

レファレンスセンター報告 結核

御手洗聡, 村瀬良朗
結核予防会結核研究所抗酸菌部

討議事項

- 2017年度に実施した結核菌VNTR型別法の外部精度評価結果に関する協議
- 外部精度評価を受けた訓練(研修)に関する調整
- 非結核性抗酸菌症増加を受けた非結核性抗酸菌に関する衛生研究所の役割

精度保証の要素

- 精度管理 (Internal Quality Control: IQC)
- 外部精度評価 (External Quality Assessment: EQA)
 - Proficiency testing
 - Blinded Cross Re-checking
 - Supervision/Inspection
- 訓練 (Training)

VNTR分析に関する外部精度評価の方法

- レファレンス委員を介して、EQA実施プロトコールの配布・参加募集
- 参加希望のあった衛生研究所を対象
- 結果既知の結核菌3株のDNAを送付
- 内部精度管理用結核菌DNAの配布
- 各施設でのVNTR分析結果を結核研究所にて標準結果と比較解析

外部精度評価で用いたVNTR分析結果報告シートの概要

施設名

PCR産物の測定方法

分析結果シート

分析施設 担当者)
XX研究所 (X)

分析方法
キャピラリー電気泳動 (ロスモアイ)

ID	JATA No.															HV			Supply					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	3232	3820	4120	3690 (Mtub 39)	MIRU 40	MIRU 04	2401 (Mtub 30)	MIRU 16	ETR-C
入力	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション
H37Rvの コピー数	2	3	1	4	5	2	3	4	3	8	5	3	5	2	3	4	3	2						
Strain A(QC-DNA 1)	1	4	9	3	9	1	2	4	4	7	7	2	8	11	4	1	11	4	2	2	5	2	3	4
Strain B(QC-DNA 2)	2	5	2	1	2	3	1	2	3	13	8	4	7	N	3	6	8	4	3	2	1	4	1	4
Strain C(QC-DNA 3)	4	3	4	3	8	3	7	4	5	7	8	3	8	8	4	14	14	9	3	3	2	4	3	5

JATA(12/15)

HV

Supply(15)

国内で推奨される共通の分析対象

超可変領域、
高識別能
(オプション)

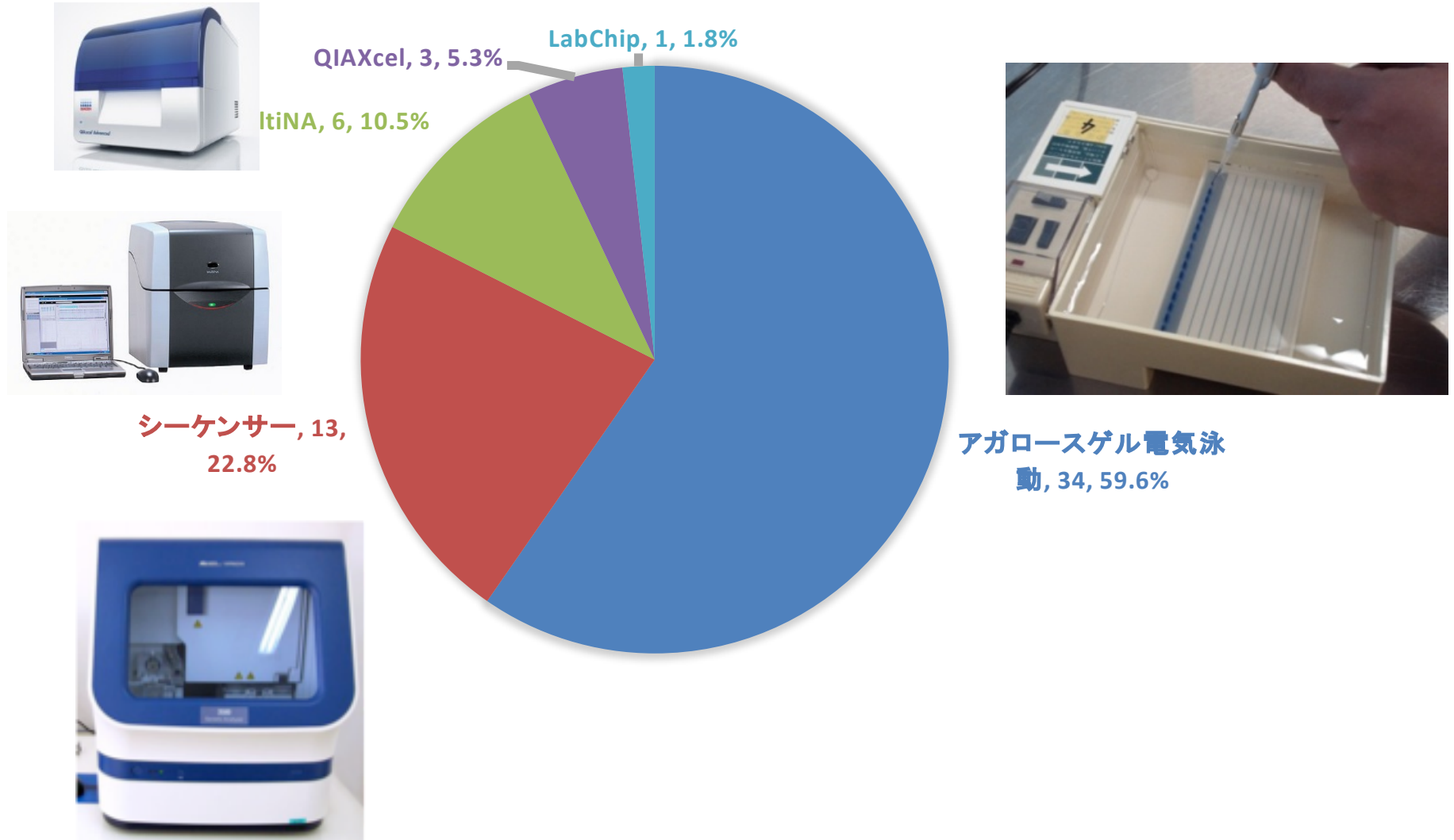
国際比較
(オプション)

