

感染症法に基づく病原体検査の「質」確保について

1 はじめに

「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）は、公布以来ほぼ5年毎に改正されている。平成26年11月の改正（平成28年4月施行）では、感染症情報の収集体制における地方自治体の法的根拠が明確になり、感染症法に基づいて実施される感染症発生動向調査における病原体検査等が知事（及び保健所設置市長）の事務に位置づけられた。地方衛生研究所（地衛研）及び保健所等で該当する試験検査を実施する場合は、内部精度管理の実施や外部精度管理調査への参加等を通じて、検査の質を確保することが求められている¹⁾。

本稿では、地衛研で行うエンテロウイルス（例：ポリオウイルス、エコーウイルス）検査について平成28-29年度に実施した厚生労働科学研究の成果^{2,3)}を中心に、感染症法に基づく病原体検査の質を確保する取り組みについて紹介する。なお同時期に実施した赤痢菌検査に関する研究⁴⁾は、技術情報⁵⁾等を参照していただきたい。

2 感染症法に基づく病原体検査に求められる信頼性（表1）

検査の「質」確保にあたって留意すべき具体的な事項等は、上述の法改正に伴い厚生労働省から発出された「検査施設における病原体等検査の業務管理要領」¹⁾（業務管理要領）に示されている（表1）。

表1 検査施設における病原体等検査の業務管理要領¹⁾の項目

1	目的
2	適用等
3	組織
4	検査室等の管理
5	遺伝子検査の管理
6	機械器具の管理
7	試薬等の管理
8	培養細胞等の管理
9	有毒な又は有害な物質及び危険物の管理
10	検体（病原体を含む。）の取扱いの管理
11	病原体等検査の管理
12	検体の保管及び廃棄
13	データの作成
14	データ等の保存
15	内部監査
16	不適合業務及び是正処置等
17	精度管理
18	外部精度管理調査
19	教育訓練及び研修

下線を付した項目6, 7, 8, 10の適用は、結核や中東呼吸器症候群(MERS)など二類感染症、及び一類感染症等に限られ、三類、四類及び五類感染症検査には適用されない。

業務管理要領が適用される病原体検査は、感染症法に定められた「感染症」（一類感染症、二類感染症、三類感染症、四類感染症、五類感染症、新型インフルエンザ等感染症、指定感染症及び新感染症）に関する検査のうち、都道府県等が行う積極的疫学調査や感染症発生動向調査の検体等の検査である。例えば、病原体定点医療機関において、季節性インフルエンザが疑われる患者から採取された咽頭ぬぐい液に対して実施するインフルエンザウイルス検査

が該当する。ただし、病原体の探索を行う場合は適用しないことができる。例えば前述したインフルエンザ疑い検体がインフルエンザウイルス陰性と判明したために、アデノウイルス、ライノウイルス、パラインフルエンザウイルス等の気道感染症病原ウイルスを広く検索する場合は、適用しないことができる。

衛生行政上のニーズに基づいて実施される試験検査には感染症の病原体検査以外に、食品衛生法に基づく食品検査、水道法に基づく水質検査、医薬品の無菌検査等があり、それぞれ業務管理に関する規定を定めて検査結果の信頼性確保若しくは信頼性保証(Quality Assurance: QA)が図られている。これらの検査に比べて、感染症法に基づく病原体検査は、海外からの輸入事例を含む新興感染症への迅速な対応や、検出対象の病原体には変異を起こす可能性が常にあること、等の特性をふまえると、既成の標準作業書(Standard Operating Procedure: SOP)に従った、いわゆる適正管理基準(Good Laboratory Practice: GLP)を満たす検査を実施しても、変異病原体を見逃してしまう等健康危機対応の役割を十分に果たせないおそれがあり、信頼性保証導入のメリットが見出しにくい面があった。

