

2. 平成 27 年度 第一回細菌小班会議 資料

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業
「地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための
事業体制の構築に関する研究 (H26-健危-一般-001)」

平成 27 年度 第一回 細菌小班会議

日 時：平成 27 年 5 月 29 日（金）13 時 30 分から 17 時 30 分まで

場 所：国立感染症研究所共用第 3 会議室

<プログラム>

1. 佐多徹太郎（富山衛研）：本年度の研究班について
 2. 吉田 弘（感染研）：病原体検査指針（仮題）の準備状況について
 3. 森本 洋（北海道衛研）：
 - 1) 「昨年度の外部精度管理調査を振り返って」
 - 2) 「本年度の外部精度管理調査への一提案」
 4. 勢戸 和子（大阪公衛研）：本年度の外部精度管理調査について
 5. ほか
- 当班会議は 2 年目となり最終年度になりました。第一回研究班会議（6 月 12 日の全体会議）にむけて、最終年度の外部「精度管理」調査—細菌案についての検討と分担決めが主題です。活発な議論となるよう参加者の積極的な発言をお願いします。
 - 各演者の発表と討論で 各計 1 時間をお願いします。短くなるのは問題ありません。
 - 今回の細菌小班アンケートの最終結果は当日配布します。
 - 吉田先生はウイルス小班にも参加していただいております。
 - 発表者は配布資料（ハンドアウト）A4 一枚に 6 枚スライドで 15 部持参ください。

細菌小班出席者

	氏 名	所 属
1	大石 和徳	国立感染症研究所
2	太田 嘉	横浜市衛生研究所
3	緒方 喜久代	国立感染症研究所
4	黒木 俊郎	神奈川県衛生研究所
5	四宮 博人	愛媛県立衛生環境研究所
6	清水 俊一	北海道立衛生研究所
7	鈴木 里和	国立感染症研究所
8	勢戸 和子	大阪府立公衆衛生研究所
9	世良 暢之	福岡県保健環境研究所
10	森本 洋	北海道立衛生研究所
11	吉田 弘	国立感染症研究所
12	佐多 徹太郎	富山県衛生研究所
13	磯部 順子	富山県衛生研究所

平成 27 年度 第一回細菌小班会議 概要

1. 本年度の研究について（佐多代表）（配付資料 1）

昨年度の研究成果の概要説明

外部制度管理調査の案の提示

本年度の予定について説明

2. 病原体検査指針（仮称）の準備状況について（感染研 吉田先生）（配付資料 2）

感染症法の改正について説明

病原体検査指針の新設、6月くらいにパブコメか？

この指針では、検査室の管理、職員の研修に始まり、機器の保守点検や試薬の管理などにも言及する。「質の管理」という言葉が出てくるが、財源について、財務省からは具体的には何も示されていない。

実施体制は衛研となると想定され、研修体制、検査室の管理、試薬の管理を実施することになる。とりあえずは2類に関して、統一された検査法が示される。他の疾患は統一した方法は記載されない。精度管理で検査精度をチェックしていくことになる。ただし、省令の中に「精度管理」という文言は出てこない。

質問

・予算確保するのは厳しい。平成 27 年度中に要求するためには、9 月の予算時期までに大筋が出ていないと要求さえできない。

・予算を担当する部門（本庁）や、人事課などに、予算と適正な人員の配置を要求できるような「省令」を希望する。

・新規事業として、予算の確保、人員を要求できるのではないか？

・しかしながら、衛研の予算が大枠で決まっているから、他の事業費が削られることにならないか？

・検査を「衛研で実施しなければならない」とは記載されていないため、要求が大きくなりすぎると、検査は外部機関でという結果を招きかねない。

3. 昨年度の調査を振り返って（北海道 森本）（配付資料 3）

昨年実施した「サルモネラ」を対象とした精度管理調査について、石岡先生のまとめられた報告書を基に考察した。この調査では、サルモネラの性状の基準となっている「硫化水素産生性」を示さない株を用いたこと、発育が遅い株の使用など、課題として、複雑になりすぎていると考えられる。

3-2. 今年度の実施項目

アンケートや必要性から考えて、「コレラ菌」を対象として実施することを提案する。

菌株の準備、配送機関、参加機関など、いくつか具体的に決めなければならない。

4. 次年度以降の実施内容について（大阪公衛研 勢戸）（配付資料 4）

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

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

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

5. 細菌小班全体の協議

—どこが主体として精度管理を実施するか？

—他の例から考えると、国衛研、感染研、大きな地研が実施することになる。

—その費用はどうするのか？

—過去は、感染研と国衛研で実施していた。(予算も？)

—今後はどこが実施するのも厳しい。専任の人が必要ではないか？

—ブロックから一人の参加で、細胞培養のワークショップを感染研で開催したが、準備に3か月は要した。

—感染研の役割として「研修」はあるか？

—研修はある。

—トラブルシューティングなど10名だけとなっているが、ブロックごとに開催して、多くの人に参加できるのが良いのでは無いかな？

—ブロックごとに実施し、その検査に長けた人に研修に来ていただくという方法もあるかと思う。

—とりあえず、細菌は分離段階が重要なので、その辺りの精度管理が望ましいが、難しいところである。

6. 全体会議は6月12日

細菌小班の取りまとめは大阪の山本所長にお願いしたい。報告書についても同様、お願いする。

(ご協力ありがとうございました。以下のまとめについて当日議論したいと思います。よろしくお願ひします。)

1. 対象感染症

- 細菌性赤痢
- ①チフス ②パラチフス A ③細菌性赤痢 ④コレラ
- ①コレラ、②腸チフス・パラチフス、③腸管出血性大腸菌
- 耐性菌 (PCR)、腸管出血性大腸菌 (PCR)
- 1. 細菌性赤痢、2. 腸管出血性大腸菌、3. コレラ、4. パラチフス、5. 腸チフス、6. A群溶連菌
- 腸管出血性大腸菌感染症、2番目以降はいずれでも良い
- ①腸チフス ②パラチフス A ③細菌性赤痢 ④コレラ
- (1)コレラ、(2)細菌性赤痢、(3)腸管出血性大腸菌感染症
- ①コレラ ②EHEC ③細菌性赤痢
- 腸管出血性大腸菌感染症、A群溶連菌、細菌性赤痢

→3番目までの集計として1)細菌性赤痢7、2)EHEC6、3)コレラ4、3)チフス3

2. 検査技術

- リアルタイム PCR 等
- ①正確な分離同定技術の習得 ②疫学解析手法 (MLVA など) ③最新機器 (質量分析) を用いた同定手法
- ①分離同定、②PCR
- 1. MLVA、2. シーケンスと樹状解析、3. リアルタイム PCR
- 1) リアルタイム PCR、2) シーケンスと樹状解析、3) MLVA 等
- 1) リアルタイム PCR、2) シーケンスと樹状解析、3) MLVA 等
- (1)コンベンショナル PCR、(2)シーケンスと相同性解析、(3)リアルタイム PCR
- ①分離同定 ②遺伝子検出 ③疫学解析法 (IS-printing など)
- MLVA, リアルタイム PCR, シーケンスと樹状解析

→3番目までの集計、1)疫学的解析法 (IS-printing, MLVA など) 6 2)リアルタイム PCR5 3)シーケンスと樹状解析 5 4)分離 3、ほか

3. 研修案

- 国立保健医療科学院以外に2~3回の個別のウイルス検査や細菌検査の研修を実施してほしい。(現在の HIV 研修に近いもの)
- 具体的な細菌を対象として、地衛研における精度管理の考え方が理解できる研修。その研修を受け、

研修を受講した職員が、各所属に持ち帰って伝達講習できる研修。

- 適正な値が出なかった施設を対象に研修を行いその原因を探り、研修の有効性について評価する
- 予算があれば研修まで実施し、その効果を研究班で評価（検証）したほうが良い。
- 昨年実施したサルモネラ精度管理のトラブルシューティングとして考えましたので、机上での研修（反省）。
- 問題点は、血清型別と非典型的性状株（硫化水素陰性）の検出の2点。
- 血清型別については、S. Cerro が精度管理株として適切であったかどうかは疑問ですが、H型別で第2相を「マイナス」と判断するに至った根拠について参加地研で情報交換できれば、他の血清型（第2相がマイナスの株）の型別に役立つと思います。
- 非典型的性状株については、分離平板とコロニーの特徴、釣菌数についての情報交換。
- 細菌検査では、どんな培地を使ったか、いくつコロニーを調べたか、がスタートになるので、それがわかるような作業記録書を残すことが望ましいと思います。
- 実際にコロニーを釣菌した培地だけでなく、「この培地には発育しなかった」という記録も重要だと考えています。
- 研修は重要なポイントです。国立保健医療科学院での研修コースとリンクできると技術の習得もできるのでベストだと思いますが、派遣旅費や受け入れ人数の関係上、希少感染症などの座学で補てんする必要があると考えます。また、地域ごとに開催されますブロック会議の場を利用するのも良い手段だと思います。
- 昨年度のサルモネラでの研修の評価、課題を踏まえ、今年度、適当な菌種について、実技を含む研修を実施する。

研修の有効性評価、作業記録書を残す、従来の研修とリンク、ブロック会議の場の利用といった意見から、

→外部精度管理と関連する研修（実技??）を実施し、研究班として、その有効性を評価する。従来の研修に直接組み込むことは開催主催者や時間的にむずかしそうで、旅費を考慮すると、ブロック会議の場の利用は一案か。

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-健康一般-001)」

平成27年度 第一回細菌小班会議

日時:平成27年5月29日(金)13時30分から17時30分まで
場所:国立感染症研究所共用第3会議室

プログラム

- 佐多徹太郎(富山衛研):本年度の研究班について
- 吉田 弘(感染症研):病原体検査指針(仮題)の準備状況について
- 森本 洋(北衛研):
 - 「昨年度の外部精度管理調査を振り返って」
 - 「本年度の外部精度管理調査への提案」
- 勢戸 和子(大阪衛研):本年度の外部精度管理調査について
- ほか

配布資料

- 佐多、2. 吉田、3. 森本、4. 勢戸、5. プログラムと出席者リスト、6. 細菌小班回答集計、7. 分担表(2015.5.29時点)

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-健康一般-001):2年計画で最終年度

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

背景

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

研究目的

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

H26年度の研究成果の概要

- 地衛研の感染症に関する精度管理の実態についてのアンケート調査
→10月8日から21日まで調査実施。12月5日に班員に報告資料配付。1月9日の班会議で報告し議論した。
- ウイルスの外部精度管理実施
→ノロウイルスのリアルタイムPCRで実施。10月上旬に参加公募159地衛研の参加を得た。11月上旬に試料を配布、12月中旬から解析、1月班会議で結果報告し議論。参加地衛研に結果を返すとともに、追加調査を行った。
- 細菌の外部精度管理実施
→サルモネラ属菌分離同定について実施。検体発送の制限から、部会員の11地衛研に、12月上旬試料配布。1月の班会議で10地衛研の結果を集計報告。今後、参加地衛研に結果を返すとともに、追加調査を行う。
- 外部精度管理実施要綱(案)の作成
→実施案・要綱の項目案について提示し議論。これまで地衛研で行ってきた研究資料を収集し、案の作成を行った。

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-健康一般-001)

平成26年度 分担研究報告書

平成27年6月

研究代表者
佐多 徹太郎
(富山県衛生研究所)

目次

1. 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」(研究代表者) 1
- II. 分担研究報告書
 1. 感染症検査の種類管理に関する実施概要—アンケート調査結果—
感染症発生動向調査 13
 2. 地衛研検査所へのウイルス検査に際する精度管理に関する技術的支援
水行博一ほか 49
 3. 地方衛生研究所への細菌検査に際する外部精度管理導入に関する技術的支援
石塚大祐ほか 65
 4. 地方衛生研究所への細菌検査に際する継続的精度管理導入に向けての
実証的検証 83
 5. 外部精度管理に関する質疑応答の形成について
佐多徹太郎ほか 89
 6. 検体回収後の施設別結果 101
- III. 研究実施に関する実行一覧表
- IV. 資料
 - 1) 第一回研究班会議資料
(プログラム、会議録、パナーポイント配布資料) 105
 - 2) クレジット、細菌小班会議資料
(プログラム、会議録、パナーポイント配布資料) 123
 - 3) 第二回研究班会議資料
(プログラム、会議録、パナーポイント配布資料) 167

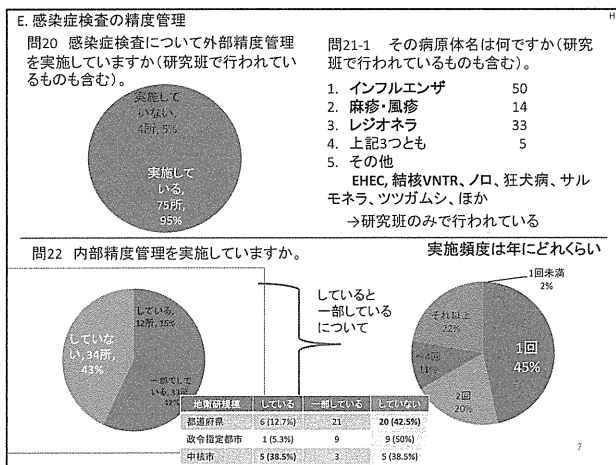
C. 外部精度管理の対象感染症について
問6 地衛研が検査可能な(している)感染症対象疾患
地衛研のおよそ80%以上ができる感染症を下記にリスト

