

# 結核

代表世話人：御手洗 聡

(結核予防会結核研究所抗酸菌部)

# 結核患者数(2016年12月月報)

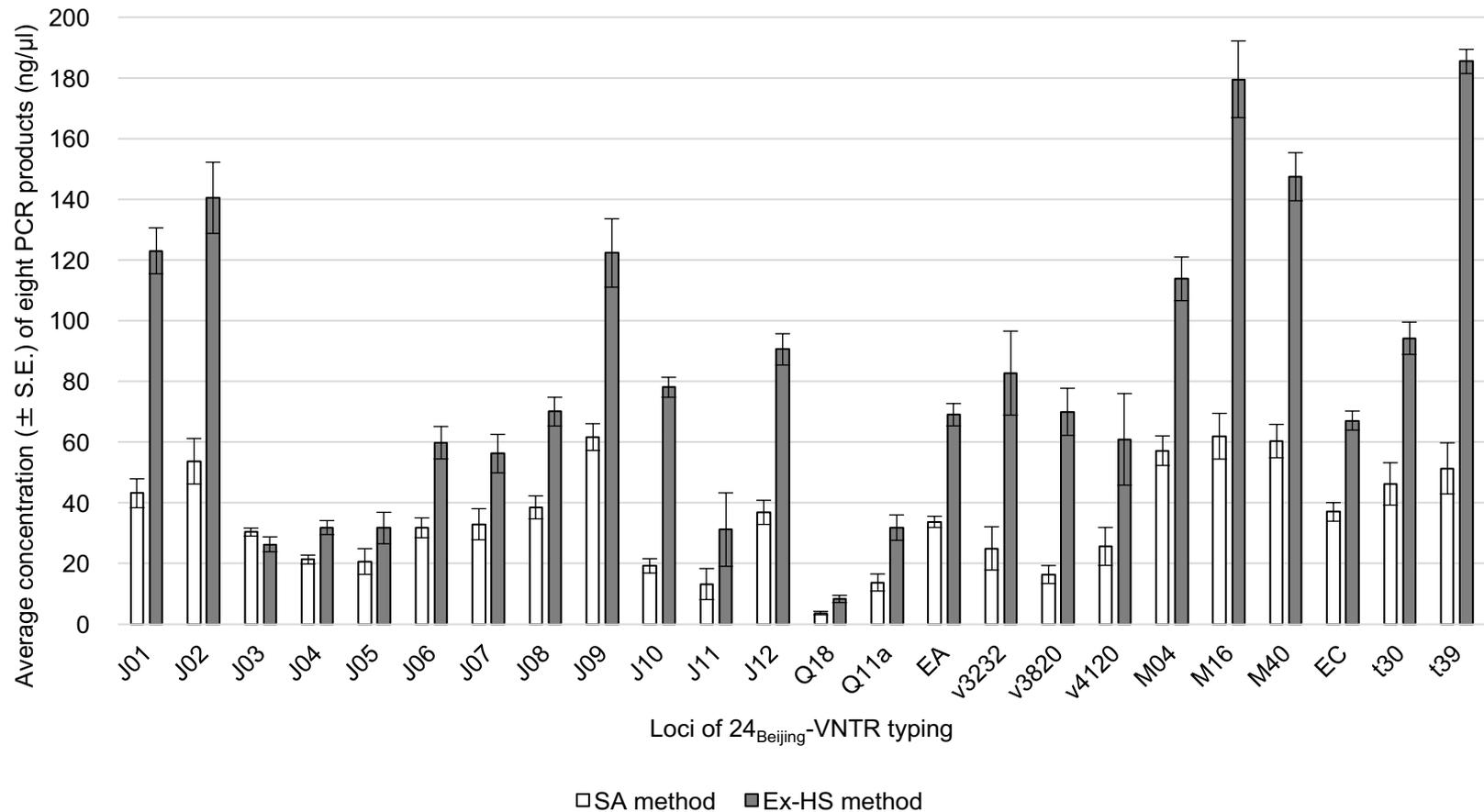
- 新規罹患数:17,364名
- 罹患率:13.7/10万人
- 塗抹陽性肺結核患者数:6,428名(37.0%)
- 塗抹陽性肺結核患者罹患率:5.1/10万人
- 新登録潜在結核感染症(治療対象者):7,308名(男性3,530/女性3,778)