一方、異なる検査室で実施された検査結果のバラツキ(検査室間誤差)や同じ検査室に所属する検査担当者間のバラツキ(検査室内誤差)は、行政判断を左右する定性的結果判定(陽性・陰性)のブレにつながるおそれがあり、看過すべきではない。全国の地衛研間で検出限界を一定の範囲に収める均てん化・平準化の取り組みは、以前から一部の検査項目で行われてきた。公衆衛生上病原体検査が重要と考えられる一部の病原体について国立感染症研究所(感染研)と地衛研が連携して(結核菌には公益財団法人結核予防会・結核研究所、カンピロバクターには国立医薬品食品衛生研究所も参画)レファレンスセンター体制が稼働しており、例えば2009年新型インフルエンザ発生時には、感染

研インフルエンザウイルス研究センターより、一定濃度のリアルタイム RT-PCR 用陽性対照が全国地衛研に配布され、陽性・陰性の判断に活用された。

3 業務管理要領に基づく検査精度保証

業務管理要領では、検査精度を保証するために、表1に3～19に示す項目について規定が設けられている。表1に示した項目のうち、4 検査室等の管理 及び 5 遺伝子検査の管理 (1)には、検査室の構造及び設備について記載されている。

3 組織、11 病原体等検査の管理、15 内部監査、16 不適合業務及び是正処置等、17 精度管理については、次項において愛知県における体制をふまえて紹介する。

一方、9 有毒な又は有害な物質及び危険物の管理、12 検体の保管及び廃棄、13 データの作成、14 データ等の保存、の項目に記載されている事項の多くは、今回の法改正以前より、毒物・劇物・危険物については関係法令に基づく取扱管理が、特定病原体等については感染症法に基づく取扱管理が求められており、本稿では省略する。また、18 外部精度管理調査については平成28年度より実施している厚生労働科学研究の研究成果を中心に後述する。

19 教育訓練及び研修の項には、検査員に対して精度管理の実施結果に基づく研修や、内部研修、外部研修、学会等への参加機会を与えることが記されており、単なる検査方法の指示にとどまらない人材育成を図る必要がある。さらに信頼性確保にかかわる職員に対して、必要な研修への参加機会を確保する必要がある。

4 愛知県における病原体等検査の管理体制(図1)

業務管理要領の項目3 組織、11 病原体等検査の管理、15 内部監査、16 不適合業務及び是正処置等、17 精度管理 に関して、当所における対応を紹介する。

組織について、図1に本県における病原体等

検査業務管理体制組織図を示す。

業務管理要領において、検査区分責任者は病原体等の取扱いの知識及び経験を有する者を、また検査部門管理者は病原体等検査の質を確保するために十分な資質を有する者を確保するよう努めなければならないとされている。そのため、検査区分責任者（生物学部長）と検査部門管理者（ウイルス、細菌及び医動物研究室長）は検査の「質」確保においても極めて重要な役割を担っている。信頼性確保部門管理者を衛生研究所の研究監が務めることにより、生物学部が実施する感染症検査の信頼性について客観的に把握すると同時に、本県における新興・再興感染症や定点把握感染症の発生動向や病原体に関する最新情報の把握が可能な立場を活かした指導が期待される。

病原体等検査の管理では、検査標準作業書の作成及び改定、検体受付番号・検体の保管場所・検査実施方法・検査開始及び終了年月日時・検

査結果等の記録、検査結果書への記載項目が定められている。不適合業務及び是正処置については未だ経験していないが、不適合業務と緊急処置及び是正処置、再発予防処置等に関する結果を、検査部門管理者からの報告に基づいて信頼性確保部門管理者が記録する体制となっている。信頼性確保部門管理者による内部監査は、年1回程度の定期的な書類点検等に加えて、不適合業務等が生じた場合に検査部門管理者からの是正措置等に関する文書による報告を受けて実施できる体制としている。精度管理については、業務管理要領に定期的な信頼性確保試験の実施が明記されており、例えば当所でウイルス遺伝子検査を実施する場合、毎回陽性及び陰性対照を置いている。業務管理要領には検査員の技能評価を行う場合の参考事項も記述されており、OJT (On-the-Job Training)をはじめとする教育訓練及び研修に結びつけて、常に資質向上を図ることが望まれる。