種類	感染症	全体		指定都市		中核都市		その他					
		できる できない	できる できない	できる できない	できる できない	できる できない	できる できない	できる できない	できる できない				
二類 5疾病	重症呼吸器感染症	61	15	80	38	3	83	16	3	84	7	4	84
	鳥インフルエンザ(H5N1)	72	5	94	46	1	98	18	1	95	8	3	73
三類 5疾病	コレラ	78	1	99	47	0	100	18	1	95	13	0	100
	細菌性赤痢	78	1	99	47	0	100	18	1	95	13	0	100
四類 43疾病	腸管出血性大腸菌感染症	78	1	99	47	0	100	18	1	95	13	0	100
	腸チフス	78	1	99	47	0	100	18	1	95	13	0	100
五類 18疾病	パルチフス	78	1	99	47	0	100	18	1	95	13	0	100
	狂犬病	61	16	79	38	8	83	16	3	84	7	5	89
指定 感染症	水痘	72	6	92	45	1	98	18	1	95	8	4	87
	重症熱性血小板減少症候群	70	6	92	45	1	98	18	1	95	7	4	84
五類 28疾病	デング熱	71	7	91	46	1	98	17	2	89	8	4	87
	レジオネラ症	70	7	91	46	1	98	16	2	89	8	4	87
五類 18疾病	後天性免疫不全症候群	60	16	79	38	8	83	14	4	78	8	4	87
	先天免疫不全症候群	58	16	78	39	6	87	15	3	83	4	7	86
五類 18疾病	麻疹	72	3	96	47	0	100	17	0	100	8	3	73
	猩紅熱	72	3	96	47	0	100	17	0	100	8	3	73
五類 18疾病	Rサリネン感染症	63	12	84	45	2	96	16	1	94	2	9	18
	破傷風	64	11	85	45	1	98	17	0	100	1	10	9
五類 18疾病	A群溶血性連鎖球菌感染症	56	19	75	38	9	81	15	2	88	3	8	27
	感染性胃腸炎	75	1	99	47	0	100	16	0	100	12	1	92
五類 18疾病	手足口病	65	10	87	47	0	100	17	0	100	1	10	9
	ヘルパンギーナ	64	11	85	47	0	100	16	1	94	1	10	9
五類 18疾病	流行性脳脊髄炎	61	10	82	43	3	85	16	1	94	2	9	18
	インフルエンザ(鳥インフルエンザ及び新型インフル エンザ等感染症を除く)	71	4	95	46	0	100	17	0	100	8	4	67
五類 18疾病	急性出血性結膜炎	59	16	78	41	5	89	17	0	100	0	11	0
	流行性角膜炎	61	13	82	43	3	93	17	0	100	1	10	9
五類 18疾病	感染性腸炎 (病原体がロタウイルスであるものに限 る)	67	9	88	46	1	99	17	0	100	4	8	33
	無菌性腸炎	65	10	87	47	0	100	17	0	100	1	10	9
指定 感染症	中野呼吸器感染症	67	0	89	45	2	96	17	0	100	5	6	45
	鳥インフルエンザ(H7N9)	70	3	96	45	1	98	17	0	100	8	2	80

問8 外部精度管理が必要と思われる検査の方法・技術

1) 病原体の分離同定!そして2)ゲノムないし分子生物学的検査手法3/4、そして3)抗体価測定のうち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

(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



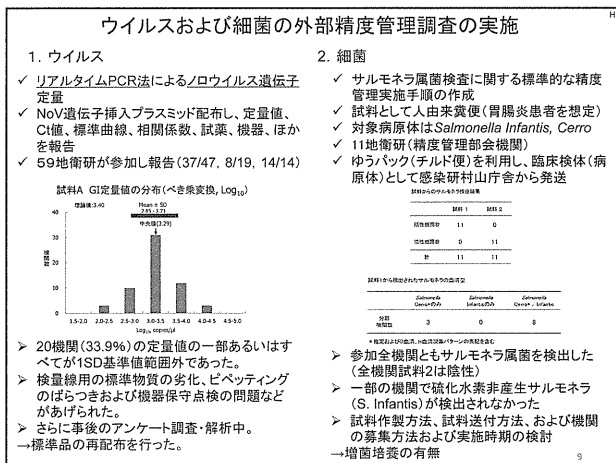
感染症検査はGLPや精度管理になじまない? -1 (寄せられたご意見)

➢ 1) 独自に開発し工夫している、2) 新しいウイルスや検査法が登場、3) あらゆる手技で検出する病原体検査は、「逸脱」ができないGLPや精度管理になじまない

感染症検査の標準作業手順書? (私見)

1. いわゆる食品検査の公定法に類似したような標準作業手順書(SOP, 全国レベル) (全国レベル、どこでも誰でも同じ結果が得られることを目標) →検査結果に信頼性が確保され、法的な人の行動制限に係わる場合
2. 外部精度管理のときに用いる標準作業手順書?(SOP?, 使用目的限定) (全国レベル) →個々の検査施設の全国レベルでの比較、問題点の把握、検査の改善に役立てる
3. 各施設の各部署で用いる標準作業手順書?(検査プロトコルか、施設レベル) (個々の施設レベル、検査の分担、施設の検査の信頼性担保、結果を得る) →複数の担当者が同じように作業でき、同じ結果が得られることを担保する →より良い検査法につなげ改善(創意工夫可)

→複数以上の種類の標準作業手順書?があってもいい?



研究計画(継続申請書20150107提出分)

研究計画:

1. 26年度は、
 - 1)地研における精度管理の実態調査を行った。
 - 2)精度管理実施要綱案を作成するために、地衛研で行ってきた精度管理事業をまとめ、今後に生かす資料とした。
 - 3)協議会と感染研でシステム構築する目的で研究会を開催し議論した。
 - 4)外部精度管理における課題を抽出する目的でウイルスと細菌のモデル事業として外部精度管理を行った。
2. 平成27年度は前年の結果を参照し、
 - 1)外部精度管理実施要綱および
 - 2)外部精度管理実施要領・手順のひな形を作成するために、
 実施案を検討し、解決すべき課題の整理、体制づくりの検討等を行い、実施計画案を作成する。

H26年度のまとめ 1 (20150401) H26研究報告書から

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

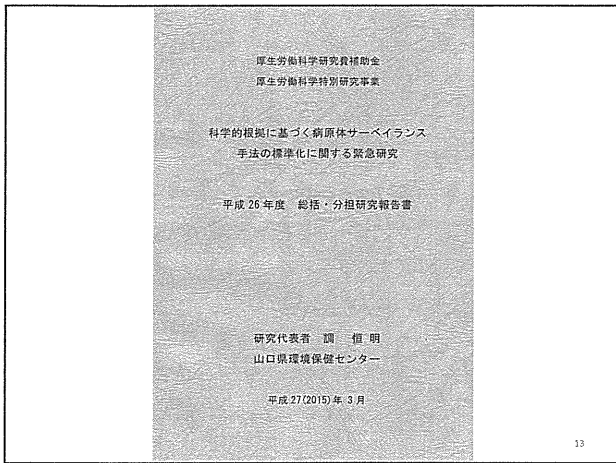
厚生科学研究費補助金(保健医療福祉地域総合調査研究事業) 衛藤班1 表1
「地方衛生研究所の機能強化に関する研究」分担研究
「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」
分担研究者 衛藤繁男(神奈川衛研) H9(1997)年3月(最終年度)

目次

1. 分担研究報告書 1
2. 行政検査における精度管理システムの構築に関する概要 5
3. アメリカ合衆国における Public Health Laboratories の役割と精度管理システム 9
4. 外部精度管理調査(総括) 51
5. 外部精度管理調査「微生物部門：細菌系」 55
6. 外部精度管理調査「微生物部門：寄生虫系」 79
7. 外部精度管理調査「理化学部門：食品添加物」 83
8. 外部精度管理調査「理化学部門：農薬」 95
9. 内部精度管理でマニュアル作成(総括) 109
10. 内部精度管理の進め方と留意点(微生物部門) 111
11. 内部精度管理の進め方と留意点(理化学部門) 119
12. 業務論文書作成のための一般的考え方 123
13. 標準作業書作成のための標準作業書(案) 127
14. 寄生虫に対する抗体測定に用いる ELISA のための標準作業書(案) 131
15. 研修 135

資料

1. 外部精度管理調査資料
 - 微生物部門細菌系外部精度管理調査票、配付試料調査票、供試菌株参考性状
 - 微生物部門寄生虫系外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考回答
 - 理化学部門(食品添加物)外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考値
 - 理化学部門(農薬)外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考値
2. 研修資料
 - 研修に関するアンケート調査集計結果
 - 赤痢アメーバ、クリプトスポリジウムを中心とした腸管寄生性原虫の検査法



目次	8 ウイルス感染体サーベイランスの現状に関する研究 研究代表者 菅田洋子 愛知県衛生研究所 259
1 平成26年度分担研究報告書	9 病原体サーベイランスに関する科学的根拠 研究代表者 三好清孝 川崎市健康推進課 273
科学的根拠に基づく病原体サーベイランスの現状に関する緊急研究 研究代表者 調 信明 山口県環境保健センター 12	10 感染症発生動向調査システム (DISIS) 運用の改善ポイントに関する研究 研究代表者 大石和樹 国立感染症研究所 282
2 感染症発生動向調査システムにおける感染症発生に関する調査 研究代表者 調 信明 山口県環境保健センター 119	11 研究費の活用に関する一覽表 287
3 分担研究報告書	V 研究費の取組内容・一覧表 288
1 インフルエンザウイルスサーベイランスの現状に関する研究 研究代表者 野田洋子 愛知県衛生研究所 129	
2 国内におけるインフルエンザウイルスサーベイランスと国際ネットワークの活用に関する研究 研究代表者 小嶋明子、渡邊真由 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター 152	
3 感染症サーベイランスの現状に関する研究 研究代表者 渡邊真由 大阪府立中央衛生研究所 112	
4 感染症サーベイランスの現状 (経路・感染・発生)に関する研究 研究代表者 野田洋子 愛知県衛生研究所 158	
5 インフルエンザ発生動向調査システムの実証研究 研究代表者 熊本二 徳島県立大学国際学術推進室 216	
6 インフルエンザウイルスサーベイランスの現状に関する研究 研究代表者 野田洋子 愛知県衛生研究所 222	
7 インフルエンザウイルスサーベイランスの現状に関する研究 研究代表者 野田洋子 愛知県衛生研究所 228	

まとめ から 提案 (20150401) H26研究報告書から

対応<案を提示>

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

いわゆる「外部精度管理」調査の検討事項(以下のスライドに詳細あり)

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

まとめるもの

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

「外部精度管理」調査の対象とすべき感染症(優先性の基準)

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

ほか

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

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

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

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

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

病原体検査標準作業手順書SOPの作成

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

精度管理実施

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

ほか

- ◆ インフルエンザウイルス
- ◆ レジオネラ

問6 地衛研が検査可能な(している)感染症対象疾患

地衛研のおよそ80%以上ができる感染症を「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→厚労省、研究班?

<ウイルス>	<細菌>
四 ウエストナイル熱 902	三 コレラ 351
A型肝炎 157	細菌性赤痢 1,045
重症熱性血小板減少症候群 54	腸管出血性大腸菌感染症 9,983
デング熱 372	腸チフス 800
五 後天性免疫不全症候群 18,532	バラチフス 692
先天性風しん症候群 169	
風しん 3,766	四 レジオネラ症 806
麻しん 3,421	五 A群溶血性レン球菌咽頭炎 990
五 RSウイルス感染症 2,107	
定 咽頭結膜熱 2,327	<リケッチヤ>
感染性胃腸炎 13,436	感染性胃腸炎 211
手足口病 3,401	つつが虫 211
ヘルパンギーナ 2,049	日本紅斑熱
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	

V.4 (20150228Final)

問7 地衛研の検査担当者が外部精度管理を行うことが「望ましい」と考える感染症

- 麻疹37
- インフルエンザ35
- 腸管出血性大腸菌感染症・腸チフス・鳥インフルエンザ33
- 鳥インフルエンザH5N1・感染性胃腸炎31
- 風疹27
- レジオネラ23
- 細菌性赤痢22
- コレラ・パラチフス21
- 結核20
- SFTS/MERS18
- デング熱16
- ロタウイルス11、ほか

→話題となっている感染症も含まれているが、検査を担当して必要性を感じたものとして、下線はとくに外部精度管理の対象感染症となろう。問6の結果とも重複。

以下、小班の方をお願いします。
具体的な研究計画の作成にむけて、以下3点について回答をお願いします。
→1. 対象感染症について、下記1)ないし2)から選んで順位をつけてお知らせ下さい。
→2. 検査技術を選ぶとすれば、3)からどれがよしいか順位をお知らせ下さい。
→3. 研修案について、ご意見ください。
→ウイルスと細菌で各2-3個の感染症について書類作業、うち一つを調査実施できないか？小班会議までにメール等で候補を選択・順位づけ、小班会議で結果を示し、検討し、具体的な分担を決め、今後の作業予定を検討する？

- 外部「精度管理」調査の対象感染症の候補
 - ウイルス: 感染性胃腸炎、デング熱、A型E型肝炎、RSウイルス、咽頭結膜熱、手足口病、無菌性髄膜炎など
 - 細菌: 腸管出血性大腸菌感染症、細菌性赤痢、コレラ、腸チフス、パラチフス、A群溶連菌など
 - 検査技術(別個でも感染症検査と組み合わせても可?) : シーケンスと樹状解析、リアルタイムPCR、MLVA等
- 研修案の具体化→担当をきめ、計画を立て、実施。
 - 昨年のノロウイルス、サルモネラの調査結果に基づいて、今回の研修案に基づいて最終的なまとめを行う？
 - 今回の調査では研修までに行い、有効性について評価する？→今回、参加機関数は多くない？