対策の評価や感染リスクの分析とそれに基づいた対策の強化のために、「薬剤感受性検査及び分子疫学的手法からなる病原体サーベイランスの構築に努めること」が国の方針として明示されている。

# 昨日の会議内容

- VNTR簡易実施法に関する報告
- 結核菌VNTR型別外部精度評価結果報告
- 「結核菌病原体サーベイランス」および「結核分子疫学調査の手引き」の内容について
- 本年度の予定活動内容

VNTR解析のための迅速・簡便なPCR手法: 24領域の試薬コスト551円  
 SapphireAmp Fast Master Mixによる方法: Ex系に比べても十分な増幅量を確保



Seto J, Wada T, Suzuki Y, Ikeda T, Mizuta K, Mitarai S, and Ahiko T. Convenient PCR method for variable-number tandem-repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. J Microbiol Method 2017; 139(8): 12–14.

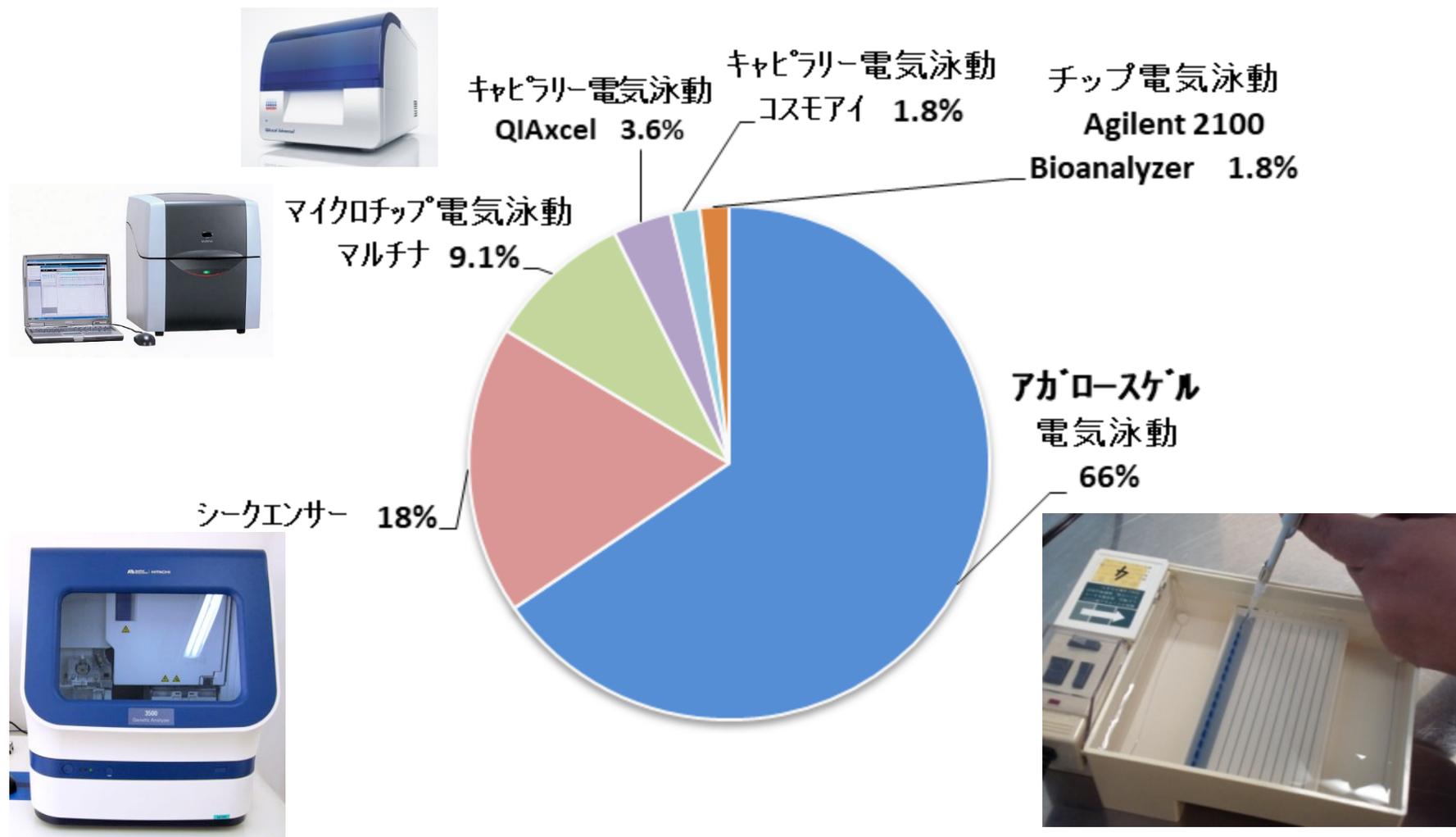
