保健所・管内衛生検査所等)への精度管理用検体提供等は、17機関が実施(主に細菌検査と思われる)。⇒29年度に詳細な調査?  
国立感染症研究所に加えて、一部の地衛研(支部で数か所)も検体提供を担当する素地はあると考えられる。

## 検査の質の確保に関する課題

1. 検査の質確保の目的が食品GLP、水質GLPとは異なる。
  - ・健康危機対応←迅速・定性(若しくは半定量)検査が主体
  - ・新興感染症の場合、新たな知見の追加に伴い検査手法・感度や場合によっては陽性の定義も随時変更されることがある
  - 検査の基準を予め厳密に決める(食品GLP,水質GLP)ことも大事だが、どのプロトコルで実施し、どのような結果が得られたか記録に残す、分離株が得られたら、感染研等と共有のうえ性状を確認する ことが大事
2. 手順書・記録・報告書の管理等、事務量が增大している。  
 感染症制御に必要な記録事務にウェイトを置き、付随的な事務の簡素化？
3. 効果的な研修手法の工夫。マンパワーの確保。
  - ・研修を受けた直後に検査と無関係な部署に異動するのは大きな無駄！
  - ・長期的視野に立った人材の計画的育成・確保(専門家のリクルート？)
4. 病原体名を限定しない、感染症疾患名(例:手足口病、感染性胃腸炎)毎の精度管理調査の必要性、必要な場合の地衛研にとって適切な手法の検討。

3

## 輸入感染症・新興再興感染症対応 vs 定点サーベイランス 求められる「検査の質」のポイントは異なる

	輸入感染症・新興再興感染症	定点サーベイランス
感染症の例	二類(鳥インフルH7N9, MERS) 三類(腸チフス, EHEC) 四類(デング熱, チクングニア熱) 五類(麻しん, 風しん)	五類(季節性インフルエンザ, 手足口病, 無菌性髄膜炎…)
検査手法	核酸検出(二類・五類)・病原体分離 同定(三類・五類)	病原体分離同定・核酸検出 性状解析(抗原性・薬剤耐性等.)
標準作業書・ 精度管理	共通化・標準化しやすい 標的となる病原体が限定される 検査感度の許容範囲設定・標準化	基本(標準)＋地域の特徴 全国的に検出すべき病原体に加え、 地域流行株の把握が可能なほうが よい
特記事項	検査結果が行動制限等行政対応に 直結 民間衛生検査所が未対応 (二類・五類)	SOP遵守の記録等に伴う事務量の 負荷が増加 病原体性状に係わる記録に特化した 事務量軽減？

## 項目小班 今後の検討事項(案)

1. アンケート結果解析及び26年度佐多班調査との比較検討
  - ・人員体制・点検費用・機器更新増設等予算
  - ・SOP、標準品、外部精度調査のニーズについて
  - ・事務量軽減に向けて、記録項目の検討(食品GLP,水質GLPとは異なる)
2. 手順書(SOP) 病原体別か診断名に沿ったものか
3. 診断名に基づく検査項目の標準化(標準品セット等)の必要性
4. 他機関(保健所・管内衛生検査所等)への精度管理協力に関する詳細な調査



## . 研究成果に関する刊行一覧表

## 別紙 4

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
	(該当なし)						

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
	(該当なし)				

. 資 料

## ウイルス小班・細菌小班合同 WG 会議

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）」班

### 平成 28 年度ウイルス小班・細菌小班合同 WG 会議 プログラム

日 時：平成 28 年 7 月 6 日（水）13 時 00 分から 18 時 00 分まで

場 所：国立感染症研究所共用第 3 会議室

1. 挨拶 国立保健医療科学院（厚生労働省） 武村 真治先生
2. 出席者紹介
3. 皆川 洋子（愛知県衛研）  
本年度の研究班活動計画について [pptx 資料 1]
4. 木村 博一（感染研）  
ウイルス外部精度管理計画の作成・検証（平成 27 年度佐多班）
5. 吉田 弘（感染研）  
今年度実施するウイルス関連調査研究計画について
6. 出席者全員  
ウイルス小班活動について
7. 大西 真（感染研）  
平成 27 年度佐多班で実施されたコレラ外部精度管理調査について
8.
  - 1) 大西 真、村上光一（感染研）滝澤剛則・磯部順子（富山県衛研）  
赤痢菌に関する外部「精度管理」調査（案）について
  - 2) 村上 光一（感染研）  
細菌に関する外部精度管理試行計画について
  - 3) 出席者全員  
細菌小班活動について
9. 皆川 洋子（愛知県衛研）  
今後の予定について（全体討論含む）



### 本年度の研究班活動計画について

平成28年度ウイルス小班・細菌小班合同WG会議  
 日時: 2016年7月6日(水) 13:00開始  
 場所: 国立感染症研究所共用第3会議室

**佐多班(H26, H27年度)を引き継ぐ形**

2015年12月	公募開始
2016年1月	研究計画書送付(平成28、29年度 2年計画)
2016年4月1日	内定通知
4月20日	交付申請書・分担研究承諾書等送付
4月26日	地全協理事会後 一部関係者と打ち合わせ
5月10日～	感染症研細菌第一部 大西部長、分担研究者らと打ち合わせ
6月	決定通知
7月6日(水)	<b>第1回 WG会議 (ウイルス・細菌) ←本日</b>
(時期未定)	<b>ウイルス ワークショップ</b>
(時期未定)	<b>細菌コアWG会議</b>
10月21日(火)	地全協精度管理部会
2017年1月11日(水)	全体会議

本日方向性を決めた事項  
 ・ウイルス小班: ワークショップの時期  
 試行の規模  
 ・細菌小班: WG会議の時期、場所、規模

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の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)**

1. 研究代表者: 佐多徹太郎(富山県衛生研究所)
2. 研究分担者: (地全協精度管理部会、感染症研レファレンス委員会等)

**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(さらに、**感染症発生動向調査、地衛研-感染症研のネットワークの維持**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。

参考: H27佐多班発足時 分担表(案) 2015.5.29

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(感染症研)
ウイルス小班 「精度管理」実施 要領・手順(案)作成 報告書	辻 (山口) 21名	木村・野田・長澤(感染症研) 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) 菅川・山下(愛知) 濱崎(福岡) 松島(川崎) 宮崎・駒越・影山・吉田(感染症研)
細菌小班 「精度管理」実施 要領・手順(案)作成 報告書	?	世良(福岡) 勢戸(大阪) 清水・森本(北海道) 太田(横浜) 四宮(愛媛) 佐多・磯部(富山) 望月(兵庫) 倉岡(埼玉) 大石・大西・鈴木・緒方(感染症研)
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

原案者: 中田ほか

- ### H26、27年度の研究結果の概要
1. 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  
→全79地衛研から回答。現状の把握。
  2. ウイルス小班とWGで外部精度管理等を実施(ウイルス24名)  
→ノロウイルスのリアルタイムPCRで実施、59地衛研の参加。  
→シーケンス・系統樹解析の調査実施、82地衛研参加。  
→リアルタイムPCRのトラブルシューティング研修実施、10地衛研参加。  
→手足口病の調査案の作成
  3. 細菌小班とWGで外部精度管理等を実施(細菌17名)  
→サルモネラ属菌分離同定について実施、11地衛研参加。  
→コレラ菌の調査実施、74地衛研参加。  
→赤痢菌の調査案の作成
  4. 外部精度管理実施要綱(案)の作成から提言(体制13名)  
→これまで地衛研で行ってきた研究資料を収集し、素案の作成を行った。  
→研究班参加者に意見照会し概要をまとめた。
  5. 参加者へのご意見照会(全53名)  
→1)体制・調査等、2)新人教育研修、3)手足口病や細菌性赤痢調査検討項目

### H27佐多班: 検討課題 (改定20160201)

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、**外部「精度管理」、内部「精度管理」支援、研修の3つを関連・一体化させた導入が役立ち、人材育成に役立っている。**