細菌小班(20150529) パワポアンケートの回答結果まとめ-1

1. 対象感染症

- 細菌性赤痢
- ①チフス ②パラチフスA ③細菌性赤痢 ④コレラ
- ①コレラ、②腸チフス・パラチフス、③腸管出血性大腸菌
- 耐性菌(PCR)、腸管出血性大腸菌(PCR)
- 1. 細菌性赤痢、2. 腸管出血性大腸菌、3. コレラ、4. パラチフス、5. 腸チフス、6. A群溶連菌
- 腸管出血性大腸菌感染症、2番目以降はいずれでも良い
- ①腸チフス ②パラチフスA ③細菌性赤痢 ④コレラ
- (1)コレラ、(2)細菌性赤痢、(3)腸管出血性大腸菌感染症
- ①コレラ ②EHEC ③細菌性赤痢
- 腸管出血性大腸菌感染症、A群溶連菌、細菌性赤痢

→3番目までの集計として
1)細菌性赤痢7、2)EHEC6、3)コレラ4、4)チフス3

細菌小班(20150529) パワポアンケートの回答結果まとめ-2

2. 検査技術

- リアルタイムPCR等
- ①正確な分離同定技術の習得 ②疫学解析手法(MLVAなど) ③最新機器(質量分析)を用いた同定手法
- ①分離同定、②PCR
- 1. MLVA、2. シーケンスと樹状解析、3. リアルタイムPCR
- 1)リアルタイムPCR、2)シーケンスと樹状解析、3)MLVA等
- 1)リアルタイムPCR、2)シーケンスと樹状解析、3)MLVA等
- (1)コンベンショナルPCR、(2)シーケンスと同定性解析、(3)リアルタイムPCR
- ①分離同定 ②遺伝子検出 ③疫学解析法(IS-printingなど)
- MLVA、リアルタイムPCR、シーケンスと樹状解析

→3番目までの集計、
1)疫学的解析法(IS-printing, MLVAなど)6
2)リアルタイムPCR5
3)シーケンスと樹状解析5
4)分離3、ほか

ウイルス小班(20150520) パワポアンケートの回答結果まとめ-1

1. 対象感染症について(ウイルス)
"???" 1)感染性胃腸炎 2)A型・E型肝炎 3)デング熱 ???"

→(3位以内の集計) デング熱7、手足口病5、無菌性髄膜炎4、感染性胃腸炎3
→ 手足口病 書類作成のみを予定

2. 検査技術について
"???" 1)リアルタイムPCR 2)シーケンスと樹状解析 {3)その他(MLVA等)}???"

→ シーケンス(と樹状解析)4、リアルタイムPCR 4
→ (昨年度はノロウイルスでリアルタイムPCR)

問6-4. 検体の種類

V.4 (20150228Final)

感染症全体で集計

細菌性とウイルス性感染症の両方で検査する機関がみられた

ウイルス感染症として検査する機関が多かった

ウイルス感染症として検査する機関が多かった

- 1. 糞便(腸内容物、直腸ぬぐい液)
- 2. 髄液
- 3. 尿
- 4. 喀痰
- 5. 気管吸引液
- 6. 穿刺液(腹水、胸水、関節液等、その他)
- 7. 咽頭ぬぐい液(うがい液、鼻汁)
- 8. 皮膚病巣(水疱内容、瘻皮、創傷)
- 9. 結膜ぬぐい液(擦過物、眼脂)
- 10. 陰部尿道頭管擦過物/分泌物
- 11. 細胞診・生検・剖検組織
- 12. 血液(全血、血清、血漿)
- 13. その他

「外部精度管理」調査を行うときのアンケート調査
→「内部精度管理」状況の調査を兼ねる？
(チェックシートの作成・配布・参考資料)

- 事前・参加アンケート調査
 - 1) 「外部精度管理」調査への参加申し込み
 - 2) 参加条件に合致するか(機器の保有状況等)?
 - 3) ほか
- 参加者への調査
 - 1) 実施要領・手順等とともに配布
 - 2) 標準品の保存および使用状況等
 - 3) 使用する試薬の管理状況(メーカ、ロット番号、使用期限、保存状態、記録など)
 - 4) 使用する機器の管理状況(名称、保守管理の状況など)
 - 5) 担当者情報(連絡先、経験年数等)
 - 5) ほか、必要な事項

事前・事後のアンケートには多くの回答の書き込みがあった

3.4は病原体検査指針参照

→「内部精度管理」調査関連事項を確認するチェックシート
「内部精度管理」調査を促進する目的

25

「外部精度管理」調査の案 H26研究報告書をもとに

調査項目の策定
1. 対象感染症
2. 検査項目
直の分属・同定
適任者抽出等

1. 対象感染症ないし検査技術を決める(運営機関や委員会等)
2. 試料作製と配布(実施機関から参加機関へ)
3. 事前ないし同時にアンケート調査(試料の受取状態、検査までの保存、検査日、内部精度管理「検査試薬と管理状況、使用機器とその管理状況」、結果の報告日、感想等)を運営・実施機関から参加機関に配布
4. 作業要領・手順書、回答様式、等(実施機関から参加機関へ)
5. 結果報告(参加機関から実施機関)
6. 集計と解析、結果報告(実施機関から各参加機関へ)
7. 事後アンケート調査 一旦終了

26

外部精度管理との関連が考慮される研修等(2015.2.28) 表6

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

27

「外部精度管理」調査と関連した研修(案)

解析・検討を含む研修

1. 検出良好な機関代表と検出に不都合があった機関代表を実施機関でWGの選出(計10名以内)
2. 報告結果と事後アンケート調査をもとに振り返り調査を各自事前にプレゼン資料作成
3. 半日程度の研修に集合(日帰り?)
4. プレゼン、質疑応答、議論(これを研修とする)
5. 内容を各自まとめ直し、実施機関に報告
6. 実施機関のファシリテータが最終検討報告書を作成
7. 別の研修会ないし衛生微生物協議会で実施機関の代表が報告し、報告資料を配付。
8. 必要に応じて次回の調査に生かす → 病原体検査マニュアル?

経費の予算次第で
1. 各支部で実施
2. 1カ所のみ複数のWG
3. HPの活用など

28

H27年度 外部精度管理調査案作成と実施を計画

1. 外部精度管理調査 → 対象は? 実施要領、実施作業手順書、アンケート等
2. 関連する 内部精度管理調査 → ひな形になるような様式
3. 関連する 研修 → 実施して評価 実施案作成

今年の計画案の提示

1. 森本先生
2. 勢戸先生

その前に
吉田先生: 感染症法改正と病原体サーベイランスについて

29

平成27年度の予定表

1. 研究班員の異動にともなう変更 平成27年4月
2. 交付申請書提出: 平成27年4月24日金(22日夕方終了予定)
3. 小班会議 ウイルス:5月20日水 細菌:5月29日金の午後1:30(感染研共用第3)
4. 第一回研究会議 平成27年6月12日 午後1時から 感染研共用第2会議室
5. 研究実施 体制小班はメール、ウイルスと細菌の調査実施 9月頃? -10月?
6. 精度管理部会 11月3日 長崎市 総会前1時間程度 進捗状況報告と議論
7. 第二回研究会議 平成28年1月8日(金) 午後1時から 感染研共用第2会議室
8. 報告書締切 平成28年1月15日(金)
9. 評価会用資料締切 ワードとパワポファイル 平成28年1月15日(金)
10. 研究評価会 平成28年2月下旬 国立保健医療科学院

30

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-健康-一般-001)」

2015.5.20資料

病原体検査指針(仮称)の準備状況について

国立感染症研究所
ウイルス第二部 吉田弘

改正法施行に向けて必要なもの

- 感染症法施行規則(省令)
- 感染症の予防の総合的な推進を図るための基本的な指針(告示)
- 感染症発生動向調査実施要綱(改正版)
- 病原体検査指針

H27.1. 結核課作成「感染症発生動向調査事業及び感染症法改正に関する変更点について(情報提供及び依頼)」より

改正法(感染症に関する情報の収集体制の強化)施行に向けたタイムスケジュール(見込み)

※その他平成26年10月に感染症サーベイランスシステム(NESID)のシステム改修を実施する予定

※科学的根拠に基づき病原体サーベイランス手法の標準化に関する研究
※国内の病原体サーベイランスに関する国際的なネットワークの強化に関する研究
※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
※自然疫源症を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究

インフルエンザ病原体定点に関する感染症発生動向調査の現状

患者定点(全国:小児科3000+内科2000)

約10% 病原体定点の設計

病原体定点 → 検体採取 → 輸送 → 検体受付 → 検体処理 → 検査 → 報告

地方衛生研究所で行う業務

中央情報センター

上記の検体提出は病原体定点医療機関によって対応にばらつきあり(検体数は自治体で指定)

あらゆる手段を用いて検出することを最優先

- 受け付けたものを検査
- 個票の情報をもとに検査
- 検体保管管理

H27.1. 結核課作成「感染症発生動向調査事業及び感染症法改正に関する変更点について(情報提供及び依頼)」より

法改正後の感染症発生動向調査(定点でのイメージ)

都道府県が行う業務
患者定点(全国:小児科3000+内科2000)
+衛生検査所900程度

病原体定点の設計

病原体定点 → 検体採取 → 輸送 → 検体受付 → 検体処理 → 検査 → 報告 → NESID

検体採取の基準を規定

- 定点の割合(小児科/内科)
- 検体採取の頻度・期間
- 検体数の基準
- 検体の種類
- 採取のタイミング
- 定点外の検体

検体の基準を規定

- 組織 研修
- 品質管理(SOP,作業日誌、台帳)
- 検査室の構造(特にPCR検査)
- 検査業務の管理(機材保守、試薬管理)
- 精度管理(内部、外部)
- 検査結果の報告、保管
- 感染研への送付

検体保管の基準を規定

より信頼性の高い感染症発生動向調査(病原体定点)

H27.1. 結核課作成「感染症発生動向調査事業及び感染症法改正に関する変更点について(情報提供及び依頼)」より

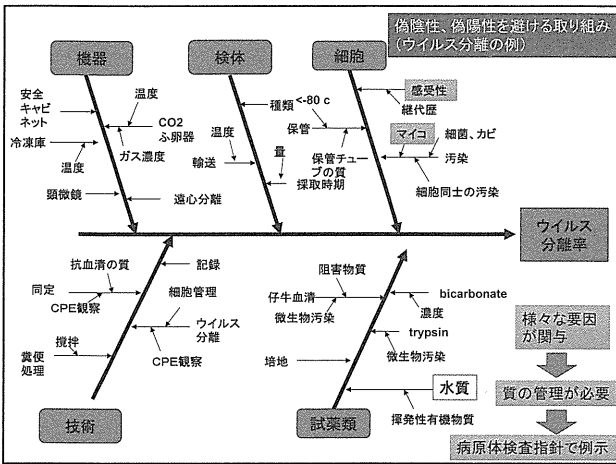
なぜ質の管理が必要か

ウイルス遺伝子解析の例

各ステップの信頼性を90%担保	各ステップの信頼性を99.9%担保
ウイルス	ウイルス
↓ 0.9	↓ 0.999
核酸抽出	核酸抽出
↓ 0.9	↓ 0.999
PCR(核酸増幅)検査	PCR(核酸増幅)検査
↓ 0.9	↓ 0.999
ウイルス遺伝子解析検査	ウイルス遺伝子解析検査
↓ 0.9	↓ 0.999
判定	判定

検査の信頼性確保には各ステップの質を高める必要がある。(試薬、機器、手技、標準マニュアル、記録などの管理)

4ステップの信頼性=0.9⁴=0.6561 4ステップの信頼性=0.999⁴=0.996



病原体検査指針(仮称)について(報告書より抜粋)

作成の目的

感染症法改正に伴い、地方公共団体における病原体検査が明文化。検査の質を確保するため、検査実施上の、基準等を定める必要がある。

概要

1. 病原体検査の実施体制
2. 職員の教育・研修
3. 検査室等の管理
4. 機械器具保守管理
5. 試薬等の管理
- 5-1 試薬等の管理について-培養細胞
6. 有毒な又は有害な物質及び危険物の管理
7. 検体(含む病原体)取扱いについて
8. 病原体検査の管理
9. 病原体検査の質管理(質保証)の実施
10. 第三者機関による病原体検査の質評価について
11. データ等の作成・保存要領
12. 国からの検体提出要請
13. 国への検体検査依頼
14. 地方衛生研究所等の検査機関から国立感染症研究所への検体送付要領
15. 病原体情報の収集と発信

1 実施体制

- 管理者は地方衛生研究所長を想定
- 検査部門責任者は病原体検査部門の管理職を想定、ウイルス、細菌などの検査区分を統括する。
- 検査区分責任者はウイルス、細菌などの検査区分における責任者を想定。
- 検査部門責任者と兼任可能を想定。検査に必要な各種SOPの作成、検査結果の保管確認などの管理業務を行い、業務に支障がない限り、検査業務に従事することができることを規定。
- 検査の質管理(保証)担当者は当該検査とは独立した存在であること。病原体検査のレベルを一定に保つための定期的な技能点検、外部による技術評価、に関する事務を行う。

検査部門責任者と区分責任者は兼任可能とする

管理者

検査責任者

検査の質管理責任者

検査区分責任者(ウイルス)