# 2016年度VNTR分析外部精度評価

## — 概要 —

- 全国の地方衛生研究所を対象
- 56施設の参加（2014年度[n=54]、2015年度[n=53]）
- 55施設から分析結果が送付されている（～2017.3.31）

# 2016年に実施した外部精度評価の結果について(1)

## 各施設で用いられているDNA分子量の測定法(55施設)



# 外部精度評価で用いたVNTR分析 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 XX)

分析方法

キャピラリー電気泳動 (ロスモアイ)

	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
ID	0424	MIRU 10	1955	2074	2163b	2372	MIRU 26	3155 QUB 15)	MIRU 31	3336	4052 QUB 26)	4156	1982 (QUB 18)	2163a	ETR-A									
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

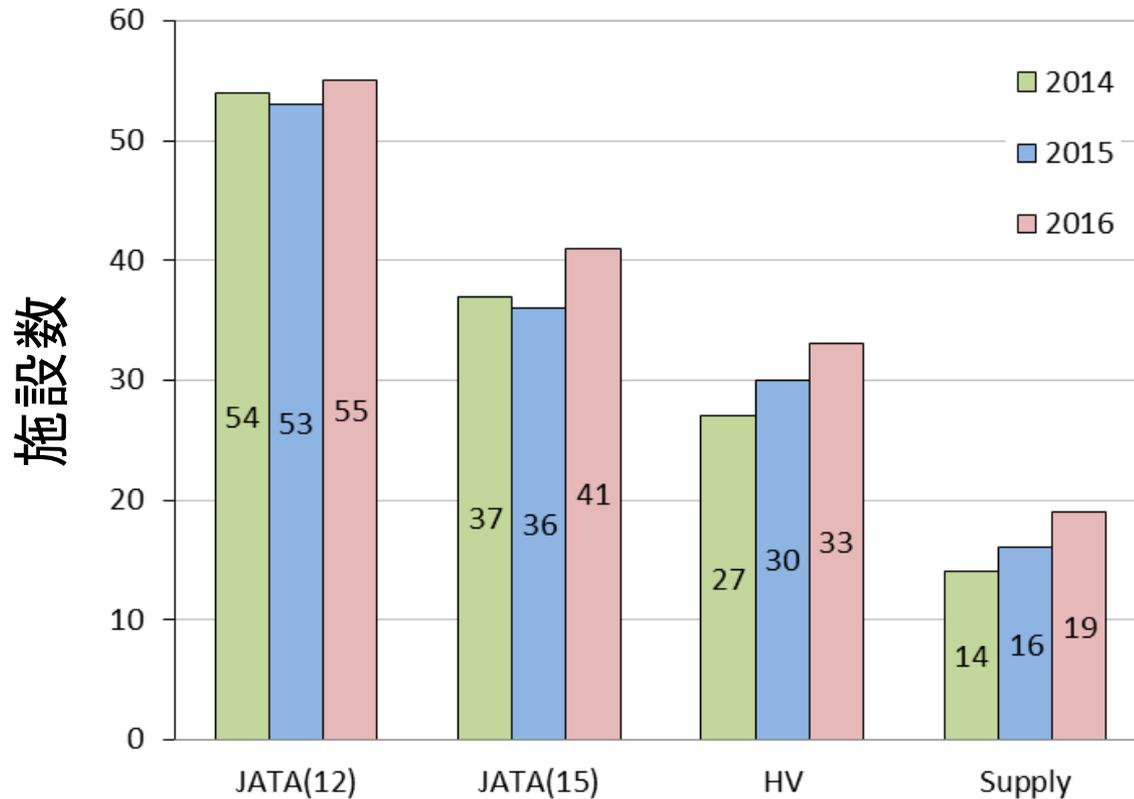
超可変領域、  
高識別能  
(オプション)