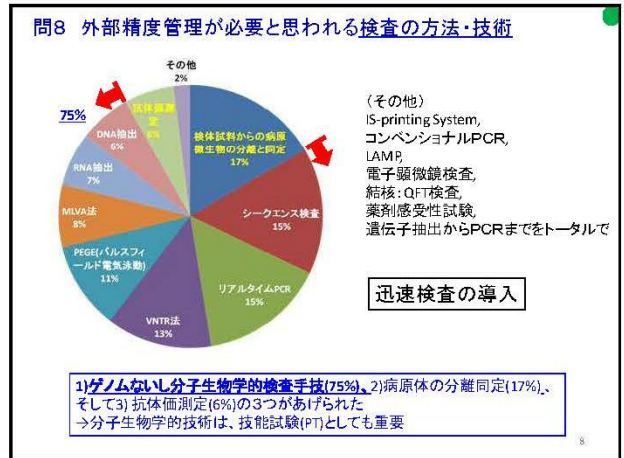
- ・ 1) 外部「精度管理」は、第三者機関により他の地衛研との(検査レベルの)比較を目的とし、地衛研の検査の質評価(EQA)。
- ・ 2) 内部「精度管理」を支援し、個々の地衛研で検査結果の再現性を担保できるようにする。迅速検査が導入され必要性増加。
- ・ 3) **トラブルシューティング**研修は、検査担当者の気づき、知識・技術の補完と問題解決能力を向上させ、検査能力を高め、人材育成に役立っている。
- ・ いわゆるEQA(外部による質保証)には、**a. 特化した試験**(第三者機関が作成した試験品を用いて、検査のプロセスごと(核酸抽出技術他)を評価する方法、あるいは特定の病原体の検査技術を評価で対応可)、**b. ブラインドテスト**(難しい)、**c. 検体提出による方法も可能**。

- ### ウイルス小班(20150520) 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
  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
- ### 細菌小班(20150529) 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)  
→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)  
→1)疫学的解析法(**IS-printing**, MIVA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

### 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

<b>&lt;ウイルス&gt;</b>		<b>&lt;細菌&gt;</b>	
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	<b>腸管出血性大腸菌感染症</b>	9,983
デング熱	372	腸チフス	800
五 先天性免疫不全症候群	18,532	パラチフス	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群溶血性連鎖球菌咽頭炎	990
五 RSウイルス感染症	2,107		
定 咽頭結膜熱	2,327	<b>&lt;リケッチャ&gt;</b>	
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		



### H27年度のシーケンス・系統樹解析精度管理調査

**1)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

**2)参加機関: 62機関**

**3)解析結果**  
 1. シーケンス解析  
 ・適切なシーケンス解析: 47/62施設(76%)  
 ・ミスリード: 5施設(1~8塩基)  
 ・含プライマー配列: 14施設  
 ・320bp以下: 4施設  
 ・Reverse配列送付: 1施設→再提出:30bp短、含プライマー配列

**2. 相同性検索**  
 ・適切な塩基配列株を選択: 47/62施設(76%)  
 ・適切なアミノ酸配列株を選択: 43/62施設(69%)  
**3. 適切な系統樹解析: 59/62施設(95%)**  
**4. 適切なgenotyping(GII 4): 62/62施設(100%)**

**4)シーケンス解析ミスと対処法**  
 1. 機器: シーケンサーの不良(レーザーの出力低下、光軸のスレなど)  
 → 機器のメンテナンス  
 2. 試薬: 反応試薬・精製試薬の劣化  
 → 陽性コントロールによる確認、使用期限確認、保存状態確認  
 3. 手技: 手技的不良による反応性の低下  
 → 手技の統一・習熟、結果見直し、再検査

### 平成27年度コレラ菌の外部精度管理調査

**調査目的**  
 ・ 三類感染症であるコレラの原因となるコレラ菌の同定  
 (患者または無症状病原体保有者の決定は地衛研の検査による)  
 (性状と血清型、毒素産生性、届出基準が正答できるか)  
 ・ 生きた菌株を用いた精度管理体制構築(発送、輸送、温度管理等)、  
 ・ 菌株の安定性の確認と課題解決(菌株選択)

<b>結果の要約</b>	<b>結果提出機関</b>	74/74 (100%)		
送付試料の状態	良好	72	一部不良	2
温度記録	データ提出	53	機器入力忘れ	記録なし
			1	20
<b>検査結果</b>	試料1	試料2	試料3	
陽性回答	72	7	74	
陰性回答	2	66(1*回答根拠誤)	0	

**課題**

菌株	・生きた菌株での外部精度管理の課題が明らか ・発送する菌株を決定するために時間を要する ・Vibrio属である問題(表現形の変異)
回答シート	回答欄の選択肢の一部不備。自由記載欄設定不足等

### 平成27年度 外部精度管理調査実施後研修(ウイルス検査)

▶ これまでの研修等は、座学or 座学と実習

計10名以内 検査担当者等による 振り返り調査

結果良好 参加機関 結果不都合 参加機関

結果・手順・チェックシートの参加者各自再検討とプレゼン資料作成

研修会(半日程度) 1.5日

参加者機関で報告をまとめる(復命に利用)

実施機関

外部「精度管理」の総括運営(研修会や検体協等) 報告資料配布・巻録、WEB公開

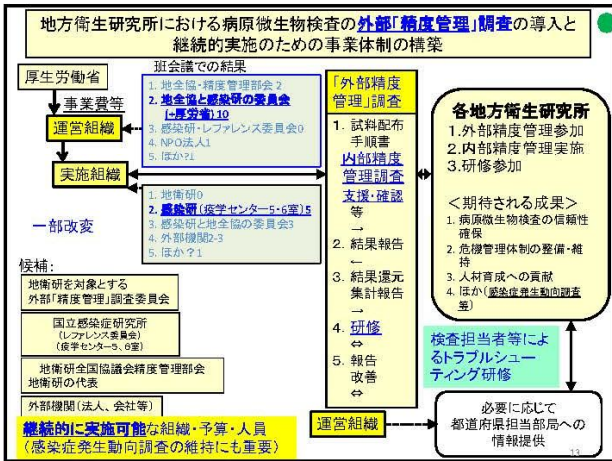
**目的**  
 昨年度の外部精度管理調査(ノロウイルスリアルタイムPCR法)をフォローし、検査の質確保および人材育成につなげる。

**実施内容(1グループ6名の少人数)**  
 ・OTを模したグループミーティング形式でリアルタイムPCR法のトラブルシューティングを行う  
 ・実習・講義や全体討論を通して問題への気づきや問題解決方法に対する理解を深める  
 ・研修後、トラブルシューティング案と研修担当者のコメントを追加したワークシートを送付し、参加者は職場で研修が問題解決に役立ったか後日回答(フォローアップ調査)

**参加機関**  
 昨年度の外部精度管理参加機関から、下記の各群より選出した代表10機関  
 A. 3つ全ての測定値がべき乗変換後150範囲外の機関(10機関)→4機関  
 B. 1つ全ての測定値のみがべき乗変換後150範囲外の機関(8機関)→4機関  
 C. 3つ全ての測定値がべき乗変換後150範囲内の機関(38機関)→2機関