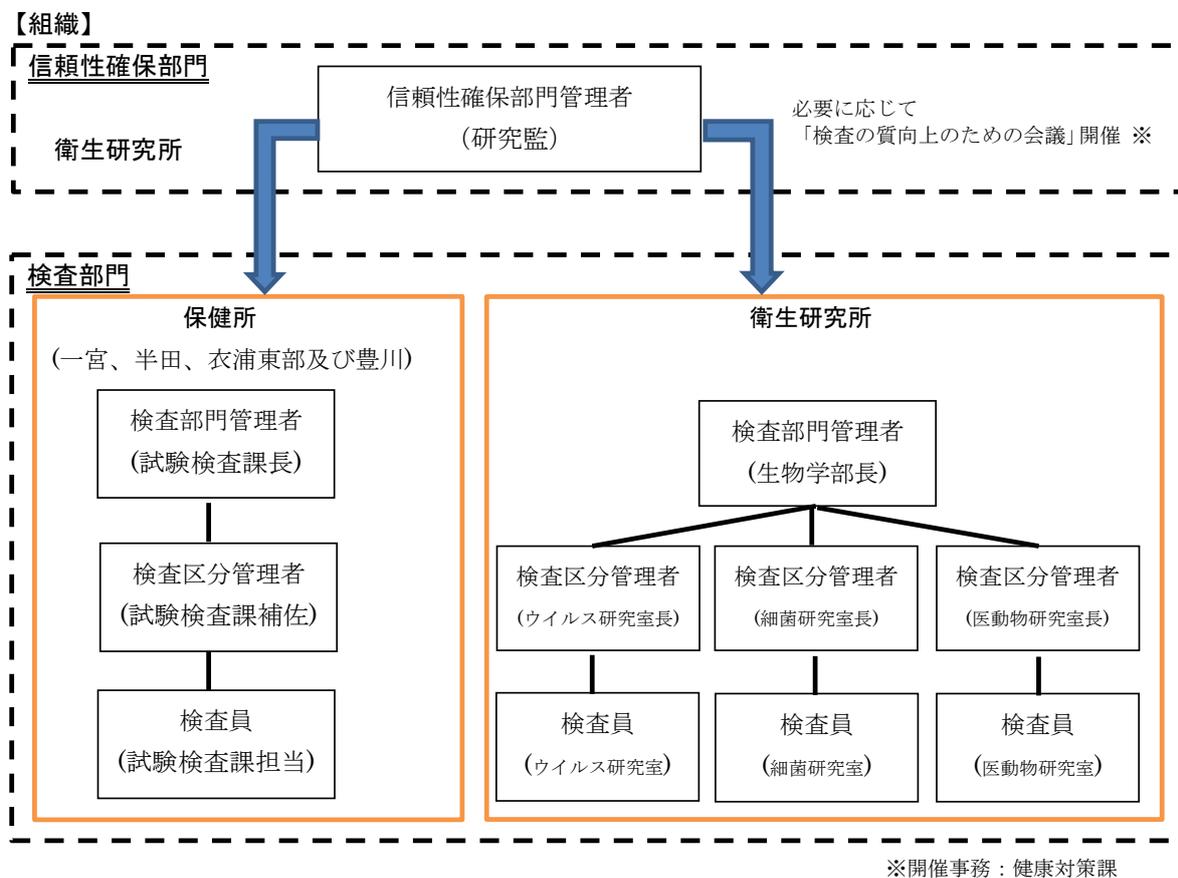


図1 愛知県における病原体等検査業務管理体制組織図（平成30年度）

5 検査の「質」確保と人材育成—エンテロウイルス検査を例に— (図2、図3)

ウイルス検査の質確保に関する取り組み例として、国立感染症研究所ウイルス第二部 吉田博士を中心としたエンテロウイルス外部精度管理調査システムの構築に関する研究³⁾を紹介する。

ピコルナウイルス科に属するエンテロウイルスには、ヒトや動物に感染する多数の病原体が知られている。二類感染症で定期予防接種対象疾病の急性灰白髄炎の病原体であるポリオウイルス(PV)検査を実施する場合は高度な検査の「質」確保が求められる。また、五類感染症で感染症発生動向調査定点把握疾病の手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎の主な病原ウイルスであるA群コクサッキーウイルス(CV-A)、エンテロウイルスA-71(EV-A71)、エコーウイルス、B群コクサッキーウイルス(CV-B)等の検出・同定についても、一定の検査の質を