参加施設から電子メール等で報告シートを回収し、集計・分析を実施

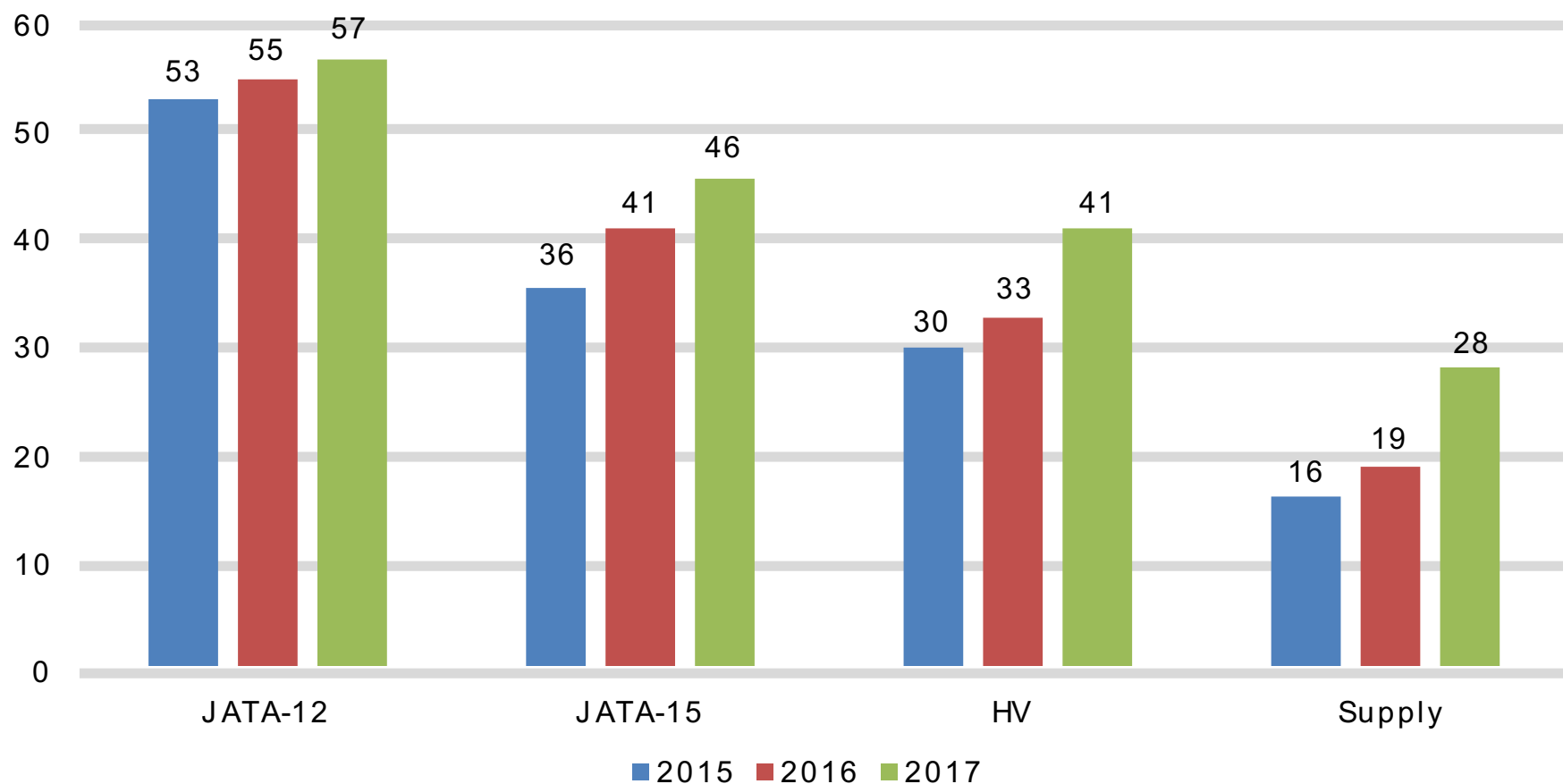
2017年度VNTR分析外部精度評価

- 全国の地方衛生研究所を対象
- 58施設の参加（2016年度[n=56]）
- 57施設から分析結果を回収（-2018.3.31）

2017年に実施した外部精度評価 各施設で用いられているDNA分子量の測定法(57施設)