### 今回のリアルタイムPCR法のトラブルシューティング集

トラブル	考えられる原因	解決のための処置
●陽性コントロールのウェルが陰性になる	●標準物質のコンタミネーションによるピペット、チューブ裏の汚染 ●標準物質のコンタミネーションによる試薬瓶の汚染	■ピペット、チューブ類、試薬瓶の交換(汚染物質の除去) ■標準物質(100ピココピー-DNA)の標準物質が検出不能
●低濃度(100ピココピー-DNA)の標準物質が検出不能	●標準物質の劣化 ●不適切なピペット操作による希釈の誤差 ●最後の温度上昇による標準物質の分解	■標準物質の管理の見直し(保管温度、有効期限)のための小分けが有効 ■ピペット操作の習熟(初級説明書と併せて操作法を再確認し、練習する) ■標準物質希釈液の希釈
●標準物質の検出が低(各群別の0値の機関が1以上)	●標準物質の劣化 ●不適切なピペット操作による希釈の誤差 ●最後の温度上昇による標準物質の分解	■標準物質の管理の見直し(保管温度、有効期限)のための小分けが有効 ■ピペット操作の習熟(初級説明書と併せて操作法を再確認し、練習する) ■標準物質希釈液の希釈
●標準物質の0値が低め、あるいは高値(濃度が理論値とは異なる)	●標準物質の劣化 ●標準物質の管理が不適切(反応試薬、プライマーブロープ) ●不適切なピペット操作による希釈の誤差 ●濃度計算ミス	■標準物質の管理の見直し(保管温度、有効期限、凍結解凍回数)のための小分けが有効 ■ピペット操作の習熟(初級説明書と併せて操作法を再確認し、練習する) ■希釈の各段階でアンプを交換(キーオーバーフロー防止) ■作業記録をつける(ダブルチェック)
●標準物質濃度(0.15x10 <sup>10</sup> )で0値に達	●プライマーブロープの劣化 ●プライマーブローププレックスの変化	■約1ヶ月以上のプライマーブロープの使用 ■標準物質の使用期限を厳守
●標準物質の測定値が500以下(初級説明書が5000以下)	●不適切なピペット操作による希釈の誤差 ●標準物質希釈液の希釈 ●濃度計算の不正確	■ピペット操作の習熟(初級説明書と併せて操作法を再確認し、練習する) ■標準物質の濃度プロットの確認 ■測定値の正確性の確認



平成26、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 (H26-健危-一般-001)

### まとめと結論

1. 地方衛生研究所全国協議会が主体となって、感染症検査の外部「精度」管理のシステムを試験的に構築し、継続的に実施可能な事業を立案し提言を目的。
2. 地研の「精度管理」実態調査、および、リアルタイムPCR、シーケンス解析、サルモネラ属菌やコレラ菌の同定をテーマにした外部「精度」管理調査、リアルタイムPCRのトラブルシューティング研修等を、多くの地研や感染症研の研究協力者を得て、企画・実施し、関連書類等を作成。
3. 感染症検査の外部「精度」管理は調査は質の保証に有意義で、さらに地研の人材育成にも役立つ。
4. 外部「精度」管理・内部「精度」管理・研修を一体化して実施することが効果的。
5. 外部「精度」管理を継続的に実施するには、恒常的な運営組織や実施組織・予算・人員が必要不可欠で、案を提示。
6. 臨床検体からの病原体の分離同定をテーマとした調査等が必要。

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実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: (地全協精度管理委員会、感染症レファレンス委員会等)

### 背景

- ・感染症法に関する病原体等検査実施機関は外部精度管理調査を受ける必要があり、継続的実施体制を新たに構築する
- ・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・感染症研のネットワークにも役立てる)

### 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、継続的実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
- ・ウイルス・細菌に関する外部精度管理の試行

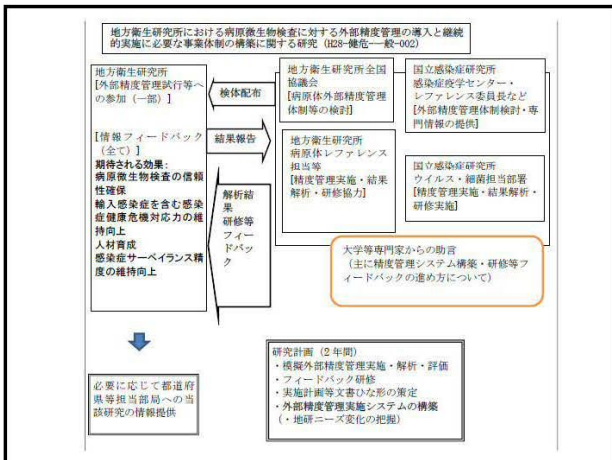
H26,H27佐多班との違い:

- ・外部専門家からの助言を得る
- ・予算が・・・ → 全体会議を2回から1回に、別途外部精度管理事業が立ち上がったことから予算の範囲で試行を実施

### H28年度 事前評価

1. 評価できる点、推進すべき点
  - 地方衛生研究所の精度管理は早急に体制整備が必要と考える。研究実施により体制整備につながる実践的研究であることが久々に評価できる。
  - 当該研究の実施により、地方衛生研究所の活性化に寄与することを期待している。
  - 地方衛生研究所における病原体外部精度管理システムの構築が必要であり、地方衛生研究所と国立感染症研究所の連携によるシステムづくりには有意義である。
2. 疑問点、その他助言等
  - 全国の地衛研の参加協力体制に疑問がある。意識に差があると精度管理に影響を及ぼすため、全施設の参加を担保できる体制を整備すべきである。
  - ウイルスだけでなく、可能であれば細菌もという計画であるため、目標設定が不明確である。

海外事例を参照すべきである。また、対象ウイルスを増やした研究とすることも考えられる。研究分担者だけでなく、大学などの研究機関との意見交換なども含めることが望ましい。研究費の内訳が、研究内容と照合しているのか疑問がある。



### H28 分担表 (v4 敬称略)

2016.7.6

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 「精度管理項目の精査・他施設等の状況把握」	皆川(愛知) 14名	佐野(名古屋) 猿木(群馬) 香月(福岡) 山本(大阪府) 岸本(岡山) 大井(東京) 達澤(富山) 末吉・諺(山口) 四宮(愛媛) 岸本剛(埼玉県) 藤田・富嶋・大石(感染症研)
ウイルス小班 「精度管理」試行・評価 報告書	皆川(愛知) 13名	吉田・木村(感染症研) 岸本(岡山) 達澤(富山) 高橋(岩手) 北川(福島) 山下(愛媛) 近藤(神奈川) 中田(大阪府) 伊藤(愛知) 宮崎・梅山(感染症研) 山下(修文大)
細菌小班 「精度管理」実施要領・手順(案)作成 報告書	達澤(富山) 12名	平井・貞升(東京) 達澤・磯部(富山) 瀬戸(大阪府) 世良(福岡県) 松本(愛知) 四宮(愛媛) 大石・村上・大西・泉谷(感染症研)
研究報告書作成	皆川(愛知)	各小班担当者(分担、協力)全員

厚労省: 結核感染症課

H28-29の予定 ver1 2016.7.6

担当 小グループ	H28(2016)年度	H29(2017)年度
項目小班 ・精度管理項目の 精査 ・他施設等の状況 把握	・法改正後の現状把握(26年度 調査との比較)→インフルエン ザは2016/17シーズンを警報発 令後再調査? ・精度管理が望ましい項目に 関するアンケート調査	・検査の質確保の立場から必要 な病原体・検査法・研修体制等の 検討、提言 ・検査の質確保のうえで地衛研病 原体検査担当部署が抱える問題 点に関する検討
ウイルス小班 「精度管理」試行・ 評価 報告書	・エンテロウイルス精度管理調 査試行・解析	・エンテロウイルス精度管理調査 検討、フィードバック研修(必要に 応じて) ・精度管理実施が望ましいウイル スの検討
細菌小班 「精度管理」実施要 領・手順(案)作成	・精度管理実施が望ましい細菌 の検討 ・29年度検体配付計画の作成	・検体配付を伴う精度管理調査試 行、結果解析
研究報告書	28年度報告書	29年度報告書 28-29年度総合報告書

19

平成28年度の予定・ポイント 160705

○平成26・27年度佐多班に比べ予算が減額  
・会議(回数減・出席者の絞り込み)  
・実検体配布(ウイルスのみを予定・実施機関数の絞り込み 最大20程度)  
・細菌は28年度に準備し、29年度に検体配布を計画  
・消耗品費はウイルス精度管理に重点的に配分

○法改正後の位置づけ

予定  
・小班会議 **ウイルス・細菌WG合同会議:7月6日(水)(感染研共用第3会議室)**  
・研究会議 **平成29年1月11日(水)** 午後1時から 感染研共用第2会議室

・精度管理部会・体制小班 10月25日(火)  
・ウイルス小班ワークショップ(コアメンバーのみ)  
・細菌小班WG会議(コアメンバーのみ)

報告書原稿締切 **平成29年1月13日(金)**

評価会用資料締切 **ワードとパワポファイル**

(研究評価会 国立保健医療科学院?)