担保することが望ましい。吉田らによる研究では、まず全国地衛研を対象とするウイルス検査の外部精度管理調査(External Quality Assessment: EQA)システム構築を検討した。感染症発生動向調査等に基づく業務としてエンテロウイルス検査を実施する地衛研は、平成30年度に実施した病原体検査体制に関する調査⁶⁾における急性灰白髄炎検査SOP準備状況(49機関が作成済、9機関が作成予定)から、少なくとも58機関にのぼる。ウイルス分離検査の精度管理には感染性ウイルスの配布が必須となるが、本研究では非感染性試料に特化して、他のウイルス検査にも活用可能なEQAパッケージ開発を図った。概要を図2に示す。本研究では手足口病患者の咽頭ぬぐい液検体を想定し、比較的少ない量のエンテロウイルス遺伝子を高感度に検出かつ遺伝子型(血清型)決定が可能な検査法として全国の地衛研に広く導入されている、CODEHOP-semi nested PCR法に

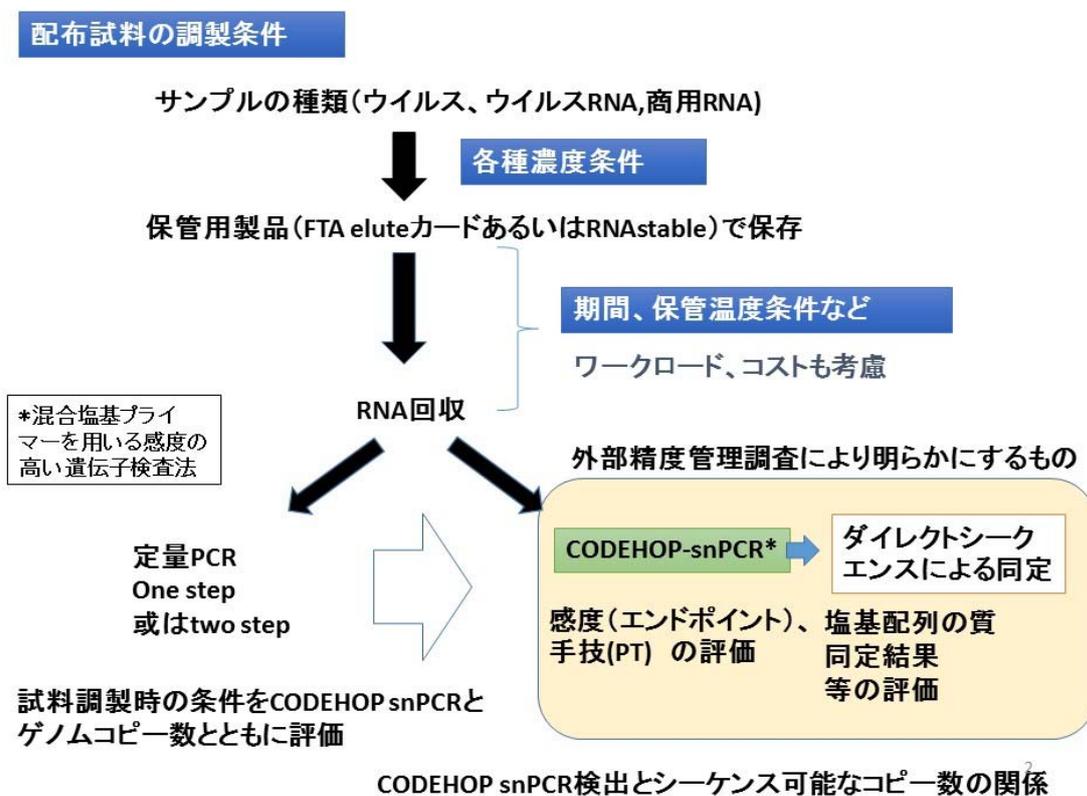


図2 エンテロウイルス外部精度管理調査システムの構築³⁾

よるウイルス遺伝子検査のEQAを試行した。

配布試料の調製条件については、市販品（商用RNA）の活用と並行して、流行株変異への対応を想定してウイルス感染細胞からの調製プロトコルも作成し、エンドポイント測定、再現性試験、感染性否定試験等により各種濃度条件等を検討した。さらにコスト面を含めてEQAの実施可能性や評価方法の考察を行った。