参加施設で採用されているVNTR分析システム



JATA-12は基本的に全施設実施。識別能を上げるためにJATA-15、HV、Supplyを追加分析する施設数が年々増加

外部精度評価：標準判定

正解

ID	JATA No.															HV			Supply					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	3232	3820	4120	3690 (Mtub 39)	MIRU 40	MIRU 04	2401 (Mtub 30)	MIRU 16	ETR-C
入力	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	必須	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション	オプション
H37Rv	2	3	1	4	5	2	3	4	3	8	5	3	5	2	3	4	3	2	5	1	3	2	2	4
内部精度管理株 A	3	3	3	3,4	7	3	7	5	5	7	2	5	10	8	4	12	12	11	3	3	2	4	4	4
内部精度管理株 B	1	4	10	3	7	2	2	4	3	7	7	2	11	11	4	1	11	4	2	2	5	2	3	4
外部精度評価株 1	5	3	5	3	2	3	7	4	5	8	7	4	14	8	4	15	15	13	3	3	2	2	3	4
外部精度評価株 2	2	5	2	1	2	3	1	2	3	13	5	4	7	7	3	5	7	3	3	2	1	4	1	4
外部精度評価株 3	4	3	4	3	0*	3	7	4	5	7	11	3	8	5	3	14	14	10	4	4	2	4	3	4

* 1500bp以上のためコピー数判定不能のため、便宜的に0と表示。もしくは (コピー数) ≥ 等の表記でも正解としました。

外部精度評価株 1	4	3	4	3	6	3	7	4	5	7	8	3	8	8	4	13	12	10	3	3	2	4	3	4
外部精度評価株 2	2	5	2	1	2	3	1	2	3	13	7	4	7	7	3	4	8	2	2	2	1	4	1	4
外部精度評価株 3	1	3	4	3	7	3	7	4	5	7	8	5	10	8	4	15	8	5	3	3	2	4	3	4

参考：2016年度の対象株と標準判定

2017年度 外部精度評価の結果

結核菌3株をJATA-12 VNTR法で分析した場合の正答との一致率

	2015 施設数(53施設中, %)	2016 施設数(55施設中, %)	2017 施設数(57施設中, %)
完全一致	49 (92.4%, 49/53)	48 (87.3%, 48/55)	40 (70.2%, 40/57)
1 locus違い	1 (1.9%, 1/53)	5 (9.1%, 5/55)	12 (21.1%, 12/57)
2 loci以上の違い	3 (5.7%, 3/53)	2 (3.6%, 2/55)	5 (8.8%, 5/57)

2017年度に全ローサイ完全一致した施設の割合は、2016年度と比べると有意に低下していた(87.3% vs. 70.2%, $p=0.027$)。

結論

- 2017年度は57施設に対して外部精度評価を実施(4回目)
- 3株のEQA用検体をJATA 12で分析した場合、2016年と比べて全株12ローサイ完全正答した施設数と割合は48施設87.3%(2016)から40施設70.2%(2017)に減少した。
- 株のセレクションに左右される側面あり。
- 担当者の交代が精度の低下と関係している可能性が示唆された。
- 外部精度評価後のフィードバック(フォローアップ)、再訓練や研修を実施し、分析精度の維持と向上を図る必要がある。

今後の精度保証(2018–2019年度)

1. 本年度・来年度の実施について
 1. 継続してVNTR外部精度評価を実施する。
 2. 各ローカスについて、全参加者の80%以下の一致率である場合は評価対象から除外する。
 3. 再検査を可能とするため、配布するDNA量を増やす。
2. 外部精度評価実施後のフィードバック(follow-up)
 1. 問題点の洗い出しと改善効果の評価のための調査を今年度から実施する。
 2. 来年度結核菌の取扱とVNTRに関する研修を二回実施する。

結核レファレンス委員会

委員

- 北海道東北新潟：山形県衛生研究所・瀬戸順次
- 関東甲信静：神奈川県衛生研究所・相川勝弘

→大屋日登美

- 東海北陸：富山県衛生研究所・磯部順子
- 近畿：大阪市立環境科学研究所・山本香織
- 中国四国：岡山県環境保健センター・河合央博
- 九州：大分県衛生環境研究センター・一ノ瀬和也

→神田由子

世話人

- 結核予防会結核研究所抗酸菌部 御手洗聡，村瀬良朗