

遺伝子検出法のバリデーシヨンの進捗について

1. 経緯

平成 22 年 3 月 23 日に開催された前回検討会において、遺伝子検出法及び粉体ろ過法が検査法として妥当か検証するため、複数の協力機関において試料の検査を実施し、その結果を本検討会で評価していくことが適当とされた。

これを受けて、本検討会に参加する委員が所属する機関及びその他の機関に協力を依頼して、河川水を用いて遺伝子検出法及び粉体ろ過法に関する検査を実施しバリデーシヨン結果の検証作業を進めてきた。

具体的には、泉山委員から協力頂いた機関に対して、泉山委員から標準試料、試薬、機材等の送付をしたうえで、前回検討会資料 2-2（遺伝子検出法の概要及び手順）、資料 2-3（遺伝子検出法のバリデーシヨンの進め方について）、資料 3-2（粉体ろ過法の概要及び手順）及び資料 3-3（粉体ろ過法のバリデーシヨンの進め方について）に基づき、各機関に検査を依頼実施し、検査結果及び精度、感度や再現性等に関する評価書を作成頂いた。

各種検査法の検証には多くの機関の意見を取り入れることが望ましいことから、遺伝子検出法に関する各機関の検証結果を示す。

なお、粉体ろ過法のバリデーシヨンについては、現在分析機関において検査中のため、評価書が作成され次第、今後開催する検討会に提出したい。

2. バリデーシヨンの進捗

バリデーシヨンについて、協力頂いた機関において、検量線あるいは感度の確認作業から開始し、試験環境の整備を図るとともに、添加回収試験、あるいは河川等実試料からの検査を行い、顕微鏡検出法と遺伝子検出法の比較を行っている。

これまでに得られた結果を下記一覧表にまとめた。協力機関においてはクリプトスポリジウムだけでなくジアルジアの検証もあわせて行ったが、LAMP 法あるいは RT-PCR 法のいずれかを主とすることで作業負担を抑えながら、可能な範囲で協力を得た。

ただし、ジアルジアの添加回収試験に使用したシストの活性があまり良い状態ではなかったことから、一部は参考結果にとどまった。

協力機関のバリデーション進捗一覧表

協力機関	LAMP 法		RT-PCR 法	
	クリプトスポリジウム	ジアルジア	クリプトスポリジウム	ジアルジア
東京都健康安全研究センター	3*	3	3, 4	3, 4
神奈川県内広域水道企業団	1, 3	1, 3	3, 4	3, 4
財団法人岐阜県公衆衛生検査センター	2	2	—	—
株式会社環境科学研究所	1, 2	1, 2	1, 2	1, 2
国立保健医療科学院	1, 3	1	1, 3	1
愛媛県立衛生環境研究所	—	—	1, 2	1, 2
神奈川県衛生研究所	—	—	1, 2	—
東京都水道局	—	—	1, 2	1

*注

- 1：感度試験を実施して、高感度な検出が可能であるか確認した
- 2：添加回収実験を行ない、所定の検出が可能であるか確認した
- 3：河川等実試料より検出を行い、顕微鏡法と比較した
- 4：RT-PCR 産物の塩基配列を決定した
- ：未実施