20

体制小班からの調査への協力お願い 160706

○平成28年度中に全地衛研を対象として、「病原体検査の質」確保に関する  
アンケート調査を予定  
実施時期:未定(担当者の負担が過重とならないよう、11月までに実施したい)  
調査項目:  
詳細は未定  
1 法改正施行のウイルス検査、細菌検査に対する影響  
(厚労省、松井班等との重複は最小限にする予定)  
2 外部精度管理調査の実施が望ましい病原体、感染症名の調査  
(法改正前の26年度調査と比較)  
3 外部精度管理調査の実施が望ましい検査手法の調査  
(法改正前の26年度調査と比較)  
4 研修に関する要望(項目、体制、対象者)  
5 その他

ウイルス、細菌検査体制を堅持するうえで必要な調査項目のインプットや、  
調査へのご協力をよろしくお願いいたします。

21

## 地全協精度管理部会会議（項目小班会議を兼ねる）

日 時 平成 28 年 10 月 25 日（火）12：00～12:50

場 所 ホテルプリムローズ大阪 2F 羽衣（西）

出席者（13名）

岡野 素彦	北海道立衛生研究所
猿木 信裕	群馬県衛生環境研究所
大井 洋	東京都健康安全研究センター所
滝澤 剛則	富山県衛生研究所
佐野 一雄	名古屋市衛生研究所
山本 容正	大阪府立公衆衛生研究所
岸本 壽男	岡山県環境保健センター
調 恒明、末吉 利幸	山口県環境保健センター所
香月 進	福岡県保健環境研究所
四宮 博人	愛媛県立衛生環境研究所
皆川 洋子、広瀬 かおる	愛知県衛生研究所

会議概要 研究班長（研究代表者）より研究班発足及び進捗状況を報告した。四宮 地全協感染症対策部会長（分担研究者）も臨席のうえ病原体検査体制に関するアンケート調査について検討し、回答依頼に伴う地研担当者の負担軽減を図る目的で、感染症対策部会と同時に配布する形で実施することを決定した。

平成28年度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 項目小班会議を兼ねる)

日時: 2016年10月25日(火) 12:00~12:50  
場所: ホテルプリムローズ大阪 2階 羽衣

厚生労働科研 佐多班(H26, H27年度)を引き継ぐ形

2015年12月 公募開始  
2016年1月 研究計画書送付(平成28、29年度 2年計画)  
2016年4月1日 内定通知  
4月20日 交付申請書・分担研究承諾書等送付  
5月10日~ 地全協理事会後 一部関係者と打合せ  
感染研細菌第一部 大西部長、分担研究者らと打合せ  
決定通知  
6月  
7月6日(水) 第1回 WG会議(ウイルス・細菌)  
10月25日(火) 地全協精度管理部会  
10月26-28日 ウイルス ワークショップ  
11月15日(火) 細菌コアWG会議  
2017年1月11日(水) 全体会議

本日方向性を決めたい事項  
アンケート調査の概要・実施時期

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実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

- ・感染症法に関する病原体等検査実施機関は外部精度管理調査を受ける必要があり、継続的実施体制を新たに構築する
- ・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、継続的実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
- ・ウイルス・細菌に関する外部精度管理の試行

H26, H27佐多班との違い:

- ・外部専門家からの助言を得る
- ・予算が... → 全体会議を2回から1回に、別途外部精度管理事業が立ち上がったことから予算の範囲で試行を実施

H28 分担表(v5 敬称略) 2016.7.15

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 ・精度管理項目の精査 ・他施設等の状況把握	笠川(愛知) 14名	佐野(名古屋) 積木(群馬) 香月(福岡) 山本(大阪府) 岸本(岡山) 大井(東京) 浅澤(富山) 末吉・澁(山口) 四宮(愛媛) 岸本剛(埼玉県) 藤田・高崎・大石(感染研)
ウイルス小班 「精度管理」試行・評価 報告書	笠川(愛知) 14名	吉田・木村・長澤(感染研) 岸本(岡山) 浅澤(富山) 高橋(岩手) 北川(福島) 山下(愛媛) 近藤(神奈川) 中田(大阪府) 伊藤(愛知) 高崎・梅山(感染研) 山下(修文大)
細菌小班 「精度管理」実施要領・手順(案)作成 報告書	浅澤(富山) 12名	平井・貞舟(東京) 浅澤・磯部(富山) 瀬戸(大阪府) 世良(福岡県) 松本(愛知) 四宮(愛媛) 大石・村上・大西・泉谷(感染研)
研究報告書作成	皆川(愛知)	各小班担当者(分担、協力)全員

厚労省: 結核感染症課

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実施に必要な事業体制の構築に関する研究(H28-健危一般-002)

残った、若しくは新たに出現した課題

1. 検査の質の確保に資する外部精度調査項目(病原体・検査法)の提案。  
具体的な手法の検討(小規模試行の実施)。
2. 検査の質確保の目的が食品GLP、水質GLPとは異なる。  
・健康危機対応に迅速・定性(若しくは半定量)検査が主体  
・新興感染症の場合、新たな知見の追加に伴い検査手法・感度や場合によっては陽性の定義も随時変更されることがある  
検査の基準を予め厳密に決める(食品GLP、水質GLP)ことも大事だが、どのプロトコルで実施し、どのような結果が得られたか記録に残す、分離株が得られたら、感染研等と共有のうえ性状を確認することが大事
3. 手順書・記録・報告書の管理等、事務量が增大している。  
感染症制御に必要な記録事務にウェイトを置き、付随的な事務の簡素化?
4. 効果的な研修手法の工夫。マンパワーの確保。  
・研修を受けた直後に検査と無関係な部署に異動するのは大きな無駄!  
・長期的視野に立った人材の計画的育成・確保(専門家のリクルート?)
5. 病原体名を限定しない、感染症症患者(例:手足口病、感染性胃腸炎)毎の精度管理調査の必要性、必要な場合の地衛研にとって適切な手法の検討。

H28精度管理班発足・活動状況

佐多班(H26, H27年度)を引き継ぐ形

2015年12月~ 計画書準備  
2016年1月 計画書送付(平成28、29年度 2年計画)  
2016年4月1日付 内定通知  
4月20日 分担研究者(地研6名 感染研6名)承諾書等送付  
5月10日(火) 地全協理事会後 一部関係者と打合せ  
感染研細菌第一部 大西部長と打合せ  
7月6日(水) 第1回 WG会議(ウイルス・細菌)  
7月21-22日(第27回衛生微生物技術協議会会期中)  
・パネルディスカッション  
・細菌小班打合せ  
10月25日 地全協精度管理部会(項目小班会議を兼ねる)  
10月26-28日・ウイルスコアワークショップ  
11月15日(火) 細菌小班コアWG会議  
2017年1月11日(水) 全体会議

H28-29の予定 ver2 2016.7.15

担当小グループ	H28(2016)年度	H29(2017)年度
項目小班 ・精度管理項目の精査 ・他施設等の状況把握	・法改正後の現状把握(26年度調査との比較)→インフルエンザは2016/17シーズン警報発令後再調査? ・精度管理体制の調査? ・精度管理が望ましい項目に関するアンケート調査	・検査の質確保の立場から必要な病原体・検査法・研修体制等の検討、提言 ・検査の質確保のうえで地衛研病原体検査担当部署が抱える問題点に関する検討
ウイルス小班 「精度管理」試行・評価 報告書	・エンテロウイルス精度管理調査試行・解析 佐多班で手順を検討したCODEHOP法を中心にコアメンバーで検討、年度内に試行	・エンテロウイルス精度管理調査検討、フィードバック研修(必要に応じて) ・精度管理実施が望ましいウイルスの検討
細菌小班 「精度管理」実施要領・手順(案)作成	・精度管理実施が望ましい細菌の検討 三類目P2(赤痢菌) ・29年度検体配付計画の作成	・検体配付を伴う精度管理調査試行、結果解析
研究報告書	28年度報告書	29年度報告書 28-29年度総合報告書

## ウイルス小班コア WG 会議

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）」班

### 平成 28 年度ウイルス小班コア WG 会議

日 時：平成 28 年 10 月 26 日（水）10 時から 28 日（金）18 時まで

場 所：東京都武蔵村山市学園 4 - 7 - 1 国立感染症研究所村山庁舎  
6 号棟 6 階 603 号実習室 ・ 604 号室実習室  
外来講師控室（10 月 27 - 28 日のみ）