検査区分責任者(細菌)

検査区分責任者(その他)

2. 職員の教育・研修について

各種規則	既存の研修	今後検討すべき研修
<ul style="list-style-type: none"> ● バイオセーフティ ● 輸送 ● その他 	<ul style="list-style-type: none"> ● On the job ● 科学院が実施する研修(隔年実施:ウイルス、細菌) ● 新興再興感染症研修(5日程度) 	<ul style="list-style-type: none"> ● 1-2日の短期研修(左を補充する) ● 検査の質管理研修

これまで実施していた研修(自治体による取り組みは異なる)

検査結果の信頼性をより高めるために

3. 検査室等の管理について

1) 微生物学的検査室

2) 遺伝子検査室

物理的な環境

核酸抽出作業を行う室、遺伝子増幅産物の検出作業を行う室を物理的に区分。

試薬の調整を行う場所は他と区分されなければならない。なお、空調設備は前記の室ごとに独立していることが望ましい。

遺伝子検査室の動線の基本的な考え方

増幅したものを微量なところに持ち込まない

核酸抽出室 → 遺伝子増幅(機器の設置) → 遺伝子増幅物の検出室

試薬調製の区画*

ヒトとモノの動線

*独立した区画が望ましいがグリーンベンチなども可

(例) 遺伝子配列の読み取りが困難な要因

塩基配列が読めない

反応側の要因

出発材料の要因

反応試薬の質、条件

PCR装置の不具合

プライマーのデザイン、質

テンプレートの質、量

混合感染

ポリマー、バッファの質

キャピラリーの劣化

適切な反応DyeSetの指定(BigDye ver 1.1 或いは3.1)

オートサンブラーとプレートの不具合(サンブラーがとれていない)

その他、機械的な要因

遺伝子解析装置本体側の要因

(例)

- 波形シグナルが弱い、あるいは強すぎる。
- 波形が重なる。
- 途中で反応が止まっている。

比較的良好な要因

4. 機械器具保守管理について

病原体検査には遺伝子検査等、技術の進歩に伴い、コンピューター制御による精密機器を用いることが増えた。信頼性を確保し、不具合を避けるために、予防的な日常保守点検、定期点検が必要となる。

- 日常点検の方法-使用前、使用后等
- 定期点検の方法-定期的な保守点検に関する計画
- 事故対応の方法
- 保守記録台帳、使用記録台帳

適切なタイミングで保守点検、試薬類更新、研修を実施

機器の設置

- 操作手順書の作成
- 教育訓練
- 保守管理、消耗品調達

利用

- 日常点検
- 使用記録

保守管理

- 定期点検
- 保守点検記録

逸脱管理→事故対応の方法

検査の質管理(内部精度管理、外部精度管理)により状況を把握

想定される必要な機器と点検スケジュール

主な機器	使用時点検 (使用前、使用後)			月単位の 点検	定期保守	季節性 インフル S類(その他)			
	○	-	△			ポリオ	H5/H7	インフル	S類(その他)
安全キャビネット	○	-	○			●	●	●	●
クリーンベンチ	○	-	○			●	●	●	●
遠心分離機	○	-	○			●	●	●	●
高圧蒸気滅菌器	○	-	○			●	●	●	●
乾燥滅菌器	○	-	○			●	●	●	●
ふ卵器 (CO2インキュベーターを含む)	-	○(温度モニター)	○			●	●	●	●
核酸増幅装置	-	-	○			●	●	●	●
リアルタイムPCR装置	○	-	○			●	●	●	●
自動核酸分析装置 (DNAシーケンサー)	○	-	○			●	●	●	●
検体増幅装置	-	-	-			●	●	●	●
リアルタイムPCR装置	○	-	○			●	●	●	●
電子天秤	-	-	○			●	●	●	●
パルスフィールドゲル電気泳動装置	○	○	○			●	●	●	●
ELISAリーダー	○	○	○			●	●	●	●
自動核酸抽出装置	○	-	○			●	●	●	●
生物顕微鏡 (正立、倒立顕微鏡を含む)	-	-	-			●	●	●	●
その他顕微鏡 (蛍光顕微鏡、微分干渉顕微鏡)	○	-	○			●	●	●	●
冷蔵庫、冷凍庫、超低温槽	-	○(温度モニター)	△(超低温槽)			●	●	●	●

灰色部はSOP作成が望ましいと考えられる

機器保守管理SOP記載事項の例

SOP記載項目	定義・内容等	対象病原体			
		ポリオ	H5-H7	季節性インフルエンザ*	S類定点(その他)*
適用機器	施設内の機器の名称、型番、設置場所	○	○		
点検計画	日常点検、定期点検のスケジュール	○	○		
日常点検	取扱説明書に記載された点検方法(使用前、使用后点検)	○	○		
定期点検	取扱説明書に記載された校正等の定期点検方法(含むメーカーとの年間契約)	○	○		
異常時の処置	機器の操作中異常の記録、処理の方法、代理店の連絡先	○	○		
使用記録		○	○		
点検記録		○	○		

*2類でほぼSOPは整備されることから、必要に応じて対応

5. 試薬等の管理について

- 病原体検査は定性的な検査項目が多い。
- 管理対象物は検査判定の基準となる陽性対照(病原体、遺伝子等、細胞も含む)。

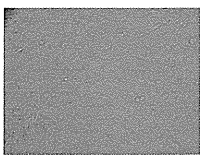
試薬等管理標準作業書に含まれる項目の例

SOP記載項目	定義・内容等	ポリオ	H5-H7(遺伝子検査)	季節性インフルエンザ	S類定点(その他)	
調整方法	試液	検査SOPに基づき調製	○	○	○	汎用的なもの
	培地(細菌、ウイルス等)	検査SOPに基づき調製	培地(ポリオ分組用)	培地(インフル分組用)	培地(インフル分組用)	汎用的なもの
	陽性対照(遺伝子診断)	入手年月日と調製記録		陽性対照	陽性対照	汎用的なもの
	参照株	保管条件、入手年月日と調製記録	○		○	汎用的なもの
細胞	入手年月日と調製記録	RD-A, L20B細胞			MDCK細胞	汎用的なもの
表示法	試薬	入手年月日、開封年月日、ロット番号など表示	○	○	○	汎用的なもの
	試液	調製日、使用期限、調製者など表示	○	○	○	汎用的なもの
	培地	名称、調製日、使用期限、調製者	○	○	○	汎用的なもの
	細胞	継代数、継代日など	○	○	○	汎用的なもの
	陽性対照	名称、調製日、濃度		○	○	汎用的なもの
	参照株	名称、調製日	○	○	○	汎用的なもの
試薬などの管理の注意事項			○	○	○	汎用的なもの
管理記録	試薬等の種類に応じた管理記録簿(保管条件、数量、使用数など)		○	○	○	汎用的なもの

5-1 試薬等の管理について 培養細胞

ワクチン候補株の選定、耐性株の解析を目的としたウイルス分離株を得るために培養細胞の維持管理は基本である。顕微鏡下の観察では、目的とするウイルスへの感受性はわからないが、適切に保存された参照株を用いた感受性試験(ウイルス力価)を定期的に行うことで客観的に細胞の状態を評価できる。

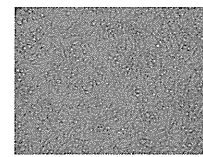
ウイルス感染前



Enterovirus CPE case by RD-A cell

➔

感染後(細胞が破壊されてゆく)



感受性の確認が必要

7. 検体(含む病原体)取扱いについて

検体(含む病原体)取扱は検体の受付時から検査終了後の検体、病原体の保管、保存を想定(発生动向調査により実施される検査)

検体、病原体取扱標準作業書

SOP記載項目	定義・内容等
検体受付時の確認事項	同一性 検査票と、検体のラベルが一致しているか
検査目的	
検体の状態	外観、量の確認
受付管理	検体の種類に応じて受付管理簿への記載(保管条件、数量など)
取り違え、紛失防止	受付時のダブルチェック法
検体(病原体)の分割に関する事項	検査目的に応じ、検査区分ごとに分割するときの取違え防止法
検体(病原体)受領後の保管	保管条件 検査前の一時保管の方法、温度など保管条件
	保管容器への表示内容 容器ごとに番号等を表示
	保管場所 受付管理簿に記載
検査終了後の検体(病原体)保存	保存期間及び保管条件 各病原体検査SOPで定める(保存方法)
	検体(病原体)の廃棄法
廃棄手続	関係帳簿(書類)に記載し検査区分責任者の確認

8. 病原体検査の管理について

目的

① 感染症発生動向調査事業において病原体定点から収集した検体の検査を行い、一定水準の検査結果を得、国内の病原体の流行状況を調べること、

② 都道府県知事が検体提出を要請した病原体検査の信頼性を保証することを目的としている。

病原体検査は薬品、食品のように国際的に統一された標準試験のようなものは、ほとんどないのが現状。

定性的な検査も多いため、検査結果は、技術的な評価及び臨床症状を含め総合的に解釈を行う必要がある。

標準作業書

地方衛生研究所で実施する2類、新型インフルエンザなど行政対応が必要な疾患、季節性インフルエンザなど全国一律の調査を目的とした疾患に関しては、標準的な検査法を通知などで示し、各地衛研の検査体制に応じて準備いただくことを想定。

上記以外は、成書、病原体検査マニュアルなどを参考にして作成いただくことを想定。

19

病原体検査標準作業書に含まれる項目例						
SOP記載項目	定義・内容等	ポリオ	H5-H7	季節性インフルエンザ	5月以降(その他)	
検査の項目	感染症の名称	○	○	○	○	
検体の種類	血液、尿、咽頭ぬぐい液等を記載。	○	○	○	○	
検査法	原理	PCR法;分型;同定法等検査法を記載	○	○	○	
	出典	SOP見直しの際に必要。	○	○	○	
作業環境(バイオセーフティレベルの記載)	実施場所(御座番号等)を含む	○	○	○	○	
試薬等	調整法・保管	◎	◎	○	○	
	標準品/株	◎	◎	○	△(あるものについて記載)	
検体等	前処理	◎	◎	○	○	
取扱い	保管	研究室内での検査までの一時保管方法を記載	◎ (時間+温度)	◎ (時間+温度)	○ (温度)	△条件なし
機械器具	機器・器具	使用する機器等を研究所のどこに位置しているかも含め記載	◎機器を限定	◎機器を限定	○	
	器材(消耗品)	ピペット、チップ等必要な消耗品を記載	◎	◎	○	
	機器点検・消耗品管理		◎	◎	○	
検査/操作上の注意点			◎	◎	○	
検査の手順	検査の名称	検査の方法を列挙	○	○	○	
	手順	列挙された方法ごとに手順を作成。	◎	◎	○	
結果の判定		技術的な観点からの判定について記載し、臨床症状等を含め、総合的に判定。	◎	◎	○	
記録の保存・保管		保管する書類を列挙。	○	○	○	
その他	教育訓練	検査を実施する際に必要な研修や資格等	◎	◎	○	

20

1. 昨年度の外部精度管理調査を振り返って
2. 本年度の外部精度管理調査への一提案

北海道立衛生研究所 森本 洋
H27.5.29 第一回細菌小班会議

1

1. 昨年度の外部精度管理調査を振り返って

2

検討課題 (石岡先生第二回班会議スライドより)

- 細菌検査精度管理実施要領の改訂
- 他の添加菌種の検討および菌株の入手方法
- 試料の作製について(臨床検体、菌株)
- 試料送付方法
- 試料送付に関わる送料および・・・
- 対象参加機関および実施時期

3

さらに報告書本文結論には

- 全国70以上の地衛研に同時に同一条件で臨床検体を送付することは現状の体制では難しい。
- このことに関する考察は他の分担研究に譲るとしても、まずは、精度のしっかりした試料を作製することが必要であり、そのためには素性のはっきりした菌株の収集も重要であることが示唆された。

4

昨年度供試試料

- 材料: ヒト由来糞便(胃腸炎患者を想定)
- 対象病原体
添加血清型:
Salmonella Infantis(鶏肉由来)
→ 硫化水素非産生性の非典型株
Salmonella Cerro(鶏盲腸便由来)
* 両血清型とも食肉衛生検査所から分与
* それぞれ100000CFU/g添加し、シードスワブで対応



感染研保有の菌株から供試するのは困難だった、とコメントされていた。

5

菌株選定にあたって

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

6

昨年度供試試料

- 材料:ヒト由来糞便(胃腸炎患者を想定)
- 対象病原体

添加血清型:

Salmonella Infantis(鶏肉由来)

→ 硫化水素非産生性の非典型株

Salmonella Cerro(鶏盲腸便由来)

両血清型とも食肉衛生検査所から分与

→ このようなサルモネラ感染症が実際に発生しているのであれば...

7

昨年度結果

各試料からの検出結果

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

試料1における検出結果

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

Cerro*: 推定およびO血清、H血清凝集パターンの表記を含む

ここで気になる点として

① Cerro*のみ: 3、Infantisのみ: 0

② Cerro*推定およびO血清、H血清凝集パターンの表記を含む

8

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

- 増菌培養の有無ではないか。
- 有: DHL,SS,ESサルモネラⅡで複数のサルモネラの存在が示唆。
- 無: SS,ESサルモネラⅡで複数のサルモネラの存在が示唆。

確かに検証では、増菌有りの場合、DHLでの確認がしやすくなったと報告されているが...

