

東京都衛生検査所精度管理調査における病原体核酸検査の調査結果 (2019年度)

長島 真美^a, 河上 麻美代^a, 熊谷 遼太^a, 浅倉 弘幸^a, 永野 美由紀^a, 北村 有里恵^a,
加來 英美子^a, 矢尾板 優^a, 長谷川 道弥^a, 小田 真悠子^b, 市川 めぐみ^b, 千葉 隆司^a,
小西 浩之^b, 貞升 健志^c, 石井 良和^d

臨床検査の結果は診断及び治療方針の決定に影響を及ぼすため、高い精度が求められており、検査精度の信頼性確保が不可欠である。平成30年12月に医療法等の一部を改正する法律が施行され、登録衛生検査所等における病原体核酸検査に関する精度管理の基準が明確化された。これに伴い、令和元年度、東京都の精度管理調査において、都内登録衛生検査所を対象にB型肝炎ウイルス (HBV) の病原体核酸検査を試行的に実施した。市販のHBV遺伝子コントロールをEDTA血漿で希釈して試料を作製し配布した。精度管理調査参加施設及びレファレンス施設とも良好な結果が得られた。現在、新型コロナウイルス感染症の核酸検査を含め、多くの施設で様々な遺伝子検査が実施されていることから、病原体核酸検査の外部精度管理調査を今後も継続して進めていく必要がある。

キーワード：精度管理調査，臨床検査，登録衛生検査所，B型肝炎ウイルス(HBV)，病原体核酸検査

はじめに

現代医療において、臨床検査の結果が診断や治療方針の決定に影響を及ぼす比率は極めて大きくなっている。その中でも特に感染症における病原体検査は「検査室 (実験室) 診断」と呼ばれるほど重要視されていることから、高い精度が求められており、検査精度の信頼性確保が不可欠である。また、ゲノム医療の実用化に向けた体制整備が求められている状況において、安全で適切な医療提供の確保を推進するため、遺伝子関連・染色体検査を含む検体検査の精度確保が求められている。こうした状況において、平成30年12月に医療法等の一部を改正する法律 (平成29年法律第57号) が施行され¹⁾、検体検査業務を行う医療機関や検体検査業務を医療機関から受託して行う衛生検査所等における精度管理の基準が明確化され、遺伝子関連検査についても精度管理調査を実施することが求められた。また、国際基準との整合性を図り、医療技術の進歩に合わせて検査分類を柔軟に整備できるようにする目的で、臨床検査技師等に関する法律施行規則²⁾及び医療法施行規則³⁾において検体検査の分類が見直された。これにより、一次分類に遺伝子関連・染色体検査が、二次分類に病原体核酸検査、体細胞遺伝子検査、生殖細胞系列遺伝子検査及び染色体検査が新たに設置された。

東京都では、登録衛生検査所を対象とした東京都衛生検査所精度管理調査を令和元年度まで38回にわたり実施し、「東京都衛生検査所精度管理事業報告書」⁴⁾により公表している。これまで、東京都衛生検査所精度管理調査では生化学的検査や微生物学的検査等について調査を行ってきた。

令和元年度の精度管理調査において、B型肝炎ウイルス (HBV) の病原体核酸検査を試行的に実施したので、その概要について報告する。

材料及び方法

1. 供試材料

1) 事前測定用試料

AcroMetrix™ HBV High Control (1,700,000 IU/mL) (サーモフィッシャーダイアグノスティックス) を標準品とした。リン酸バッファー溶液 (PBS), AcroMetrix™ Citrate Dilution matrix (サーモフィッシャーダイアグノスティックス) (以下、クエン酸血漿) 及びHBV遺伝子非検出の正常シングルドナーEDTA血漿 (PromedDx) (以下、EDTA血漿) を用いて、標準品を1,000倍希釈した。

2) 配布用試料

EDTA血漿を用いて標準品を希釈し、高濃度試料 (MB9 : 約1,000 IU/mL) 及び低濃度試料 (MB8 : 約100 IU/mL) を作製した。EDTA血漿そのもの (MB6 : 陰性) を加えた3種類の試料を配布用試料とした。

2. 測定方法

東京都健康安全研究センター (以下、健安研) でのHBV遺伝子の測定は、測定機器にTaqMan「オート」システムB (ロシュ・ダイアグノスティックス) を用い、専用試薬のコバスTaqMan HBV「オート」v2.0にて、添付文書に従い実施した。1検体につき3重測定し、平均値を測定値とした。