期間、保管温度条件などの検討については、12機関の参加を得て実施し、参加機関からは3週間以内に結果が返送された。本試行において、非感染性試料の準備・冷凍輸送便による送付は1人で実施可能であり、試料準備と配布費用は1か所あたり20,000円程度（平成29年12月時点）であった。今後配布試料の品質管理手法（安定性の条件、確認方法）が開発されれば、外部委託あるいはレファレンスセンターを活用した地衛研の支部単位の実施も可能と考えられた。

外部精度管理調査試行の結果、12機関全てがウイルス遺伝子を検出し、塩基配列に基づいて遺伝子型を正しく決定した。詳細な検討の結果、エンドポイント法による検出感度には施設間差がみられた。遺伝子塩基配列の結果にも、2か所に施設間差がみられた。

図3に、エンテロウイルス遺伝子検査に求められる質のレベルを示す。五類感染症患者から検出されるウイルス血清型（遺伝子型）の決定は、標準株と75%以上一致しているかを判断できるレベルで可能である。同じ遺伝子型内の分子疫学解析を実施する場合は遺伝子型決定より高い精度が求められる。さらに二類感染症であるPVの場合、日本は2012年に生ワクチンから不活化ワクチンに切り替えたが、アジア各国はじめPV-1、PV-3生ワクチンが使われている国は未だあり、ワクチン由来株(vaccine-derived poliovirus: VDPV)か否かの判断には1塩基置換レベルの精度が求められる。