1枚のシャーレから3~5コロニー釣菌し確認したと記載されているが、条件、分離培地、正確な確認個数とそれに合わせた同定結果の記載がないため、詳細不明。

9

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

- 試料到着から検査実施までのタイムラグの影響ではないか。試料送付H26.12.5および12.8に対し、
- 検証データ詳細:H26.12.9に実施したのも
- 検証データ省略:H26.12.15以降の第二週目
- 第二週目の検証では
- 直接塗抹した平板の発育状態は、送付直後と比較しあまり良くない。この場合、明確に発育するまでにさらに1日を要した。

* 試料送付から検査までのタイムラグの影響が指摘されており、今後の外部精度管理試料の安定化に向けた検討が必要と思われた。

10

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

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

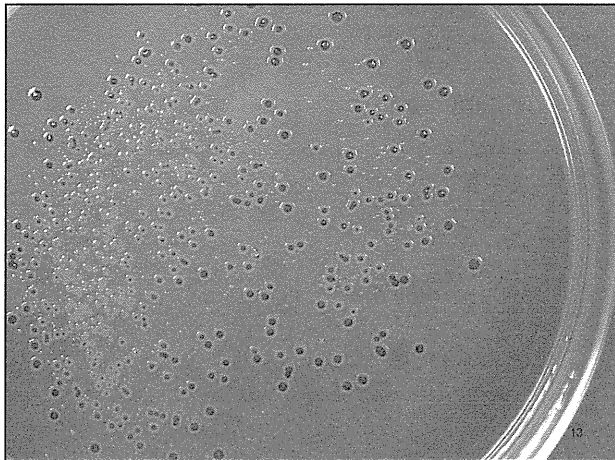
- 試料受け取りH26.12.8、検査開始当日中
- サルモネラ症の場合、急性期では増菌を行わないのが一般的。当所でも実施せず。
- シードスワブを1mlの滅菌生食に懸濁後、DHLとクロモアガーに塗抹。
- DHL、クロモアガーからそれぞれ3コロニー釣菌
- DHL → すべてCerro*、クロモ → すべてInfantis

11

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

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

12



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

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

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

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

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

- II、IIIaは生化学的性状から外せる。
- O6は市販品有り。が、_のある部分は、保有していない場合もある。[1,5]も通常分離株には存在しない場合が多い。
- 北海道の結果(抗原構造)
① O6,18:Z₄,Z₂₃:− ② O18:Z₄,Z₂₃:− ③ O18:Z₄,Z₂₃:1,5

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

- 北海道の結果(抗原構造)
① O6,18:Z₄,Z₂₃:− ② O18:Z₄,Z₂₃:− ③ O18:Z₄,Z₂₃:1,5
- ①、③はCerroと考えられる
- ②は、Aarhusの第2相脱落株の可能性が否定できない。(近年、O4:i:−のように、Typhimuriumの可能性のある第2相脱落株による患者発生が増えている)

⇒ このように抗原構造において変異が起こりやすいタイプは、外部精度管理にはマッチしないと思われる。評価が難しくなる。

2. 本年度の外部精度管理調査への 一提案

外部精度管理対象感染症として アプローチしやすいもの

- 過去において国から何らかの通知が発出されているもの
- 例えば、感染症発生動向調査上より積極的に調査が求められているもの。
- * 細菌性赤痢、コレラ、腸チフス、パラチフス、サルモネラ属菌(特にEnteri?)、腸管出血性大腸菌、A群溶血性レンサ球菌
- 薬剤耐性菌対策に関する提言
- * 各種薬剤耐性菌

中でも、-コレラ菌について1-

- 「コレラエンテロトキシン非産生性コレラ菌の取扱い等について」昭和63年9月28日付、厚生省保健医療局長、厚生省生活衛生局長から各都道府県知事、指定都市市長および各検疫所長、支所長、出張所長宛の通知において
- 国内初発であるか否かを問わず、真性患者及び保菌者としての決定は地方衛生研究所における検査結果によって行う。ただし、該毒素産生性の判定が困難な場合、あるいは検査が実施できない場合には、国立予防衛生研究所に菌株を搬入し、決定する。

19

-コレラ菌について2-

- 地方衛生研究所における検査の重要度が高く、他の候補よりも優先順位が高いと思われる。
- このような状況ではあるが、最近では、国内におけるコレラの発生届けが少なく、実際に本検査を実施したことのある経験者が少なくなってきたのが現状である。
- そこで、コレラ菌を供試菌とした外部精度管理の実施を提案する。

20

対象となるコレラ菌

- 昭和63年当時は、コレラ菌の中で行政上の防疫対策の対象となるのは*V.cholerae* O1で、かつ、コレラエンテロトキシン(CT)を産生する菌のみとされていたが、感染症法以降、CT産生性*V.cholerae* O139もコレラの原因菌として認定され、CT産生性コレラ菌(O1)とともに行政上のコレラ貿易対策の対象となった。
- なお、CT産生性*V.cholerae* O139は、過去(20年ほど前)の外部精度管理において対象となっている。

21

検査法の基本は

- 「コレラ菌検査の手引き」(昭和63年9月28日 健医感発第62号)参照
- 定義:迅速かつ遅滞のない正確な結果が要求されるため、省略できる検査は省略し早期に確度の高い推定を下すことが大切。
- 評価ポイントの参考になると思われる。
- 各地衛研は、コントロール株を保有している?

22

全国規模の精度管理を行うためには

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

23

検討課題 (石岡先生第二回班会議スライドより)

- 細菌検査精度管理実施要領の改訂
- 他の添加菌種の検討および菌株の入手方法
- 試料の作製について(臨床検体、菌株)
- 試料送付方法
- 試料送付に関わる送料および・・・
- 対象参加機関および実施時期

24

信頼性確保のための精度管理の位置づけ

外部精度管理

- 検査技術レベル
- 検査精度の確認
(平均値、結果のばらつき)
- 検査手法の確認

(共通試料を用いた比較)

内部精度管理

- 検査精度の確認
(回収率等の確認)
- 担当者間でのばらつき
- 機器の点検、整備



実施状況の確認

内部点検

(検査施設内で完結)

他検査施設との比較が可能

(薬野研究所資料より)²⁵

微生物学調査試料の作製

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

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

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

(薬野研究所資料より)²⁶

外部精度管理の導入と継続実施のための事業体制の構築に関する研究
細菌小班会議

■ 次年度以降の実施内容について(私案)

■ 近畿ブロックにおけるEHEC O157遺伝子型別の精度管理実施状況

大阪府立公衆衛生研究所
感染症部 細菌課 勢戸和子

次年度以降の実施内容について
アンケート結果から

3類感染症(腸管感染症)の原因菌
コレラ菌
赤痢菌
腸管出血性大腸菌(EHEC)
チフス菌
パラチフスA菌

5類感染症の原因菌
A群溶血性レンサ球菌
カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)

次年度以降の実施内容について
赤痢菌検査に関する品質保証ポイント

届出基準: 検査材料 便
検査方法 分離・同定による病原体の検出

■ 赤痢菌同定の根拠

- 1) 性状
- 2) 血清型
- 3) 病原因子(細胞侵入性に関与する遺伝子)

■ 赤痢菌同定の問題点

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

IASR

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

The **HIV/AIDS 2002年** *Report*

特集関連情報

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

ミニ特集

10年以上経っても問題点は解決していない

- 赤痢菌の検査法の問題点と解決策: IASR編集委員会序文
- 赤痢菌の反応に因する腸管細胞ー沖縄県
- 医療機関で大腸菌が赤痢菌(*S. boydii*)と誤同定された事例ー滋賀県
- 下部経腸管から分離された*M. morganii*が赤痢菌と誤同定された事例ー千葉県
- 赤痢菌同定の問題点ー東京都
- 赤痢菌同定における留意点
- 赤痢菌同定検査の問題点と現場からの提言

次年度以降の実施内容について
EHEC検査に関する品質保証ポイント

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

■ EHEC同定の手順と問題点

主要なO血清群とマイナーなタイプとでは検査法が異なる

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

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

EHECの毒素検出法の比較

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

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

O157で2c陽性株は少なくない

EHECの毒素遺伝子検出法の比較

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

+ 陽性
 (+) 弱陽性または検出感度低い
 - 陰性

マイナーなサブタイプについては
ヒトへの病原性は不明

配布可能菌株 (3) : EQA用菌株

REPORT

STAT 61.5
SERUM
H511111

EQA PART: IDENTIFYING, PHENOTYPING, GENOTYPING AND STX2/FX SUBTYPING

RESULTS TABLE

Q group	H type	Verotoxin	ESBL prod.	Haemolysin prod.	glucuronidase prod.	Serotype	esp genes	eaeA gene	stx2 gene	stx2c gene	stx2c subtype	Additional virulence genes	pathogenic group
444													STX2c
445													STX2c
446													STX2c
447													STX2c
448													STX2c
449													STX2c
450													STX2c
451													STX2c
452													STX2c
453													STX2c
454													STX2c
455													STX2c
456													STX2c
457													STX2c
458													STX2c
459													STX2c
460													STX2c
461													STX2c
462													STX2c
463													STX2c
464													STX2c
465													STX2c
466													STX2c
467													STX2c
468													STX2c
469													STX2c
470													STX2c
471													STX2c
472													STX2c
473													STX2c
474													STX2c
475													STX2c
476													STX2c
477													STX2c
478													STX2c
479													STX2c
480													STX2c
481													STX2c
482													STX2c
483													STX2c
484													STX2c
485													STX2c
486													STX2c
487													STX2c
488													STX2c
489													STX2c
490													STX2c
491													STX2c
492													STX2c
493													STX2c
494													STX2c
495													STX2c
496													STX2c
497													STX2c
498													STX2c
499													STX2c
500													STX2c

Post-PCR: neg. negative, and pos. for enterohemorrhagic *E. coli* serotype O157:H7 is accepted for all strains.
 Intermediate result noted in the Verotoxin assay is accepted as a positive result. H+ result noted in the H type is also accepted for all strains.
 Lactose negative
 * The strain has been observed to lose the ESBL plasmid. Therefore, both results will be accepted.

Gene abbreviations:
 eae: O157:H7 E. coli attaching and effacing gene probe
 eaeA: O157:H7 E. coli encoding the attaching and effacing protein
 ver1: O157:H7 Verotoxin 1 gene probe
 ver2: O157:H7 Verotoxin 2 gene probe
 aggE: Gene encoding the major regulator in Enterohemorrhagic E. coli
 stx2c: O157:H7 Verotoxin 2c gene probe
 esp genes: O157:H7 Enterohemorrhagic E. coli enterohemorrhagic toxin genes
 eaeA gene: O157:H7 E. coli encoding the attaching and effacing protein
 stx2 gene: O157:H7 Verotoxin 2 gene probe
 stx2c gene: O157:H7 Verotoxin 2c gene probe
 ver subtypes: O157:H7 Verotoxin 2c subtypes
 Additional virulence genes: O157:H7 Additional virulence genes
 pathogenic group: O157:H7 Pathogenic group

Page 3 of 7

2013年, 2014年衛協協大腸菌レファレンスセンター報告資料 (Dr.伊豫田)

次年度以降の実施内容について

チフス菌・パラチフスA菌検査に関する品質保証ポイント

届出基準: 検査材料 血液、骨髄液、便、尿、胆汁
検査方法 分離・同定による病原体の検出

■ チフス菌・パラチフスA菌検査の問題点

潜伏期間が長い(1~3週間)ことと臨床症状に起因する

- 1) 診断の遅れ 感冒などと誤診される場合がある
- 2) 検査時期による検査材料の選択が重要
- 3) 血清型別 チフス菌でH抗原dに凝集しない場合は困る
(患者分離株ではほとんどないと思いますが)

菌分離よりも前段階での「品質保証」が必要
(気づき・啓発)

腸チフス・パラチフスの定型的な臨床経過と検査法

	初期	極期	後期	
	第1病週	第2病週	第3病週	第4病週
症状	段階的体温上昇 (39~40°C)	稽留熱(40°C) 無欲状顔貌	徐々に解熱	解熱
バラ疹		下痢または便秘	腸出血	回復
比較的徐脈		意識障害	腸穿孔	
肝脾腫		難聴		
		心不全		
検査法	血液・骨髄液からの菌検出			便・尿・胆汁からの菌検出
	血液培養の検出率が高い が採取日を変えて複数回 実施する方がよい			Widal反応陽性

次年度以降の実施内容について

3類感染症(腸管感染症)の原因菌

コレラ菌
赤痢菌の必要性高い
腸管出血性大腸菌(EHEC)はSSIのEQA株を有効活用し、
レファレンスセンター(細菌第一部)にお任せできないか
チフス菌・パラチフスA菌については、検証ポイントを検討

5類感染症の原因菌 レファレンスセンターと相談

A群溶血性レンサ球菌
カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)
PCRと感受性試験の結果が一致しない場合...