^a 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター精度管理室

^c 東京都健康安全研究センター微生物部

^d 東邦大学医学部

表1. レファレンス施設で所有する装置での測定結果

コバスAmpliPrep/TaqMan (ロシュ社製)			コバス6800システム (ロシュ社製)			m2000システム (アボット社製)			コバスAmpliPrep/TaqMan48 (ロシュ社製)		
測定日	試料番号	測定値 (平均値±SD) [Log IU/mL]	測定日	試料番号	測定値 (平均値±SD) [Log IU/mL]	測定日	試料番号	測定値 (平均値±SD) [Log IU/mL]	測定日	試料番号	測定値 (平均値±SD) [Log IU/mL]
2019年	MB6	ND*	2019年	MB6	ND*	2019年	MB6	NA**	2019年	MB6	ND*
7月25日	MB7	2.22±0.04	7月25日	MB7	2.38	7月29日	MB7	2.28±0.03	7月25日	MB7	2.15±0.03
	MB8	3.26±0.09		MB8	3.29		MB8	3.17±0.05		MB8	3.15±0.03
	MB6	ND*		MB6	ND*		MB6	NA**		MB6	ND*
7月29日	MB7	2.26	7月29日	MB7	2.37±0.05	7月30日	MB7	2.19±0.03	7月26日	MB7	2.24±0.11
	MB8	3.24		MB8	3.28±0.02		MB8	3.02±0.04		MB8	3.32±0.04
	MB6	ND*		MB6	ND*		MB6	NA**		MB6	ND*
7月30日	MB7	2.30	7月30日	MB7	2.36±0.08	7月31日	MB7	2.16±0.05	7月29日	MB7	2.37±0.07
	MB8	3.19		MB8	3.26±0.04		MB8	3.00±0.07		MB8	3.33±0.10

* : 検出せず

** : ICエラーで測定不能

他施設では、自施設で所有する機器及び機器に適合する試薬を用い、添付文書に従い測定を実施した。

3. 精度管理調査

1) 調査対象

令和元年度東京都衛生検査所精度管理調査に参加した衛生検査所のうち、病原体核酸検査を希望した7施設を対象とした。また、ロシュ・ダイアグノスティックス社（以下、ロシュ社）、アボットジャパン社（以下、アボット社）及び東京都健康安全研究センター（以下、センター）をレファレンス施設とした。

2) 調査方法

配布用試料を説明会当日に配布し、用手搬送により各施設に搬送後、1週間程度以内での測定と測定結果の回答を求めた。測定は自施設の機器を用い、定性的な検査の実施を指示した。また、定量的な検査を実施した施設には、その数値を参考値として報告することとした。センター以外のレファレンス施設には、検体を郵送にて搬送し、複数日程、同一検体を測定して日間差を確認した。

結果及び考察

1. 事前測定結果

配布用試料を作製するにあたり、PBS、クエン酸血漿及びEDTA血漿を用いて標準品の希釈（1,000倍希釈）を行い、希釈液の違いによる測定値への影響を調べた。その結果、PBSで希釈した試料の測定値は $3.31E+3$ IU/mL、クエン酸血漿では $7.01E+3$ IU/mL、EDTA血漿では $6.95E+3$ IU/mLで、クエン酸血漿及びEDTA血漿の希釈試料では差がみられなかったが、PBSで希釈した試料は、他に比べやや低値であった。よって、血液中のウイルス遺伝子を測定する際、抗凝固剤としてEDTAを用いることが多いことから、精度管理用検体の希釈液として、EDTA血漿を採用した。

2. 精度管理調査結果

1) レファレンス施設での測定結果

レファレンス施設での測定成績を表1に示した。ロシュ社はコバスAmpliPrep/コバスTaqMan及びコバス6800/8800システムで、アボット社はm2000システムで測定した。m2000システムでは、MB6（陰性）がすべてICエラーとなり測定ができなかったが、今回、その原因の特定には至らなかった。MB7及びMB8については、いずれの機器においても、複数回測定した際の測定誤差は5%以内であり、誤差は許容範囲であった。また、各機器とも5日間ないし6日間の間に3回測定を行ったが、日間差はみられなかった。

2) 精度管理参加施設の測定結果

今回参加した7施設は、表2に示す機器及びキットを使用し、2019年7月25日から7月30日の期間に測定を行っていた。この期間はレファレンス施設によって試料中に想定されたHBV DNA量が含まれていることが確認された期間内であった。全7施設とも正しくHBV DNAを検出し、定量的検査を実施した施設から報告されたDNA濃度も適切な値であった。

表2. 病原体核酸検査に参加した施設の測定結果

使用試薬	使用機器	参考：定量値 [Log IU/mL]		
		MB6	MB7	MB8
コバス6800/8800システムHBV	コバス8800システム	2.25	3.2	
アキュジーンm-HBV	m2000システム	2.4	3.2	
コバスTaqMan HBV	コバスAmpliPrep コバスTaqMan48	ND*	2.3	3.3
コバス6800/8800システムHBV	コバス8800システム	ND*	2.37	3.2
コバス6800/8800システムHBV	コバス6800システム		2.3	3.4
コバス6800/8800システムHBV	コバス6800システム	1.0M(-)	2.4(+)	3.3(+)
コバス6800/8800システムHBV	コバス6800システム		2.4	3.3