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

## 2016年度の結果(2)

### 参加施設で採用されているVNTR分析システム



2016年度は、識別能を上げるためにJATA(15),HV, Supplyを分析する施設数が増加

## 2016年度の結果(3)

### 2016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

	2014 施設数 ( 54施設中, % )		2015 施設数 ( 53施設中, % )		2016 施設数 ( 55施設中, % )	
全口一サイ完全一致	36	<u>67% ( 36/54 )</u>	49	<u>93% ( 49/53 )</u>	48	<u>87% ( 48/55 )</u>
1口一カス違い	7	13% ( 7/54 )	1	1.9% ( 1/53 )	5	9.1% ( 5/55 )
2カ所以上違い	11	20% ( 11/54 )	3	5.7% ( 3/53 )	2	3.6% ( 2/55 )

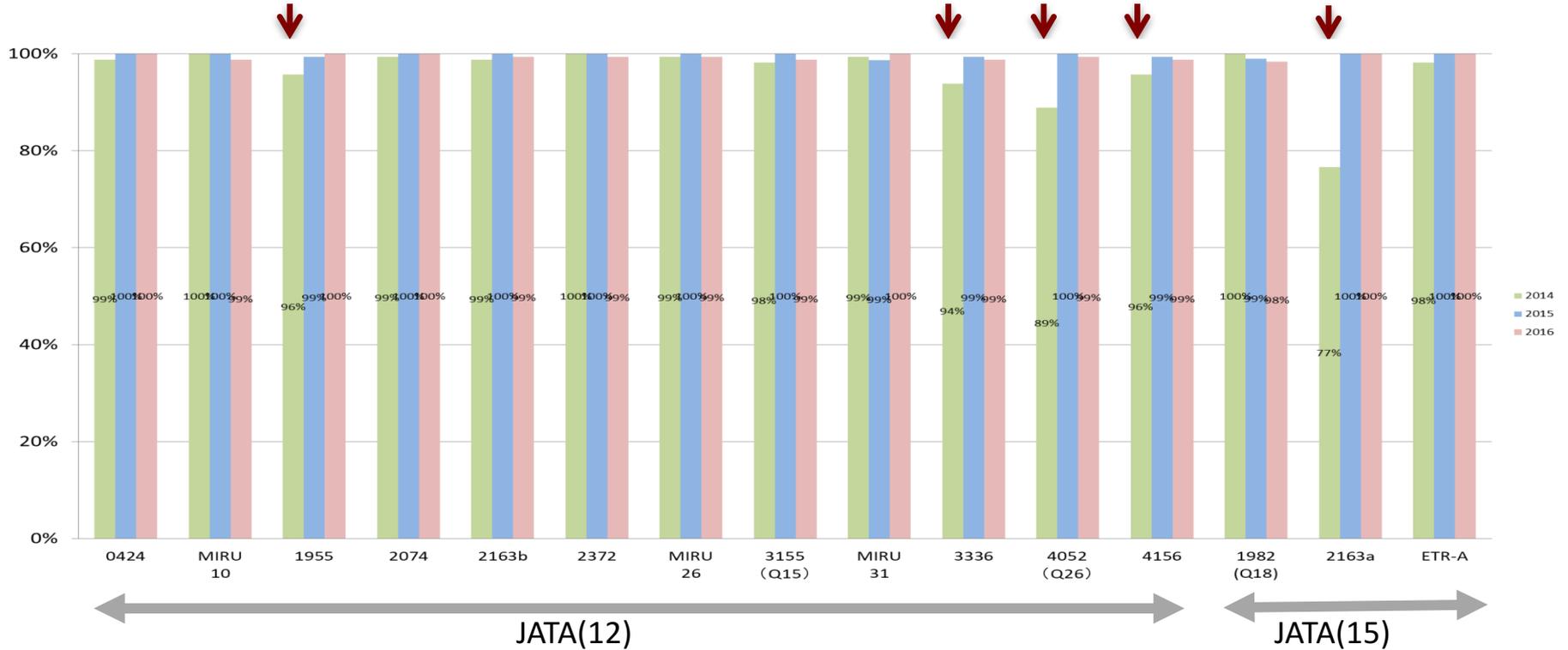


- 2016年度は2014年度と比べて大幅に改善しているものの、2015年度よりも若干低下
- 不一致が報告された7施設のうちの5施設では担当者が交代
- 引き続き、分析精度の向上に向けた取り組みが必要

# 2016年度の結果(4)

## 各ローカスにおける正答率

↓ 2014年に誤回答が多かったローカス



2016年度は、特定のローサイドで正答率が低いわけではない

## 2016年度の結果(5)

### 各分析法におけるローカセットの正答率

	JATA(12)		JATA(15)		HV		Supply	
	n	正答率(%)	n	正答率(%)	n	正答率(%)	n	正答率(%)
アガロースゲル	36	99.8	27	99.6	20	97.8	9	100
自動シーケンサー	10	98.9	9	100	9	98.8	9	100
マルチナ	5	97.8	3	100	2	100	2	100