次年度以降の実施内容について(私案)

■ 近畿ブロックにおけるEHEC O157遺伝子型別の
精度管理実施状況


近畿ブロックにおけるEHEC O157遺伝子型別の精度管理
EHEC O157の遺伝子型別法

- パルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE)
 - 細菌の全DNAを制限酵素で切断し、電気泳動(14°C 約18時間)で切断パターンを比較
 - 専用の装置が必要
- IS-printing System (IS)
 - IS629のゲノム上における分布の違いをマルチプレックスPCRで検出(32箇所)
 - 市販キットがあり特別な装置は不要
 - 結果(増幅の有無)を数値化できる
- Multiple-locus Variable-number Tandem Repeat Analysis (MLVA)
 - 17か所の遺伝子座について数塩基からなるくり返し配列を解析シーケンサーが必要

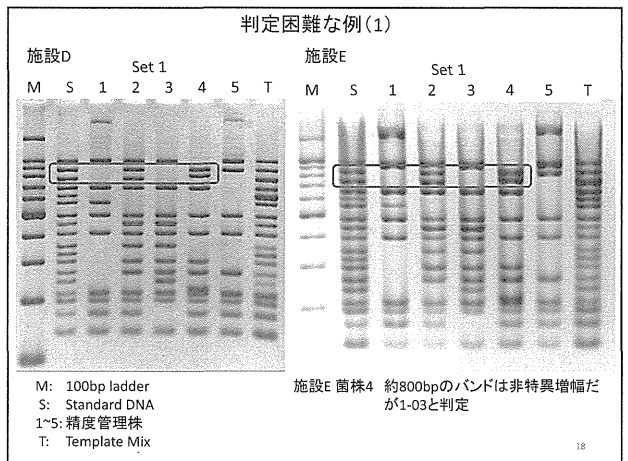
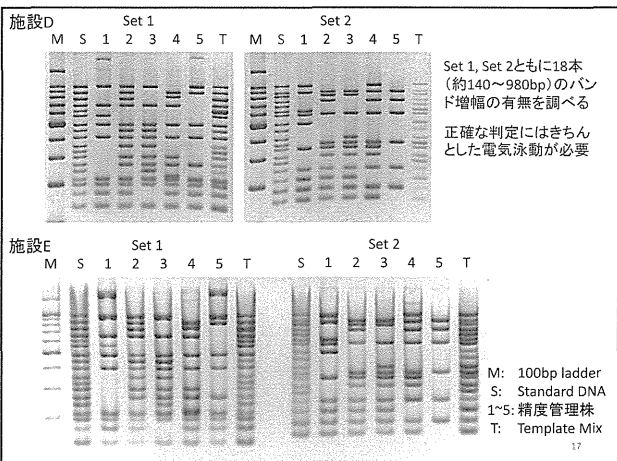
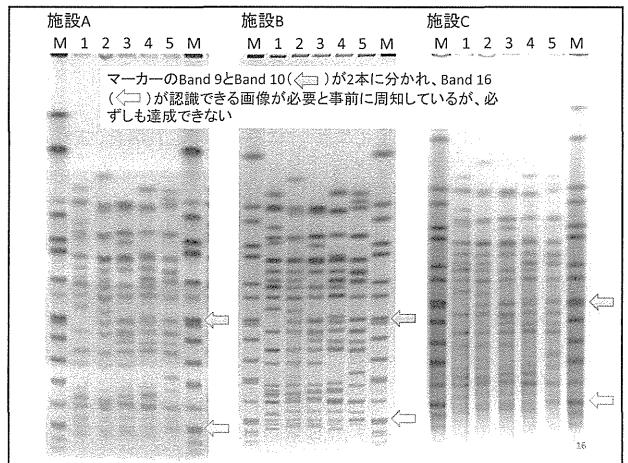
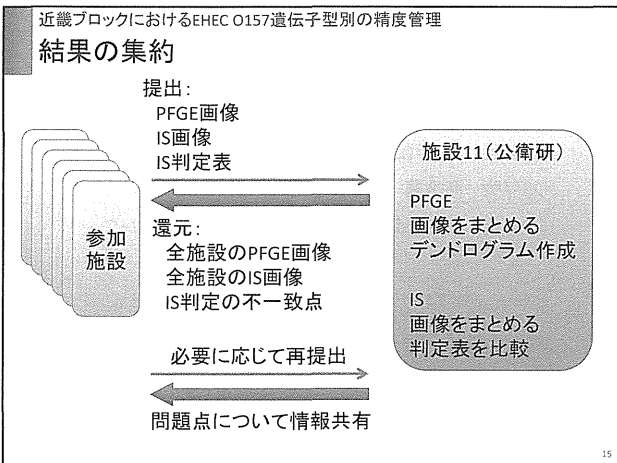
13

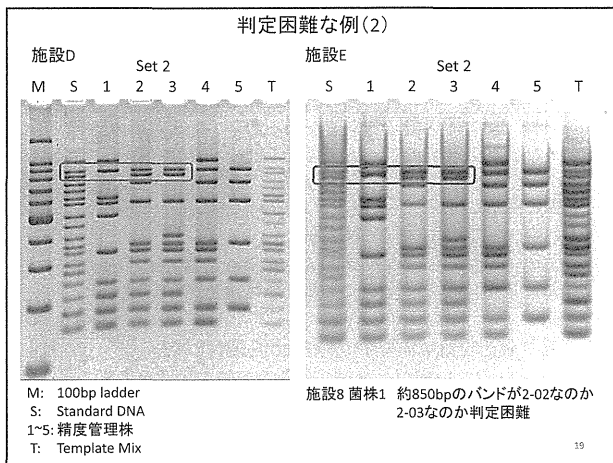
近畿ブロックにおけるEHEC O157遺伝子型別の精度管理
菌株の準備と送付

- 菌株移動申請.....病原体等安全管理規程による
 - 外部に検査を依頼する必要がある場合、又は当所の業務や研究のために外部へ分与することが必要である場合は手続きを簡略化(担当者が所長に申請書を提出)
- 菌株の選択と接種
 - パターンの異なる株を5株選択
 - アウターキャップチューブにトリソイ寒天培地1mL分注した輸送培地に菌を接種、一夜培養後発育を確認して発送
- 発送
 - 菌株搬送容器は前もって各施設から送付してもらう
 - ゆうパックで12施設へ発送、翌日の午前中配送を指定
- 受領書の返送



14





IS 判定表

地研名		Set 1																		stx2	stx1	非特異的バンド(bp)				
番号	血清型	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22			
1	O157:H7	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
2	O157:HNM	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	O157:H7	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
4	O157:HNM	1	2	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	O157:H	2	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1

地研名		Set 2																		stx2	stx1	非特異的バンド(bp)				
番号	血清型	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	O157:H7	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0	O157:H7	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0	O157:H7	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	O157:H7	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0	O157:H7	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

IS法のチェックポイント
増幅の有無を「1」「0」で判定
データのみで比較するにはその信頼性を確保する必要がある

- PCRの成否 Template Mixで18本の増幅, O157であれば必ず陽性となるバンド
- 電気泳動 Standard DNAやTemplate Mixとバンドの太さをそろえる, 歪みのない泳動像

近畿ブロックにおけるEHEC O157遺伝子型別の精度管理
精度管理の問題点
IS法, PFGE法ともに精度管理の必要性は高い

- stx遺伝子の脱落
前培養時に再分離して単離コロニーを選択した場合、まれにstx遺伝子脱落株を選択することがある
菌株配布時に毒素型を添付している
- PFGEについては精度管理以外に実施機会がない施設がある
良い画像を得ようとする熱意の温度差
- 機器の維持管理を予算面からサポートできない
PFGE電気泳動装置、画像撮影装置
- 担当者の異動と引き継ぎ
研修会の必要性を感じるが、実施するには負担大きい

精度管理はブロック(パルスネット研究班?)、研修は感染研(厚労省)

■ 次年度以降の実施内容について(私案)

H27年度 コレラ菌

H28年度 赤痢菌 コレラ菌トラブルシューティング

H29年度 EHEC IS法 赤痢菌トラブルシューティング

・

・

・

3. 地全協臨時総会 配付資料

平成26年度厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)
 地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究 (H26-健危-一般-001) 2年目で最終年度

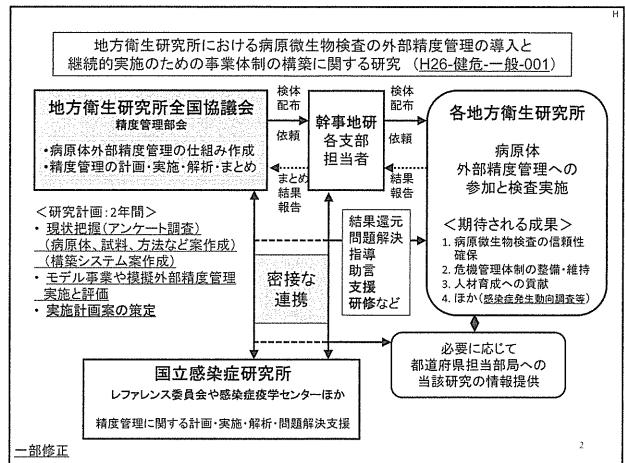
1. 研究代表者: 佐多徹太郎(富山県衛生研究所)
 2. 研究分担者: (地衛研精度管理部会、感染症・レファレンス委員会)

背景

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

研究目的

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



研究班会議等の開催(ほかメール等でのやりとり)

第一回研究班会議 (分担者11名および協力者計23名)
 平成26年5月8日 国立感染症研究所共用第三会議室
 研究班について概略説明と今後の研究の進め方の議論、および外部精度管理の素案検討

ウイルス・細菌合同小班会議 (分担者6名および協力者計23名)
 平成26年7月14日 国立感染症研究所共用第三会議室
 感染症検査における外部および内部精度管理の先行事例の紹介、班員から提出された検討項目の集計結果、精度管理実施案の検討

地方衛生研究所全国協議会・精度管理部会 (部会員10名、研究班活動の一部)
 平成26年11月4日 栃木県総合文化センター(宇都宮)
 「精度管理佐多班」の進捗状況・アンケート調査、小班会議の検討結果等について報告と議論

第二回研究班会議 (分担者7名および協力者計28名)
 平成27年1月9日 国立感染症研究所共用第二会議室
 研究班の進捗状況説明、感染症検査の精度管理に関する実態調査、外部精度管理のしくみ構築のためのウイルス検査、外部精度管理のしくみ構築のための細菌検査、地方衛生研究所における感染症検査に係わる精度管理実施要綱(案)

H26年度の研究成果の概要

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

厚生労働科学研究費補助金
 健康安全・危機管理対策総合研究事業

地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究 (H26-健危-一般-001)

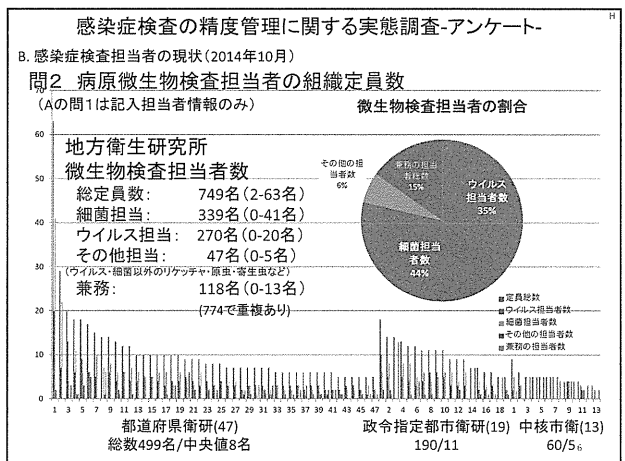
平成26年度 総括・分担研究報告書

平成27年3月

研究代表者 佐多 徹太郎 (富山県衛生研究所)