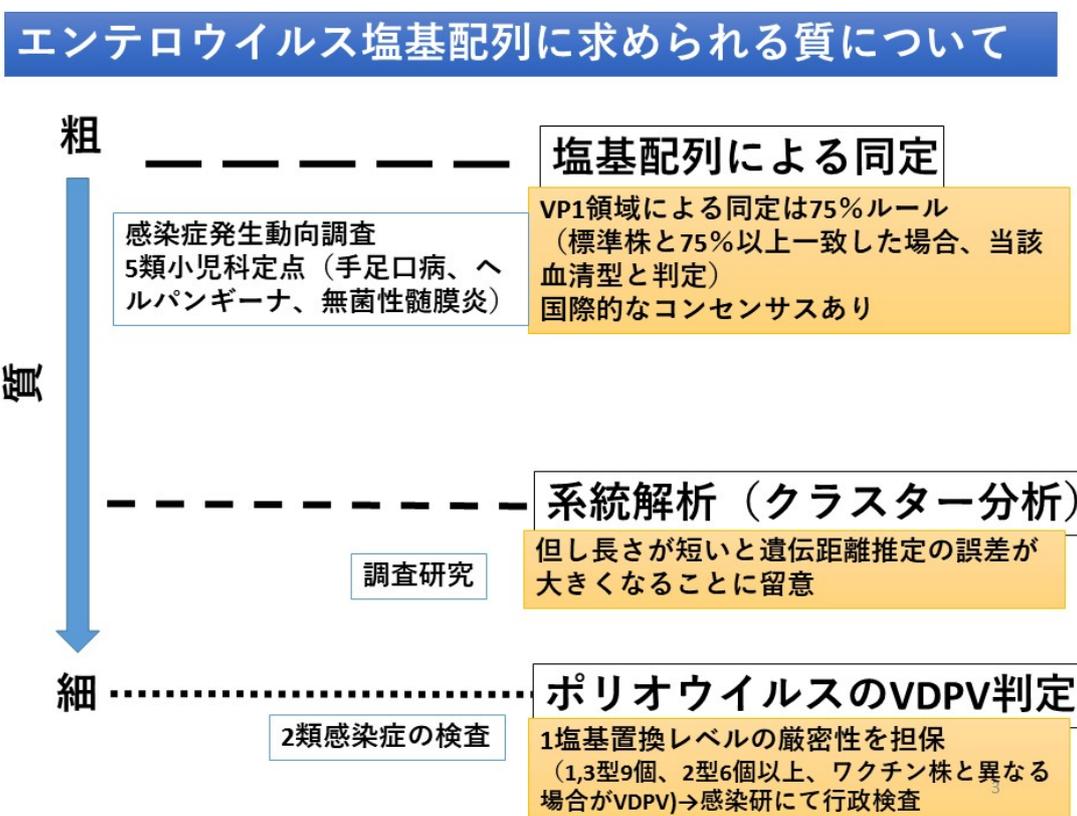


図3 エンテロウイルス塩基配列に求められる質について³⁾

本試行の結果、五類感染症の手足口病、ヘルパンギーナ等のウイルス遺伝子型決定に相当する検査は、全機関とも問題なし、と判断された。EQAの評価方法としては、機関として日常のサーベイランスにおいて正しい検査結果を報告していることを担保しつつ、より高次の検査対応を見据えて検査技術の向上及び機器等の状況把握につながる詳細な評価コメント等のフィードバックが有用と考えられた。

6 おわりに —検査体制を支える人材の確保—

感染症法に基づく病原体検査の対象には、地域の定常状態を把握する発生動向調査からアウトブレイクや一部の食中毒等の健康危機まで含まれ、地衛研や保健所試験検査課にとって365日対応可能な体制を維持することが求められている。地方自治体において感染症法に基づく病原体検査を担当する部署には経験に基づく技能及び感染症に関する見識を持つ人材が不可欠であり、個々の検査員が感染症の原因を追究する意欲を持ち、時には病原体の変異を想定する等柔軟な対応を行うことも必要と考えられる。

平成30年度から2年計画で実施中の厚生労働科学研究⁶⁾においては、業務管理要領19教育訓練及び研修の項に明記された検査員を対象とする「精度管理の実施結果に基づく研修」として、外部精度管理調査の実務を担当した感染研病原体担当部門職員によるフィードバックを含む研修を地方衛生研究所全国協議会に設置されている6支部で開催する可能性を考え、インフルエンザウイルス遺伝子検査について平成30年9月に当所において試行した。さらに細菌及びウイルス検査担当部署の構成員に求められるコンピテンシー(Competency:「特定職務の能力段階」などと訳される)リスト作成等を通じて、地衛研における病原体検査担当者の切れ目ない確保につながる提言をめざしている。

7 参考文献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知. 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)
- 2) 皆川洋子, 調恒明, 滝澤剛則ほか. 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~29年度総合研究報告書(研究代表者 皆川洋子), 2018. <http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD02.do?resrchNum=201625011A>
- 3) 吉田弘, 伊藤雅, 皆川洋子ほか. 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. 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29年度総括研究報告書:19-26, 2018. <http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD02.do?resrchNum=201726003B>
- 4) 松本昌門, 皆川洋子, 山下照夫ほか. 4. 地域の病原微生物検査の質の維持向上に資する地方衛生研究所の役割に関する研究. 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29年度総括研究報告書:79-94, 2018. <http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD02.do?resrchNum=201726003B>
- 5) 松本昌門. 赤痢菌の検査について. 愛知県衛研技術情報 42(1):1-4, 2018.
- 6) 滝澤剛則, 松本昌門ほか. 2. 赤痢菌検査におけるコンピテンシー作成. 病原微生物検査体制の維持・強化に必要な地方衛生研究所における人材育成及び地域における精度管理に関する協力体制構築に向けた研究(H30-健危-一般-003)平成30年度総括研究報告

書:7-14, 2019. <https://mhlw-grants.nih.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum=201826015A>

(文責：生物学部 皆川洋子、伊藤 雅、松本昌門)

愛知衛研技術情報 第43巻第1号 令和元(2019)年 11 月 26 日

照会・連絡先 愛知県衛生研究所

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号

愛知県衛生研究所のホームページ【 <https://www.pref.aichi.jp/eiseiken> 】

総務課：	052-910-5618	生物学部	052-910-5654
企画情報部		ウイルス研究室：	052-910-5674
健康科学情報室：	052-910-5619	細菌研究室：	052-910-5669
		医動物研究室：	052-910-5654
		衛生化学部	052-910-5638
		医薬食品研究室：	052-910-5639
		生活科学研究室：	052-910-5643

代表電話： 052-910-5618

代表 FAX： 052-913-3641