QIAXcel	2	97.2	1	88.9	1	66.7		
コスモアイ	1	100	1	100	1	100	1	100
Agilent 2100 Bioanalyzer	1	100						

n: 各分析法による報告施設数

正答率(%): 各ローカセットにおける1ローカセットあたりの正答率(%)

# 結論

- 2016年度は55施設に対して外部精度評価を実施
- 2016年度は、2015年度よりも分析精度が低下しているが、2014年度からの改善傾向を維持  
(JATA[12]3株完全一致施設の割合 67%, 93%, 87%  
[2014,2015,2016])
- 担当者の交代が精度の低下と関係している可能性
- 外部精度評価や研修を継続実施し、分析精度の維持と向上を図る必要

# 手引き書等

- 結核菌病原体サーベイランスの実践(総説) 第一版
- 結核分子疫学調査の手引き 第一版
  - 最大事後確率 (maximum a posteriori: MAP) 推定法により、北京型株と非北京型株の区別と北京型株の細分類化を行えるプログラム(エクセルマクロ)
  - 患者の発病時期等を図形化することが可能なプログラム(エクセルマクロ)
  - VNTR分析の数字パターンの一致/不一致を簡便に判定可能なプログラム(エクセルマクロ)
- 上記について、結核研究所HP、地方衛生研究所全国協議会 HP等でpdf公開を予定

# 本年度の活動内容(予定)

- 結核菌VNTR遺伝子型別に関する外部精度評価の継続実施
- 既に作成されているVNTR実施手順書の補完資料の作成
- 研修の実施
  - 結核菌の取り扱いとVNTR分析
  - 地方衛生研究所の担当者10名程度を対象に実施予定

# 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
- 東海北陸：富山県衛生研究所・磯部順子
- 近畿：大阪健康安全基盤研究所・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

## 世話人

- 結核予防会結核研究所抗酸菌部 御手洗聡，瀧井猛将