目 次

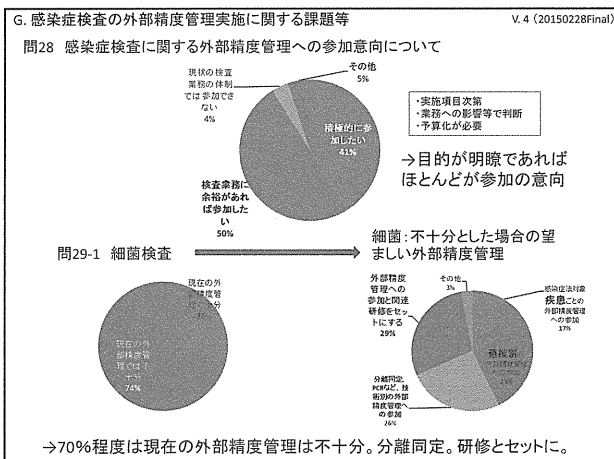
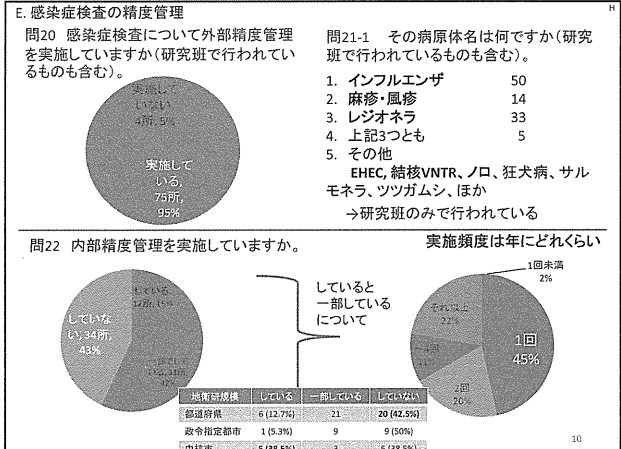
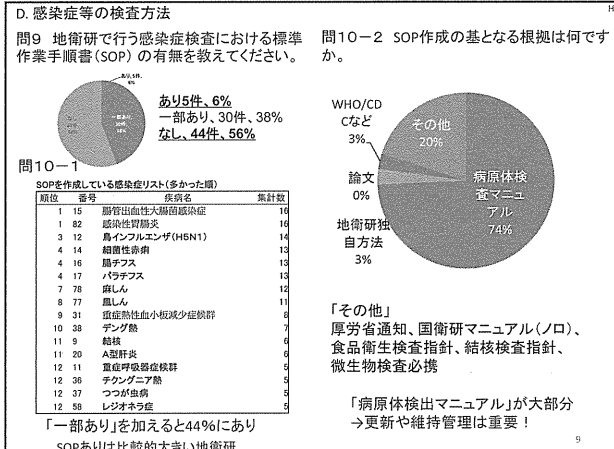
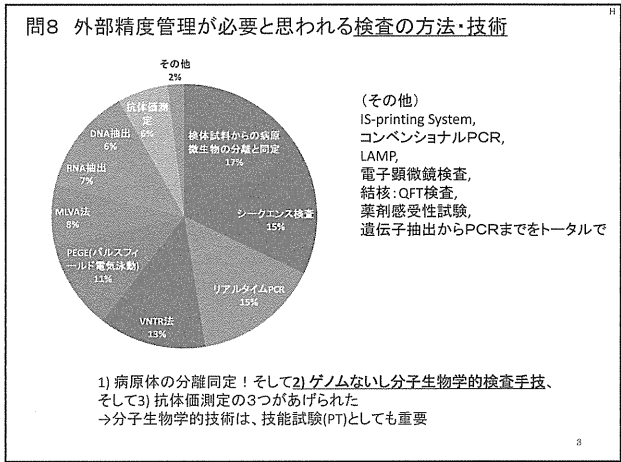
- I. 総括研究報告書 「地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究」 佐多徹太郎(研究代表者) 1
- II. 分担研究報告書
 1. 感染症検査の精度管理に関する実態調査-アンケート調査結果- 佐多徹太郎ほか 13
 2. 地方衛生研究所へのウイルス検査に関する精度管理に関わる技術的実況 水野博一ほか 49
 3. 地方衛生研究所への細菌検査に関する外部精度管理導入に関する技術的実況 初見大誠ほか 65
 4. 地方衛生研究所への細菌検査に関する継続的精度管理導入に向けての検討と実態 矢野利雄ほか 83
 5. 外部精度管理に関する実態調査の進捗について 佐多徹太郎ほか 89
 6. 病原微生物検査の継続的対策 岩崎義雄ほか 101
- III. 研究体制に関する付録一覧
- IV. 資料
 - 1) 第一回研究班会議資料 (プログラム、会議録、パワーポイント配布資料) 105
 - 2) ウイルス・細菌合同小班会議資料 (プログラム、会議録、パワーポイント配布資料) 123
 - 3) 第二回研究班会議資料 (プログラム、会議録、パワーポイント配布資料) 167



3. 地全協臨時総会 配付資料

C. 外部精度管理の対象感染症について
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下記にリスト

種類	疾病名	検査可能		検査可能		検査可能		検査可能		
		できる	できない	できる	できない	できる	できない	できる	できない	
二類 5疾病	重症呼吸器感染症群	61	15	80	38	8	83	16	3	84
	鳥インフルエンザ(H5N1)	72	5	94	46	1	98	18	1	95
三類 5疾病	細菌性赤痢	78	1	99	47	0	100	18	1	95
	腸管出血性大腸菌感染症	78	1	99	47	0	100	18	1	95
	腸チフス	78	1	99	47	0	100	18	1	95
	バクテリウム	78	1	99	47	0	100	18	1	95
	カンジダ症	61	16	79	38	8	83	16	3	84
四類 43疾病	重症熱性血小板減少症候群	72	6	92	46	1	98	18	1	95
	デング熱	71	7	91	46	1	98	17	2	89
	レISHウイルス	70	7	91	46	1	98	16	2	89
	先天性免疫不全症候群	60	16	79	38	8	83	14	4	78
五類 16疾病	先天性免疫不全症候群	58	16	78	39	6	87	15	3	83
	風しん	72	3	95	47	0	100	17	0	100
六類 26疾病	RSウイルス感染症	63	12	84	45	2	96	16	1	94
	咽頭結核	64	11	85	46	1	98	17	0	100
	A群溶血性連鎖球菌感染症	56	19	75	38	9	81	15	2	88
	感染性胃腸炎	75	1	99	47	0	100	16	0	100
	手足口病	65	10	87	47	0	100	17	0	100
	ヘルパンギーナ	64	11	85	47	0	100	16	1	94
	流行性耳下腺炎	61	13	82	43	3	93	16	1	94
	インフルエンザ(鳥インフルエンザ及び新型インフルエンザ等感染症を除く)	71	4	95	46	0	100	17	0	100
	急性出血性結核炎	59	16	78	41	5	89	17	0	100
	流行性免疫不全症	61	18	82	43	2	93	17	0	100
指定 感染症	結核	67	9	88	46	1	98	17	0	100
	中東呼吸器感染症	65	10	87	47	0	100	17	0	100
指定 感染症	中東呼吸器感染症	67	8	89	45	2	96	17	0	100
	鳥インフルエンザ(H7N9)	70	3	95	46	1	98	17	0	100



感染症検査はGLPや精度管理になじまない? -1 (寄せられたご意見)

➢ 1) 独自に開発し工夫している、2) 新しいウイルスや検査法が登場、3) あらゆる手法で検出する病原体検査は、「逸脱」ができないGLPや精度管理にはなじまない
➢ ほか、定性検査である。検査対象が不明の場合もある。

感染症検査の標準作業手順書? (私見)

1. いわゆる食品検査の公定法に類似したような標準作業手順書(SOP、全国レベル) (全国レベル、どこでも誰でも同じ結果が得られることを目標)
→検査結果に信頼性が確保され、法的な人の行動制限に依る場合
2. 外部精度管理のときに用いる標準作業手順書? (SOP?、使用目的限定) (全国レベル)
→個々の検査施設の全国レベルでの比較、問題点の把握、検査の改善に役立てる
3. 各施設の各部署で用いる標準作業手順書? (検査プロトコルか、施設レベル) (個々の施設レベル、検査の分担、施設の検査の信頼性担保、結果を得る)
→複数の担当者が同じように作業でき、同じ結果が得られることを担保する
→より良い検査法につなぐに改善(創意工夫可)

→複数以上の種類の標準作業手順書?があってもいい? 便利な文言だが正確な意味?

ウイルスおよび細菌の外部精度管理調査の実施

1. ウイルス

- リアルタイムPCR法によるノロウイルス遺伝子定量
- NoV遺伝子挿入プラスミド配布し、定量値、CI値、標準曲線、相関係数、試薬、機器、ほかを報告
- 59地衛研が参加し報告(37/47, 8/19, 14/14)

試料A GI定量値の分布(べき乗変換, Log₁₀)

20機関(33.9%)の定量値の一部あるいはすべてが1SD基準値範囲外であった。

検査線用の標準物質の劣化、ピペッティングのばらつきおよび機器保守点検の問題などがあげられた。

さらに事後のアンケート調査・解析中。

標準品の再配布を行った。

2. 細菌

- サルモネラ属菌検査に関する標準的な精度管理実施手順の作成
- 試料として人由来糞便(胃腸炎患者を想定)
- 対象病原体はSalmonella Infantis, Cerro
- 11地衛研(精度管理部会機関)
- ゆうパック(チルド便)を利用して、臨床検体(病原体)として感染研科山倉から発送

項目	検出	検出率
検出数	11	0
検出率	0	11
計	11	11

検出	検出率
Salmonella Infantis	2
Salmonella Cerro	0
Salmonella	8

参加機関ともサルモネラ属菌を検出した(全機関試料2は陰性)

一部の機関で硫化水素非産生サルモネラ(S. Infantis)が検出されなかった

試料作製方法、試料送付方法、および機関の募集方法および実施時期の検討

増菌培養の有無

- 本外部精度管理事業は、地衛研における微生物検査の技術的水準の維持・向上のために、外部精度管理の手法による全国的な仕組みを構築し、地方衛生研究所全国協議会が主体となって、継続的に実施するための体制整備・構築し、その妥当性を評価する
- 外部精度管理の導入に向けて種々の課題の抽出と整理を行う

次年度の研究計画

H27年度は、H26年度感染症の精度管理に関する実態調査結果等を踏まえて、

- 外部精度管理実施案の作成と一部の実施・解析および調査、そしてまとめ
 - 細菌小班とウイルス小班で2-3グループを設立
 - 外部精度管理の対象として、1)感染症(感染研レファレンス研究班の対象外のもので、a)地衛研のニーズが高い、b)節節柄注目されている、c)重症化・社会への影響大・感染拡大が懸念など)、2)感染性胃腸炎などの症候群、3)検査技術や方法などが候補
- 研修等との連携?
- 実施組織および地衛研全国協議会の支部との関連?
- 精度管理に関する動向調査など?(全体の整備状況を把握し公表?)
- 地方衛生研究所における感染症検査に係わる「精度・品質管理」実施要綱案作成
- ほか

厚生科学研究費補助金(保健医療福祉地域総合調査研究事業)
「地方衛生研究所の機能強化に関する研究」分担研究
「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」
分担研究者 衛藤繁男(神奈川衛研) H9(1997年)3月(最終年度)

衛藤班1 表1

目 次

1. 分担研究報告書	1
2. 行政検査における精度管理システムの構築に関する提言	5
3. アメリカ合衆国におけるPublic Health Laboratoriesの役割と精度管理システム	9
4. 外部精度管理調査(総括)	51
5. 外部精度管理調査「微生物部門:細菌系」	55
6. 外部精度管理調査「微生物部門:寄生動物系」	79
7. 外部精度管理調査「理化学部門:食品添加物」	83
8. 外部精度管理調査「理化学部門:農薬」	95
9. 内部精度管理マニュアル作成(総括)	109
10. 内部精度管理の進め方と留意点(微生物部門)	111
11. 内部精度管理の進め方と留意点(理化学部門)	119
12. 業務管理文書作成のための一般的考え方	123
13. 標準作業書作成のための標準作業書(案)	127
14. 寄生動物に対する抗体測定に用いるELISAのための標準作業書(案)	131
15. 研修	135

資料

- 外部精度管理調査資料
 - 微生物部門細菌系外部精度管理調査票、配付試料調査票、供試菌株参考性状
 - 微生物部門寄生動物系外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考菌株
 - 理化学部門(食品添加物)外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考菌株
 - 理化学部門(農薬)外部精度管理調査票、配付試料調査票、参考菌株
- 研修資料
 - 研修に関するアンケート調査集計結果
 - 参照アメス、クリプトスポリジウムを中心とした腸管寄生原虫の検査法

衛藤班6 表4

提言(全体の概要)

- 活動
 - 内部精度管理(個々の検査機関で実施)、2)外部精度管理(内部精度管理の機能チェックと検査機能を第三者の立場から評価)、3)レファレンス(情報や標準株標準品、特殊項目の集中実施、試薬等の品質、検査法の検討など)、4)研修・教育、5)公衆衛生情報システム
 - 概略(図1)表3に相当
 - 国立試験研究機関が行政検査の精度管理システムの中核となる役割を担うことが期待される。
 - 1)合同委員会、2)精度管理システム、(1)外部精度管理調査:実施は合同委員会、試料は国研と地研で作業、予算は国研、(2)研修の実施:外部精度管理の結果にもとづく研修、(3)公衆衛生情報システム、(4)内部精度管理実施の支援、(5)レファレンスセンター機能の整備・拡充、(6)地方における検査機関の精度管理業務の支援
 精度管理システムの構築は、行政検査の質の向上を意図するのみならず、国民の健康と財産を守ることを目指す。国レベルの事業は不可欠である。
 - 外部精度管理調査: 1. 実行委員会組織、調査、問題点指摘・実施方法の評価等、2. 試料作製配布は国立試験研究機関で調整し梱包し配布、3. 回答の回収、4. 結果の参加施設への還元(菌株は参考株として利用)、5. 調査票の配布(試料受領月日、検査開始日と終了日、送付容器・試料の破損の有無、試料配布法、検査項目、回答期間、その他の問題点・意見など)。内部精度管理の重要性と外部精度管理調査の必要性が認められた。
 - 内部精度管理マニュアル作成と標準作業書案の作成(様式)
 - 研修・恒常的実施。ブロックごとに実施。
- 国立公衆衛生院の特別コースと希少感染症検査技術研修会があるが分野すべてをカバーしているわけではない。限られた人数しか受講できない。そして新興再興感染症への対応が必要。見直しと新しい研修システムの構築が望まれる。

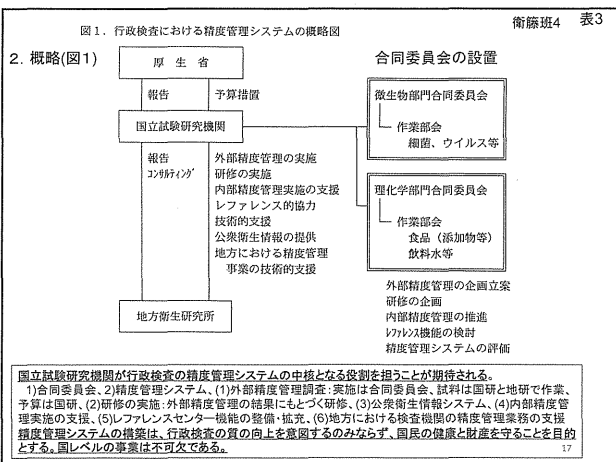


表5⁶⁾

地方衛生研究所における感染症検査に係わる精度・品質管理実施要綱(案)(体制小班)

項目だしと整理が必要→一次案作成
次年度には最終案を提示予定

- 目的
- 精度管理の実施内容:
 - 1)検査法、2)検査精度、3)参加地衛研への指導、4)精度管理に関する情報提供、5)その他
- 精度管理の実施手順:別途定める(外部および内部精度管理について)
- 精度管理にかかる結果の報告等:
 - 1)検査機関への結果通知等、2)各自自治体への報告等、3)厚生省担当課への報告等
- 精度管理の実施体制等:
 - 1)実施管理(運営)組織(地衛研全国協議会など、厚生省健康局結核感染症課・地域保健室、国立感染症研究所などと連携を図りつつ実施?)、
 - 2)実施作業組織(専門機関?、地全協?、感染研?、地全協と感染研?、ほか?)
- 厚生省と感染研が主催する研修会・事業等との連携
関連組織・学会等との連携?
- 付則等
- 日付

地衛研および地全協の組織体制?