出席者：国立感染症研究所ウイルス第二部 吉田 弘  
岩手県環境保健研究センター 高橋雅輝  
福島県衛生研究所微生物課 北川和寛  
愛媛県立衛生環境研究所 山下育孝

内 容：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

- ・ 試行
- ・ 試料調整の検討
- ・ 関連ディスカッション
- ・ その他

## 細菌小班コア WG 会議

### 平成 28 年度細菌小班コア WG 会議 プログラム

日 時：平成 28 年 11 月 15 日（火）12 時 50 分から 17 時まで

場 所：国立感染症研究所共用第 3 会議室

開会挨拶 皆川 洋子（愛知県衛研）

1. ご挨拶 国立保健医療科学院（厚生労働省）
2. 出席者紹介
3. 細菌小班長より （滝澤 剛則・富山県衛研）
4. これまでの細菌小班的活動とワーキンググループによる事前検討について  
(村上 光一・感染研)

富山県の検討 （磯部 順子・富山県衛研）

大阪府の検討 （勢戸 和子・大阪公衛研）

5. 東京都における精度管理実施方法 （河村 真保・都健安研）  
指定発言：愛知県における精度管理について（松本昌門、皆川・愛知県衛研）
6. 国立感染症研究所細菌第一部の対応（泉谷 秀昌・感染研）
7. 結果の評価と配布菌株の選定 （村上 光一・感染研）
8. 今後の予定について（全体討論含む）皆川 洋子（愛知県衛研）



## 全体班会議

### 平成 28 年度全体班会議 プログラム

日 時：平成 29 年 1 月 11 日（水）13 時 00 分から 18 時 00 分まで

場 所：国立感染症研究所共用第 2 会議室

1. 挨拶 国立保健医療科学院（厚生労働省） 武村 真治先生
2. 出席者紹介
3. 皆川 洋子（愛知県衛研）  
28 年度研究概要及び 29 年度の研究計画について [pptx 資料 1]
- 4 - 1. 木村 博一（感染研）  
精度保証の手法を取り入れたウイルス遺伝子定量法の研修について
- 4 - 2. 吉田 弘（感染研）・皆川・ウイルス小班 WG  
ウイルス小班的調査研究及び 29 年度研究計画について
- 4 - 3. 出席者全員  
ウイルス小班活動について
5. 皆川 洋子（愛知県衛研）・出席者全員  
項目小班（アンケート調査結果解析経過報告・29 年度の予定）
- 6 - 1. 平井 昭彦（東京都健安研）  
東京都における外部精度管理について
- 6 - 2. 滝澤 剛則（富山県衛研）・村上 光一（感染研）  
赤痢菌に関する外部「精度管理」調査（案）及び 29 年度計画について
- 6 - 3. 出席者全員  
細菌小班活動について
7. 皆川 洋子（愛知県衛研）  
今後の予定について（全体討論含む）
8. 講評 事務連絡

平成28年度厚生労働科学研究全体班会議  
 日時:2017年1月11日(水) 13:00~17:50  
 場所:国立感染症研究所 共用第二会議室

**厚生労働科研 佐多班(H26, H27年度)引き継ぎ形、2年計画の1年目**  
 5月10日~ 地全協理事会後 一部関係者と打合せ  
 感染研細菌第一部 大西部長、分担研究者らと打合せ

7月6日(水) 第1回 WG会議 (ウイルス・細菌)  
 10月25日(火) 地全協精度管理部会(項目)  
 10月26-28日 ウイルス ワークショップ  
 11月15日(火) 細菌コアWG会議  
 2017年1月11日(水) 全体会議(項目・ウイルス・細菌)

1月13日(金) 分担研究報告書原稿締切  
 2月20日(月) 成果発表会

H28 分担表 (v5 敬称略) 2017.1.11

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 ・精度管理項目の精査 ・他施設等の状況把握	菅川 (愛知) 15名	佐野(名古屋) 猿木(群馬) 香月(福岡) 山本(大阪府) 岸本(岡山) 大井(東京) 滝澤(富山) 末吉・諷(山口) 四宮(愛媛) 岸本剛(埼玉県) 脇田・宮崎・大石(感染症研)
ウイルス小班 「精度管理」試行・評価 報告書	菅川 (愛知) 15名	吉田・木村・長澤(感染症研) 岸本(岡山) 滝澤(富山) 高橋(岩手) 北川(福島) 山下(愛媛) 近藤(神奈川) 中田(大阪府) 伊藤(愛知) 宮崎・梅山(感染症研) 山下(修文大)
細菌小班 「精度管理」実施要領・手順(案)作成 報告書	滝澤 (富山) 12名	平井・貞升(東京) 橋部(富山) 越戸(大阪府) 世良(福岡県) 松本(愛知) 四宮(愛媛) 大石・村上・大西・泉谷(感染症研)
研究報告書作成	菅川 (愛知)	各小班担当者(分担・協力)全員

厚生省:結核感染症課

H28-29の予定 ver3 2017.1.11

担当小グループ	H28(2016)年度	H29(2017)年度
項目小班 ・精度管理項目の精査 ・他施設等の状況把握	<ul style="list-style-type: none"> <li>法改正後の現状把握(26年度調査との比較)→インフルエンザは2016/17シーズン監視令後再調査+松井班)</li> <li>精度管理体制の調査(人員・予算・機器)</li> <li>精度管理が望ましい項目に関するアンケート調査</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>前年度調査をふまえ、検査の質確保のうえで地衛研病原体検査担当部署が抱える問題点の検討</li> <li>検査の質確保の立場から必要な病原体・検査法・研修体制等の検討、提言</li> </ul>
ウイルス小班 「精度管理」試行・評価 報告書	<ul style="list-style-type: none"> <li>エンテロウイルス精度管理調査試行・解析</li> <li>CODEHOP法を中心にコアメンバーで検討、29年上半年期までに試行</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>エンテロウイルス精度管理調査検討、フィードバック研修(必要に応じて)</li> <li>包括的なウイルス精度管理要領の作成</li> </ul>
細菌小班 「精度管理」実施要領・手順(案)作成	<ul style="list-style-type: none"> <li>精度管理実施が望ましい細菌の検討</li> <li>三類且つP2(赤痢菌)</li> <li>29年度検体配付計画の作成</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>検体配付を伴う精度管理調査試行、結果解析</li> <li>包括的な細菌精度管理要領の作成</li> </ul>
研究報告書	28年度報告書	29年度報告書 28-29年度総合報告書

項目小班活動状況報告  
 平成28年度全体班会議  
 日時:2017年1月11日(水)  
 場所:国立感染症研究所 共用第二会議室

項目小班	菅川 (愛知) 15名	佐野(名古屋) 猿木(群馬) 香月(福岡) 山本(大阪府) 岸本(岡山) 大井(東京) 滝澤(富山) 末吉・諷(山口) 四宮(愛媛) 岸本剛(埼玉県) 脇田・宮崎・大石(感染症研)
項目小班 ・精度管理項目の精査 ・他施設等の状況把握等	菅川 (愛知) 15名	佐野(名古屋) 猿木(群馬) 香月(福岡) 山本(大阪府) 岸本(岡山) 大井(東京) 滝澤(富山) 末吉・諷(山口) 四宮(愛媛) 岸本剛(埼玉県) 脇田・宮崎・大石(感染症研)

**厚生労働科研 佐多班(H26, H27年度)引き継ぎ形** (平成28, 29年度 2年計画)  
 5月10日~ 地全協理事会後 一部関係者と打合せ  
 感染研細菌第一部 大西部長、分担研究者らと打合せ

10月25日(火) 項目小班会議(地全協精度管理部会と合同開催)  
 11月29日 アンケート発送(精度管理部会・感染症対策部会分と同時)  
 12月25日 回答締切(81機関中80機関より回答協力あり)  
 2017年1月11日(水) 全体会議

H28項目小班アンケート  
 (2)検査の質確保体制(人員・予算)