* : 検出せず

病院等において検体検査を行う場合の精度の確保に係る基準は改正後医療法施行規則³⁾に定められ、登録衛生検査所において検体検査を行う場合の精度の確保に係る基準は、改正された臨床検査技師等に関する法律施行規則²⁾に定められている。施行規則では外部精度管理調査の体制が整っているものは受検に努め〔病院等〕、体制が整っていないものは他施設と連携してそれぞれ保管・保有する検体を用いて相互に検査結果を比較して、検査・測定方法の妥当性を確認するなどの方法により、精度の確保に努める〔病院等・衛生検査所〕こととされている。西野らが都内衛生検査所に行ったアンケート結果⁵⁾によると、79施設中35施設

(44.3%)が病原体核酸検査を受託し、自施設で検査を実施(他施設に一部委託を含む)している21施設中20施設が外部の機関による精度管理を実施していた。

外部精度管理調査実施において、試料の作製は重要な位置を占めている。特に、病原体核酸検査ではある程度の定量性と安定性が求められる。今回の試行では、試料作製の標準品として、市販のAcroMetrix™ HBVを使用した。細菌の精度管理と比べてコストがかかり、病原体によっては的確な標準品が市販されていない場合もあり、外部精度管理調査の本格実施に向けてはまだまだ課題が山積する。

また、検査項目が同じでも、施設ごとに使用している測定試薬や測定機器が異なり、それぞれに適合するような標準物質の入手や反応阻害を起こさない希釈液の選択など、試料作製法にも課題が残る。

昨今の新型コロナウイルス感染症の発生状況を受け、臨時的に衛生検査所の登録基準が緩和され、新型コロナウイルス感染症の病原体核酸検査のみを行うことに限った衛生検査所を開設できるようになった⁶⁾。検査体制を迅速に確保することを目的としているため、内部精度管理の実施は努力義務であり、外部精度管理調査の受検は不要とされている。実際、新型コロナウイルス感染症は、新規の感染症であり、検査法・検査試薬も多岐にわたることから、外部精度管理調査を行える状況にたどり着けていないのが現状である。しかし、現在の感染状況が続けば、外部精度管理調査の実施が必要になると考えられる。新型コロナウイルス感染症の検査に限らず、感染症の検査は高い精度が求められており、外部精度管理調査を実施し、検査精度の信頼性を確保していくことが必要である。

ま と め

東京都衛生検査所精度管理事業において、HBVの病原体核酸検査の外部精度管理を試験的に実施した。参加した施設の結果は、良好であった。標準物質の選定や試料の調製方法などに課題があるが、信頼性確保のため、病原体核酸検査の外部精度管理調査を継続して実施していく必要がある。

文 献

- 1) 厚生労働省医政局長：医政発0810第1号，医療法等の一部を改正する法律の一部の施行に伴う厚生労働省関係省令の整備に関する省令の施行について（通知），平成30年8月10日。
- 2) 臨床検査技師等に関する法律施行規則，昭和33年7月21日厚労省令第24号，平成30年7月27日改正。
- 3) 医療法施行規則，昭和23年厚労省令第50号，平成30年7月27日改正。
- 4) 東京都福祉保健局医療政策部：令和元年度第38回東京都衛生検査所精度管理事業報告書。
- 5) 西野由香里，草野友子，森内理江，他：東京健安研七 年報，70，225-231，2019。

- 6) 厚生労働省医政局長：医政発0305第1号，新型コロナウイルス感染症に係る病原体核酸検査のみを行うために衛生検査所を臨時的に開設する場合の取扱いについて（通知），令和2年3月5日。

**The Results of the External Quality Assessment of Pathogen Nucleic Acid Test for the Registered Clinical Laboratories
in Tokyo (April 2019 - March 2020)**

Mami NAGASHIMA ^a, Mamiyo KAWAKAMI ^a, Ryota KUMAGAI ^a, Hiroyuki ASAKURA ^a, Miyuki NAGANO ^a,
Yurie KITAMURA ^a, Emiko KAKU ^a, Yu YAOITA ^a, Michiya HASEGAWA ^a, Mayuko ODA ^a, Megumi ICHIKAWA ^a,
Takashi CHIBA ^a, Hiroyuki KONISHI ^a, Kenji SADAMASU ^a and Yoshikazu ISHII ^b

Since the results of clinical tests affect the diagnosis and decision of treatment policy, highly accurate tests are required, and it is essential to secure the reliability of the test accuracy. In December 2018, a law that partially amended the Medical Law, etc. came into effect, and the standards for quality control at hygiene laboratories were clarified. In the quality control survey of the first year of Reiwa, a pathogen nucleic acid test of Hepatitis B virus (HBV) in Tokyo was carried out on a trial basis. Samples were prepared by diluting a commercially available HBV gene control with EDTA plasma. Good results were obtained at both the quality control survey participating seven facilities and the reference facility. Since nucleic acid testing methods for new infectious diseases such as COVID-19 have been developed and implemented, it is necessary to continue the external quality control survey of pathogen nucleic acid tests.

Keywords: quality control survey, clinical test, clinical laboratory, Hepatitis B virus (HBV), Pathogen nucleic acid test

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan
^b Toho University
5-21-16, Oomorinishi, Oota-ku, Tokyo 143-8540, Japan