別途定める:「感染症検査に係わる精度管理実施手順」について詳細な案を作成する?
公布・公募(HP等)、参加地衛研決定(全部?)、精度管理方法(感染症、症候群、検査手法・技能、ほか)、検体試料作成・輸送法、標準検査法(統一?精度管理のため?病原体検査マニュアル等由來ほか、SOPの作成方法)、対照検体、検査機器・メーカー等、評価・解析法、費用負担・予算、実施時期、結果還元、報告書、問題点の克服の方法、報告会・研修などなど、

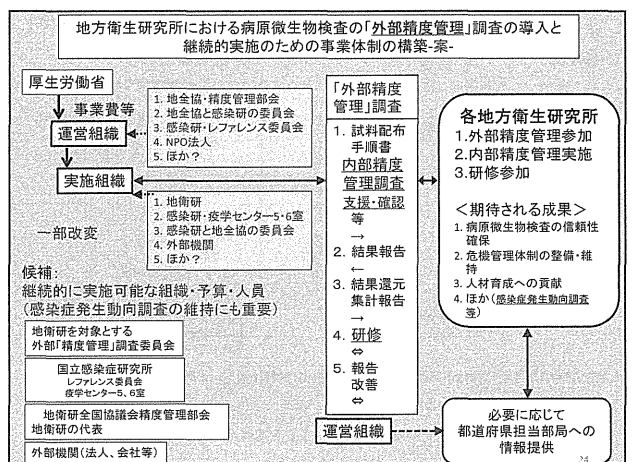
H26 中間評価結果-1 20150325					
別添 中間評価結果表					
研究事業名(年度): 健康安全・危機管理対策総合研究事業(平成26年度)					
研究者名: 佐多 徹太郎					
研究課題名: 地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究					
課題の採択結果	可				
評価点数	7.4 (平均点 7.2)				
○評価点数の分布					
点数	0.1~2.0	2.1~4.0	4.1~6.0	6.1~8.0	8.1~10
課題数	0	0	0	4	0

H26 中間評価結果-2 20150325	
【評価委員会のコメント】	
1 評価できる点、推進すべき点	<ul style="list-style-type: none"> 世界的に見て、国内は言うに及ばず実験室サーベイランス能力はきわめて高く、評価できる。 業績(英文)も世界で十分に評価される雑誌に採用されており、評価できる。 日本の病原体検査能力の維持・標準化、人材育成にとって重要な研究であり、評価できる。 当初の研究計画通りに進行しており、評価できる。 地方衛生研究所の精度管理を地方衛生研究所全国協議会が主体となって実施できるかを検討し、事業化することには大きな意義があり、評価できる。 行政的に極めて重要なテーマであり、進捗状況は良好である。継続して研究する意義があり、評価できる。
2 疑問点、その他助言等	<ul style="list-style-type: none"> 危機管理や新たな高度検査に關しての広域的な連携体制についての記載が不十分である。 具体的にどのように地衛研に研究結果を反映させるのか、研究の出口を明確にしてほしい。 <p>→追記して交付申請書を作成提出 20150424</p>

平成27年度厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)	
地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究 (26190601→H26-健危-一般-001)	
研究代表者: 佐多徹太郎(富山県衛生研究所)	
研究分担者:	
(地衛研全国協議会精度管理部会)	(感染研・レファレンスセンター)
調 恒明(山口県環境保健センター)	倉根一郎(国立感染症研究所)
岸本壽男(岡山県環境保健センター)	宮崎義維(国立感染症研究所)
山本容正(大阪府公衆衛生研究所)	大石和徳(国立感染症研究所)
岡野素彦(北海道立衛生研究所)	木村博一(国立感染症研究所)
猿木信裕(群馬県衛生環境研究所)	
協)水野哲宏(横浜市衛生研究所)	(敬称略)
協)田原なるみ(東京都健康安全研究センター)	
協)香月 進(福岡県保健環境研究所)	
協)佐野一雄(名古屋市衛生研究所)	
研究協力者: ほかに地衛研および感染研の関係者	

H26年度のまとめ 1 (20150401) H26研究報告書から	
<ul style="list-style-type: none"> 地衛研の検査技術・正確性の維持に不安(人および予算の減少による) 感染症の検査には、これまで検査基準も外部精度管理もなかった 感染症検査は、人由来臨床検体で、可能な限り、種々の方法を用いて病原体を検出し、診断治療や発生動向調査に役立てるもの 感染症検査は、定性的なものである(定量的なものではない) <ul style="list-style-type: none"> →食品等の「精度管理」と同じではない 近年、迅速性の観点から病原体の遺伝子検査が多くなった 遺伝子検査は、定性的であるとともに、半定量的な検査法にもなる 検査手技・技術のほか、試薬や、検査機器の管理等が重要 <ul style="list-style-type: none"> →いわゆる「内部精度管理」の実施が必要 および検査担当者のレベルの維持および向上(人材育成) <ul style="list-style-type: none"> →教育・研修が重要(OJTは難しい?) 感染症法第三条には、「国及び地方公共団体は、…(略)…病原体等の検査能力の向上並びに感染症の予防に係る人材の養成及び資質の向上を図る…(略)」 厚生労働省告示第464号(平成24年7月31日)に、地方衛生研究所の機能強化として、サーベイランス機能の強化や迅速な検査体制の確立と検査精度の向上…(略) 感染症法改正(平成26年11月) 感染症に関する情報の収集体制の強化 病原体検査指針(標準(基準)や「精度管理」が含まれる) 平成28年4月施行。 <ul style="list-style-type: none"> →いわゆる「外部精度管理」調査が必要かつ有効 →H9にも「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」が行われたが事業化にはいたらなかった(?) 予算、組織?) →今回は感染症法改正・病原体サーベイランスに係わる 	

まとめ 2 (20150401) H26研究報告書から	
対応	<ul style="list-style-type: none"> 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、 <ol style="list-style-type: none"> 「外部精度管理」、2)「内部精度管理」、3)研修の3つを関連させた導入が役立ち、そして、ひいては人材育成に役立てることが重要 「外部精度管理」は、第三者機関より他の地衛研との(検査レベルの)比較を目的 <ul style="list-style-type: none"> →外部機関による地衛研の検査(質)優良性評価 External Quality Assessment; EQA →参加は義務ではなく、調査は改善が目的で、成績が目的ではない。 「内部精度管理」を促し、個々の地衛研で検査結果の再現性を担保する 研修は、検査担当者の知識・技術・問題解決能力を向上させ、検査能力を高める
いわゆる「外部精度管理」調査の検討事項(以下のスライドに詳細あり)	<ol style="list-style-type: none"> 運営組織 実施組織 経費 実施時期 回数 対象感染症や技術 試料作製 検査手順書 事前(前)アンケート調査(内部精度管理状況等の把握) 試料配布 試料確認 結果集計 事後アンケート調査 検査担当者の研修 報告書作成と配布(自治体主幹課含む) 検査法の改善(必要時) 衛生微生物協議会等で報告 →これで網羅しているか?
まとめるもの	<ul style="list-style-type: none"> →地衛研における「外部精度管理」調査要綱(実施体制など) →「外部精度管理」実施要領・実施手順 →事前・参加および事後アンケート調査(ひな形) →手順書等(様式)や(報告書(様式))など



3. 地全協臨時総会 配付資料

「外部精度管理」調査の対象とすべき感染症(優先性の基準)

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

ほか

- 1) 感染症検査に必要な技術(技能試験など)は必須
 1. 遺伝子検査に係わるもの
 2. 病原体の分離・同定、ほか
- 2) 研究班で継続的に行われているものは当面対象外
ウイルス: インフルエンザ、麻疹、風疹、狂犬病 等
細菌: レジオネラ、下痢原性大腸菌、結核VNTR 等
- 3) 発生が稀で、発生したときは感染研が担当すべきものとして対象外
一類、二類、指定感染症および鳥・季節性インフルエンザを除く

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

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

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

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

病原体検査標準作業手順書SOPの作成

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

精度管理実施

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

ほか

- ◆ インフルエンザウイルス
- ◆ レジオネラ

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

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

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

1. 対象感染症について(ウイルス)

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

2. 検査技術(ウイルス)

→ シーケンス(と樹状解析)4、リアルタイムPCR 4
→ (昨年度はノロウイルスでリアルタイムPCR)なので、シーケンス

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

1. 対象感染症について(細菌)

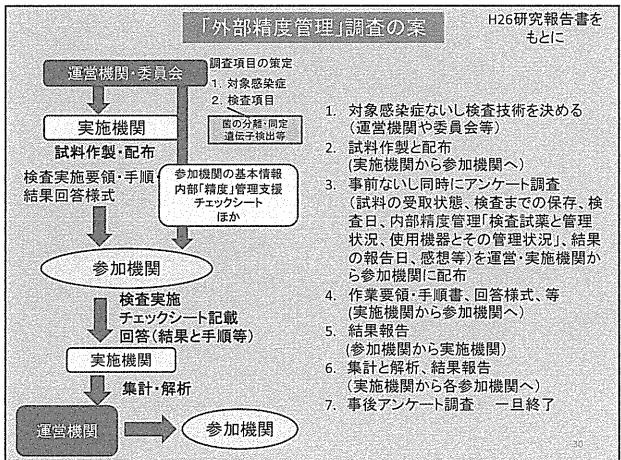
→3番目までの集計として

1)細菌性赤痢7、2)EHEC6、3)コレラ4、4)チフス3

2. 検査技術(細菌)

→3番目までの集計、

- 1)疫学的解析法(IS-printing, MLVAなど)6
- 2)リアルタイムPCR5
- 3)シーケンスと樹状解析5
- 4)分離3、ほか



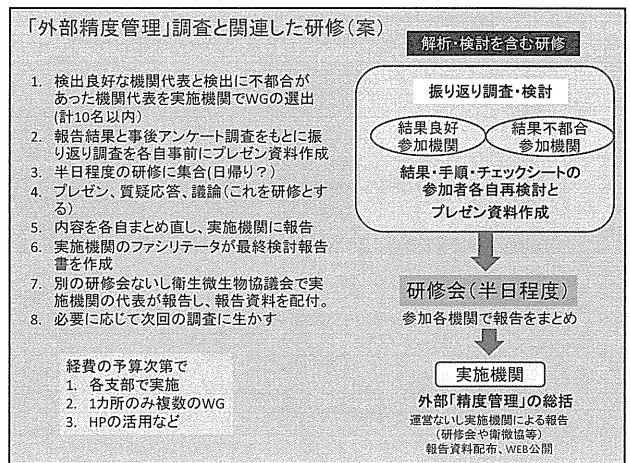
3. 地全協臨時総会 配付資料

表6

外部精度管理との関連が考慮される研修等(2015.2.28)

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

31



分担表(案) 2015.5.29

適切な方の推薦をお願いします。

担当小グループ	とりまとめ	担当(研究分担者と協力者)
体制小班 「精度管理」要綱 案作成 報告書	佐多 (富山) 13名	佐野(名古屋) 香月(福岡) 山本(大阪) 岡野(北海道) 水野(横浜) 末吉(山口) 岸本(岡山) 田原(東京) 猿木(群馬) 倉根・宮崎・大石(感染研)
ウイルス小班 「精度管理」実施 要領・手順(案)作成 報告書	調 (山口) 21名	木村・野田・長澤(感染研) 柴田(名古屋) 貞升(東京) 藤井・岸本(岡山) 塚越・小林(群馬) 佐多・小 淵(富山) 勝見(仙台市) 菅川・山下(愛知) 濱崎 (福岡) 松島(川崎) 宮崎・駒瀬・影山・吉田(感染研)
細菌小班 「精度管理」実施 要領・手順(案)作成 報告書	?	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) 大石・大西・鈴木・緒方(感染研)
総括・総合研究報 告書作成	佐多 (富山)	各小班担当者(分担、協力)全員

厚労省・中田ほか

33

- 平成27年度の予定表**
1. 研究班員の異動にともなう変更 平成27年4月
 2. 交付申請書提出: 平成27年4月24日(金) (22日夕方終了予定)
 3. 小班会議 ウイルス:5月20日水 細菌:5月29日金の午後1:30(感染研共用第3)
 4. 第一回研究会会議 平成27年6月12日(金) 午後1時から 感染研共用第2会議室
 5. 研究実施 体制小班はメール、ウイルスと細菌の調査実施 9月頃? -10月?
 6. 精度管理部会 11月3日 長崎市 総会前1時間程度 進捗状況報告と議論
 7. 第二回研究会会議 平成28年1月8日(金) 午後1時から 感染研共用第2会議室
 8. 報告書締切 平成28年1月15日(金)
 9. 評価会用資料締切 ワードとパワポファイル 平成28年1月15日(金)
 10. 研究評価会 平成28年2月下旬 国立保健医療科学院
- 34