①感染研に伝る検査について、貴機関における現在の状況をお答えください。

②-1感染研法に基づく三類感染症検査(調査研究等は除きます)の人員体制についてお尋ねします。

②-2感染研法の点検及び更新についてお尋ねします。(本庁等に調査が必要が機関のみ)

- H28項目小班アンケート17年1月時点のまとめ
- 人員体制・点検費用・機器更新増設等予算  
信頼性確保及び検査部門区分管理体制はほぼ全ての機関で設置済  
但しマンパワーの確保(質・量とも)に多くの自治体が苦慮
  - 手順書(SOP):主な二類、三類感染症については7割以上が準備済  
五類定点感染症については、**病原体名か感染症疾患名(例:手足口病、感染性胃腸炎)**毎か、は機関により分かれている。
  - 標準品についても、病原体(核酸のみ、菌株)以外に疾患名に基づく物品の配布希望が一部機関から寄せられた。
  - 外部精度管理調査の参加希望は、二類、三類についてはおおむね高率。
  - 他機関(保健所・管内衛生検査所等)への精度管理用検体提供等は、17機関が実施(主に細菌検査と思われる)。⇒29年度に詳細な調査?  
国立感染症研究所に加えて、一部の地衛研(支部で数か所)も検体提供を担当する素地はあると考えられる。

## 衛生微生物技術協議会第37回研究会 パネルディスカッション

改正感染症法施行に伴う課題：地衛研の立場から

愛知県衛生研究所 皆川 洋子

改正感染症法施行に伴って、自治体が実施する病原体サーベイランスや積極的疫学調査等に伴う病原体検査の「質」の確保が求められることとなり、地衛研における病原体担当部門の技術水準を維持若しくは強化する必要が生じた。

地方衛生研究所全国協議会精度管理部会は、平成26年度から2年間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实施のための事業体制の構築に関する研究」班とともに活動した。佐多徹太郎前部会長・研究班長（前富山県衛生研究所長）を中心に、60名を超える研究者の協力を得て体制・ウイルス・細菌の3小班体制で実施された27年度の活動について、2016年4月以降明らかになった課題との関連をふまえて報告する。

27年度の外部精度管理調査はノロウイルスシーケンス樹状解析（ウイルス小班）及びコレラ菌生菌配付による同定検査（細菌小班）が実施され、各々62、74機関が参加した。また26年度分トラブルシューティング研修・手足口病外部精度管理手順書案作成（ウイルス小班）、26年度のサルモネラ検体の検証・赤痢菌検査精度手順検討（細菌小班）、内部精度管理調査に対する支援及び外部精度管理フォローアップ研修の必要性検討（体制小班）等が行われた。

研究班の議論では、検査の信頼性確保にあたり外部精度管理の事業化及び定期的かつ継続的に実施する組織を国立感染症研究所（感染研）に設置する必要性が指摘された。また標準作業書の準備や内部精度管理実施に際して「病原体検出マニュアル」（感染研と地衛研が連携して作成・更新）の有用性が再認識された。一方で一部の自治体では、病原体検査を実施する目的や食品GLP・水質GLP等との差異が十分に認識されていない等の理由により文書業務量の顕著な増大に直面している。

28年度から2年間の予定で、全国地衛研、感染研及び大学等学識経験者の協力を仰いで「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」班が発足予定である。麻しん排除達成、風しん排除の目標設定、ジカウイルス感染症が四類感染症に追加される等、近年輸入感染症についても地衛研による病原体検査の必要性が増している現状をふまえ、衛微協会員機関担当者の皆様には今後も研究活動への御協力をお願いしたい。

第37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改正感染症法施行に伴う課題：  
3地衛研の立場から(1)精度管理部会

2016年7月21日(木)

於：広島市南区民センター

愛知県衛生研究所 皆川 洋子

### 感染症に関する情報の収集体制の強化(概要)

(第14条の2、第15条、第19条の2、第20条の3、第20条の4、第44条の2、第50条第1項)

**【現行制度の課題】**

- 近年、病原体の遺伝子解析技術等の飛躍的な進歩に伴い、感染症対策を立案するに当たって、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。
- 現行の組織的実務調査の一環である検体等の提出の求めについては、①感染症法に明確に定めがなく、②医療機関等の関係者の協力が実務調査に乏しいことによる。
- 関係者からの協力を得る際に難渋となり得る。

**【改正の概要】**

- 検体等の採取・提出の協力要請、それに伴う場合の措置について、法に規定するとともに、入手した検体等の検査、検査結果の報告等に関する規定を整備する。これにより、感染症に関する情報収集体制を強化。

**改正後の仕組み**

**疫学調査の強化・充実**

一類、二類、新型インフルエンザ等感染症、新感染症などの発生の正確かつ確実な把握等  
 ・実行している季節性インフルエンザの型や薬剤耐性インフルエンザウイルスの発生状況把握、ワクチン株選定の妥当性  
 ・新発・再発感染症の把握

第27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改正感染症法施行に伴う課題：  
3 地衛研の立場から(1)精度管理部会

- 1 平成26-27年度厚生労働科 佐多班の概要  
体制小班・ウイルス小班・細菌小班
- 2 上記班研究の成果  
感染研-地衛研ネットワークの再認識  
外部精度調査の事業化  
フィードバック(研修)の効果
- 3 改正感染症法施行前後に明らかとなった課題  
季節性インフルエンザ検体の確保・その他検体対応  
事務量の増加  
輸入感染症対応
- 4 28年度研究班・精度管理部会の予定  
項目小班・ウイルス小班・細菌小班

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・2年目)

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)       | (感染研)          |
| 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) |
| 菺木信裕(群馬県衛生環境研究所)       | ほか             |
| 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： ほか地衛研および感染研の関係者

分担表(H27年度佐多班)

2015.8.24

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) 14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) 菺木(群馬) 倉根・宮崎・梅山・大石・村上(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) 24名	木村・野田・長澤・高橋(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) 清水・松島(川崎) 水越(栃木) 小澤 (横浜) 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) 17名	世良(福岡) 勢戸(大阪) 清水・森本(北海道) 太田 (横浜) 四宮(愛媛) 佐多・磯部(富山) 望月(兵庫) 倉園(埼玉) 黒木(神奈川) 大石・大西・荒川・鈴木・(松井)・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

のべ58名

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)

1. 研究代表者： 佐多徹太郎(富山県衛生研究所)
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

- 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(さらに、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。

平成26、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  
(H26-健危-一般-001)

### まとめと結論

1. 地方衛生研究所全国協議会が主体となって、感染症検査の外部「精度」管理のシステムを試験的に構築し、**継続的に実施可能な事業**を立案し提言。
2. 地研の「精度管理」実態調査、およびリアルタイムPCR、シーケンス解析、サルモネラ属菌やコレラ菌の同定をテーマにした**外部「精度」管理調査**、リアルタイムPCRの**トラブルシューティング**研修等を、多くの地研や感染症研の研究協力者を得て、企画・実施し、関連書類等を作成。
3. 感染症検査の外部「精度」管理は**質の保証**に有意義で、さらに地研の**人材育成**にも役立てられる。
4. **外部「精度」管理・内部「精度」管理・研修を一体化して実施**することが効果的。
5. 外部「精度」管理を継続的に実施するには、**恒常的な運営組織や実施組織・予算・人員が必要不可欠**で、案を提示。
6. 今後具体的な調査項目(病原体・検査手法)について、例えば臨床検体からの病原体の分離同定をテーマとした調査等が必要。

### 検討課題

20150401 改変20160201

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、**外部「精度管理」、内部「精度管理」支援、研修の3つを関連・一体化させた導入**が役立ち、**人材育成に役立**てる。

- 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)比較を目的とし、地衛研の**検査の質評価(EQA)**。
- 2) **内部「精度管理」**を支援し、個々の地衛研で検査結果の再現性を担保できるようにする。迅速検査が導入され必要性増加。
- 3) **トラブルシューティング研修**は、検査担当者の気づき、知識・技術の補完と問題解決能力を向上させ、検査能力を高め、人材育成に役立

• いわゆるEQA(外部による質保証)には、**a.特化した試験**(第三者機関が作成した試験品を用いて、検査のプロセスごと(核酸抽出技術他)を評価する方法、あるいは特定の病原体の検査技術の評価で対応可)、**b.ブラインドテスト**(難しい)、**c.検体提出による方法**も可能。

### 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

<b>&lt;ウイルス&gt;</b>		<b>&lt;細菌&gt;</b>	
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	<b>腸管出血性大腸菌感染症</b>	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	パラチフス	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	<b>&lt;リケッチア&gt;</b>	
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		

### 問8 外部精度管理が必要と思われる検査の方法・技術

(その他)  
IS-printing System, コンベンショナルPCR, LAMP, 電子顕微鏡検査, 結核: QFT検査, 薬剤感受性試験, 遺伝子抽出からPCRまでをトータルで

**迅速検査の導入**

1) **ゲノムないし分子生物学的検査手法(75%)**、2) 病原体の分離同定(17%)、そして3) 抗体価測定(6%)の3つがあげられた  
→ 分子生物学的技術は、技能試験(PT)としても重要

### D. 感染症等の検査方法: 26年度調査結果

問9 地衛研で行う感染症検査における標準作業手順書(SOP)の有無を教えてください。

問10-1 SOPを作成している感染症リスト(※かつた順)

順位	番号	感染症	集計数
1	15	腸管出血性大腸菌感染症	110
2	82	細菌性胃腸炎	110
3	12	鳥インフルエンザ(H5N1)	110
4	14	細菌性赤痢	110
4	16	腸チフス	110
4	17	パラチフス	110
7	78	風しん	110
8	77	麻疹	110
9	31	重症熱性血小板減少症候群	7
10	28	デング熱	7
11	9	結核	7
11	20	A型肝炎	7
12	11	重症呼吸器感染症	7
12	37	チクングニア熱	7
12	38	つつが虫	7
12	38	レジオネラ症	7

「一部あり」を加えると44%にあり  
SOPありは比較的大きな地衛研

問10-2 SOP作成の基となる根拠は何ですか。

「その他」  
厚生省通知、国衛研マニュアル(ノロ)、食品衛生検査指針、結核検査指針、微生物検査必携

「病原体検出マニュアル」が大部分  
→ 更新や維持管理は重要!

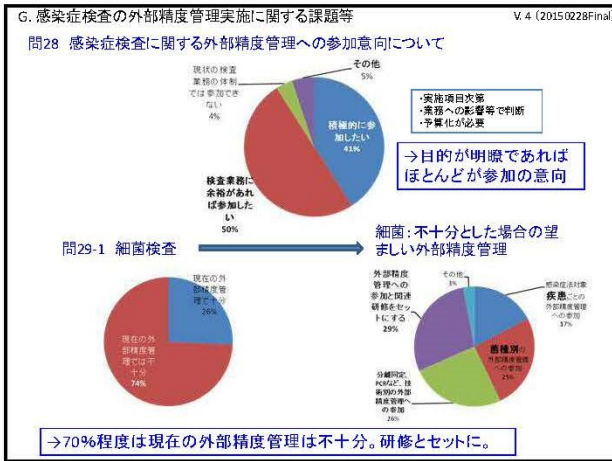
### 病原体検出マニュアル(平成15年12月9日発刊)

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/labo-manual.html>

<前書き 吉倉元所長>  
法律に基づいて、感染症の報告がなされる場合、報告は一定の基準に依らなければならない。又、感染症の報告は科学的な証拠、即ち、**病原体検査**、で裏打ちされたものである必要があるが、そうであれば、少なくとも日本の中では**基準化したものを使うべき**である。

<国立感染症研究所Website>  
病原体検出マニュアルは、**感染症法に基づいて感染症の報告がなされる際の検査の標準化**のために、国立感染症研究所と全国地方衛生研究所の共同作業で作成されたものであり、**感染症対策に係る行政対応における大きな根拠**となっております。本マニュアルを使用し、常に評価し、**科学的進歩にあつたものに改善**していくことが常に求められています。

→ 検出マニュアルは「日本の感染症法にもとづいた**標準的な検査法**」  
→ 検査結果は**正確で信頼に値する**方法による  
→ 感染症の**検査の根拠**にできるもの  
→ **科学的進歩にあつたものに改善**していくことが求められる。



H27年度ウイルス小班：  
シーケンス・系統樹解析精度管理調査

1) 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(NI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同一性

2) 参加機関：62機関

3) 解析結果  
1. シーケンス解析  
・適切なシーケンス解析：47/62施設(76%)  
・ミスリード：5施設(1~8塩基)  
・含プライマー配列：14施設  
・320bp以下：4施設  
・Reverse配列送付：1施設→再提出：30bp短、含プライマー配列

2. 相同性検索  
・適切な塩基配列株を選択：47/62施設(76%)  
・適切なアミノ酸配列株を選択：43/62施設(69%)

3. 適切な系統樹解析：59/62施設(95%)

4. 適切なgenotyping(GII.4)：62/62施設(100%)

4) シーケンス解析ミスと対処法  
1. 機器：シーケンサーの不良(レーザーの出力低下、光軸のズレなど)  
→ 機器のメンテナンス  
2. 試薬：反応試薬・精製試薬の劣化  
→ 陽性コントロールによる確認、使用期限確認、保存状態確認  
3. 手技：手技の不良による反応性の低下  
→ 手技の統一・習熟、結果見直し、再検査

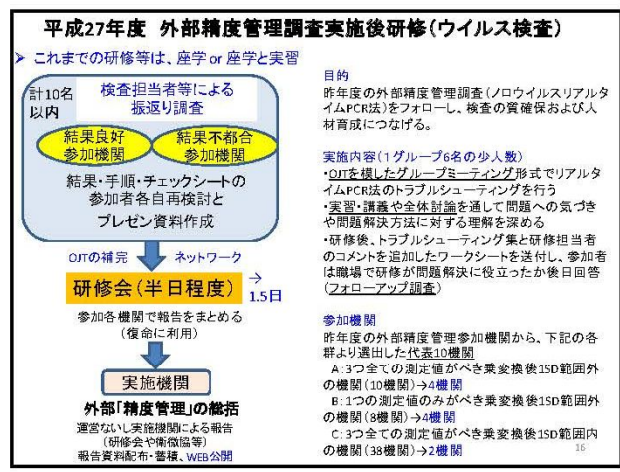
平成27年度コレラ菌の外部精度管理調査←74地研が参加

調査目的  
・ 三類感染症であるコレラの原因となるコレラ菌の同定(患者または無症状病原体保有者の決定は地衛研の検査による)(性状と血清型、毒素産生性、届出基準が正答できるか)  
・ 生きた菌株を用いた精度管理体制構築(発送、輸送、温度管理等)、  
・ 菌株の安定性の確認と課題解決(菌株選択)

結果の要約	結果提出機関	74/74(100%)		
送付試料の状態	良好	72	一部不良	2
温度記録	データ提出		機器入忘れ	記録なし
検査結果	試料1	試料2	試料3	
陽性回答	72	7	74	
陰性回答	2	66(1*回答根拠誤)	0	

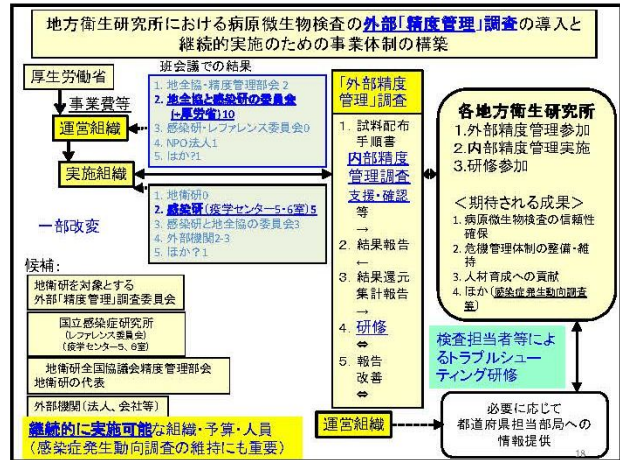
課題

菌株	・生きた菌株での外部精度管理の課題が明らか ・発送する菌株を決定するために時間を要する ・Vibrio属である問題(表現形の変異)
回答シート	回答欄の選択肢の一部不備。自由記載欄設定不足等



今回のリアルタイムPCR法のトラブルシューティング集

トラブル	考えられる原因	解決のための知恵
陽性コントロールのウェルが陽性になる	・検査物質のコンタミネーションによるピペッティング、チューブ漏れ ・検査物質のコンタミネーションによる試薬瓶の汚染	・ピペッター、チューブ漏れ、試薬瓶の交換(汚染物質の除去) ・陽性コントロールの位置を調整し、試薬瓶に検査物質の滴を別添付容器に回収する(回収後廃棄) ・作業工程の見直し(反応液→検体シリンジ→検査物質の瓶で検体) 検体シリンジに検体のピペッティング、チューブ漏れを使用 ・検体シリンジを洗浄し、乾燥させる(検体シリンジの再利用) ・検体シリンジの交換(検体シリンジの再利用を中止) ・検体シリンジの交換(検体シリンジの再利用を中止)
陽性コントロール(コピペータ/PCR)の検体物質が検出される	・検査物質の漏れ ・不適切なピペッティングによる検体の調整 ・検体の温度上昇による検体物質の分解	・検査物質の管理の見直し(保管温度、凍結解凍回数などの分け分け管理) ・ピペッティングの習熟(検体シリンジを正確に操作し、検定する) ・検査物質を密封の容器で検体シリンジに検定する
陽性コントロールの色が赤(各検体のPCR)の間隔が3.0以上)	・検査物質の漏れ ・不適切なピペッティングによる検体の調整 ・検体の温度上昇による検体物質の分解	・検査物質の管理の見直し(保管温度、凍結解凍回数などの分け分け管理) ・ピペッティングの習熟(検体シリンジを正確に操作し、検定する) ・検査物質を密封の容器で検体シリンジに検定する
陽性コントロールの色が赤(各検体のPCR)の間隔が3.0以下)	・検査物質の漏れ ・不適切なピペッティングによる検体の調整 ・検体の温度上昇による検体物質の分解	・検査物質の管理の見直し(保管温度、凍結解凍回数などの分け分け管理) ・ピペッティングの習熟(検体シリンジを正確に操作し、検定する) ・検査物質を密封の容器で検体シリンジに検定する
陽性コントロールの色が赤(各検体のPCR)の間隔が3.0以下)	・検査物質の漏れ ・不適切なピペッティングによる検体の調整 ・検体の温度上昇による検体物質の分解	・検査物質の管理の見直し(保管温度、凍結解凍回数などの分け分け管理) ・ピペッティングの習熟(検体シリンジを正確に操作し、検定する) ・検査物質を密封の容器で検体シリンジに検定する
陽性コントロールの色が赤(各検体のPCR)の間隔が3.0以下)	・検査物質の漏れ ・不適切なピペッティングによる検体の調整 ・検体の温度上昇による検体物質の分解	・検査物質の管理の見直し(保管温度、凍結解凍回数などの分け分け管理) ・ピペッティングの習熟(検体シリンジを正確に操作し、検定する) ・検査物質を密封の容器で検体シリンジに検定する



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  
実施に必要な事業体制の構築に関する研究(H28-健危-一般-002)

**残った、若しくは新たに出現した課題**

- 検査の質の確保に資する外部精度調査項目(病原体・検査法)の提案。  
**具体的な手法**の検討(小規模試行の実施)。
- 検査の質確保の目的が食品GLP、水質GLPとは異なる。  
・健康危機対応<迅速・定性(若しくは半定量)検査>が主体  
・新興感染症の場合、**新たな知見の追加に伴い**検査手法・感度や  
場合によっては陽性の定義も随時変更されることがある  
検査の基準を予め厳密に決める(食品GLP、水質GLP)ことも大事だが、  
どのプロトコルで実施し、どのような結果が得られたか**記録に残す**、  
分離株が得られたら、感染研等と共有のうえ性状を確認する ことが大事
- 手順書・記録・報告書の管理等、**事務量が增大**している。  
感染症制御に必要な記録事務にウェイトを置き、付随的な事務の簡素化？
- 効果的な**研修手法**の工夫。マンパワーの確保。  
・研修を受けた直後に検査と無関係な部署に異動するのは大きな無駄！  
・長期的視野に立った人材の計画的育成・確保(専門家のリクルート?)
- 病原体名を限定しない**。感染症疾患名(例:手足口病、感染性胃腸炎)毎の  
精度管理調査の必要性、必要な場合の地衛研にとって適切な手法の検討。

**輸入感染症・新興再興感染症対応機会の増加**

**二類感染症**  
・鳥インフルエンザ(H7N9),  
・中東呼吸器症候群(MERS)

**四類感染症**  
・デング熱国内発生  
・チクングニア熱  
・SFTS  
・ジカウイルス感染症

**五類感染症**  
・麻しん、風しん  
...

**新型インフルエンザA/H1pdm2009  
対応後、感染研-地衛研ネットワーク  
による病原体同定機能が広く認知  
された**

**民間衛生検査所が未対応(主に  
ウイルス核酸検出)  
かつ  
感染症対策に直結する検査を  
実施する頻度が増加**

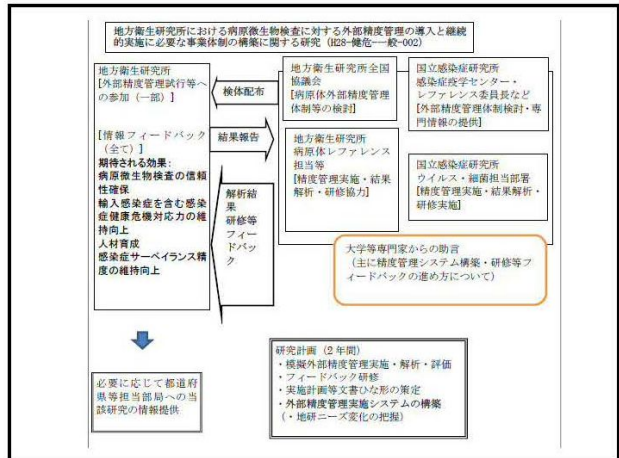
**「手足口病」ウイルス検出の精度調査(私見)**  
(病原体の選択)

- ・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？

(手法)

- ・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

発生動向調査対象とするウイルス	≠	精度管理対象となりうるウイルス
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)		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？



**平成28年度の予定・ポイント 160715**

- 平成26・27年度佐多班に比べ予算が減額
- ・会議(回数減・出席者の絞り込み)
- ・実検体配布(ウイルスのみを予定・実施機関数の絞り込み 最大20程度)
- ・細菌は28年度に準備し、29年度に検体配布を計画
- ・消耗品費はウイルス精度管理に重点的に配分
- 法改正後の位置づけ
- ◎健康危機対応力の向上等、地衛研の強化につながる取り組みであること！

予定

- ・小班会議 **ウイルス・細菌WG合同会議:7月6日(水)(感染研共用第三会議室)**
- ・研究班会議 平成29年1月11日(水) 午後1時から 感染研共用第2会議室

・精度管理部会・項目小班 10月25日(火)

・ウイルス小班ワークショップ(コアメンバーのみ)

・細菌小班WG会議(コアメンバーのみ)

報告書原稿締切 平成29年1月13日(金)

評価会資料締切 ワードとパワポファイル

研究評価会(2月) 国立保健医療科学院

**項目小班からの調査への協力お願い**

- 平成28年度中に全地衛研を対象として、「病原体検査の質」確保に関するアンケート調査を予定
- 実施時期:未定(担当者の負担が過重とならないよう、11月までに実施したい)
- 調査項目:  
詳細は未定
- 1 法改正施行のウイルス検査、細菌検査に対する影響(厚労省、松井班等との重複は最小限にする予定)
- 2 外部精度管理調査の実施が望ましい病原体、感染症名の調査(法改正前の26年度調査と比較)
- 3 外部精度管理調査の実施が望ましい検査手法の調査(法改正前の26年度調査と比較)
- 4 研修に関する要望(項目、体制、対象者)
- 5 その他

ウイルス、細菌検査体制を堅持するうえで必要な調査項目のインプットや、調査へのご協力をよろしくお願いいたします。