

認のため当所から発送したディスクについても菌数が半減していたが CV%はほとんど変化が認められなかった。

2. 試行調査

1) 協力機関

a. 民間検査機関

9月4日、協力機関を対象に説明会を行った。参加者は9機関、16人に対し、当研究班の説明、精度管理の現状や必要性、今回実施する精度管理の概要、結果報告は匿名にて行うこと等の説明を行った。この結果7機関の協力が得られたため、さらにこの7機関の代表者から書面にて試料の使用目的、所在地、実験設備、付帯条件について回答を求めた。

b. 関東甲信静ブロック地研

各地研の所長及びレジオネラ専門家リストの担当者あて、20地研を対象に協力依頼をメールにて送った。その結果15地研の協力が得られることとなった。

c. 研究班

研究班からは8地研の協力が得られることとなった。

2) 試料の発送

精度管理試料は、「ゆうパックチルド」で各参加地研に発送した。到着は翌日(1日)が27機関、残り3機関は2日で到着した。

3) 各機関における試料測定

参加機関30機関の検査結果を取りまとめ、表2に示した。なお、機関によっては複数の検査法による回答があったが(n=53)、そのまま表中に記載した。

全体の回収率をみると、試料1は検水中に 10^3 CFU/mlの菌数を加えているが、各検査機関における回収率は(未処理は除く)0%から75.0%と著しい差が認めら

れた。また、試料2は検水中に 10^4 CFU/mlと試料1より1桁大きな菌数を加えているが、こちらも回収率は0%から58.1%と著しい差が認められた。

これらの集計は、HPA (Health Protection Agency) に準じて回答のあった検水測定菌数のうち未処理を除いて集計し(n=44)、中央値、「良好範囲」(機関の6%から94%の範囲)を示した。(図2) また、今回処理法により測定菌数に大きな差が認められたため、濃縮法、熱・酸処理法別に測定菌数を集計した図もあわせて示した(図3、図4)。良好範囲外となったものは、試料1が15(11機関)、試料2が8(5機関)であった。

4) 検査工程別回収率

濃縮法、未処理、酸、加熱処理といった検査工程別回収率を表3に示した。回収率は、全体としては遠心法とろ過法は同程度であり、酸・加熱処理を行うことで回収率は低下し、バラツキが拡大した。処理を行った場合、加熱処理より酸処理の方が2.3~10倍と明らかに高い回収率を示した。

5) 各機関における試料測定結果の解析と報告

各精度管理協力機関から送付された回答を集計し、報告書(別添3)を作成した。これを地研所長及び民間検査機関担当者にメールにて報告した。

D. 考察

1. 配付ディスク

1) 配付した試料の菌数

今回作製した試料用ディスクの CV% (n=10) は、試料1が19.6%、試料2が16.3%であった。

これは、イギリス HPA においては使

用されている精度管理用 LENTICULE ディスクの CV%が 25%以内であればレジオネラの精度管理試料として使用できると定めていることから、今回作製した試料用ディスクについては、実用性において問題のない範囲内であると考えられた。

2) 配付後のディスク菌数

各機関で測定した試料 1、2 のディスクの菌数に相関が認められたことは、発送から測定結果を得るまでの工程で何らかの影響を受けた可能性があると考えられるが、詳細な検査方法（別添 2）の記載からは輸送期間、試料到着後の保存温度、検査開始までの日数といった条件において差異が認められず、原因は不明であった。また、各機関へ試料発送と同時に当所あて送付した試料の菌数も、オーダー単位ではないものの低下していることから、輸送により何らかの影響を受けたものと考えられた。なお、各機関の培養等検査工程による影響については確認することはできなかった。

2. 試行調査

1) 協力機関

a. 民間検査機関

今回初めて民間検査機関に対して精度管理への参加協力を求めたが、当所から民間検査機関へレジオネラ属菌を発送することは精度管理検体であっても当所で定めている微生物環境安全管理要領に抵触することがわかった。このため P2 設備の設置確認を書面で求めた。このため、P2 施設を持たない機関では協力希望があるにもかかわらず、今回は参加していただけなかった。

b. 関東甲信静ブロック地研

ブロック内 21 機関に協力依頼を送っ

たところ、15 機関（70%）の参加が得られた。なお、その中からは「行政処分や訴訟等を伴う事例もあるので、地方衛生研究所における精度管理の必要性を強く感じます。」との意見があった。

2) 試料の発送

ゆうパック事業が 21 年 10 月に廃止されるとのことであったので、取り急ぎ 9 月に精度管理試料を発送した。

現在、精度管理の発送はゆうパックに依存しているが、今後菌株はチルドで発送できなくなるとの情報もあり、精度管理を実施していく上では、改めて適切な輸送法の確保が不可欠と考えられた。

3) 各機関における試料測定結果

今回の検査結果は、回収率を見ると、0%から 75.0%（試料 1）と 58.1%（試料 2）となり、著しい差異が認められた。レジオネラ属菌の検査方法は、濃縮法や、酸・加熱処理法など検査条件が機関ごとに異なり評価が複雑になるため、HPA に準じ全て回答を集計した。中央値と 6%から 94%の範囲の「良好範囲」として示した。良好範囲外の回収率は、試料 1 が 15（12 機関）、試料 2 が 8（6 機関）となりかなりの割合を占める結果となった。20 年度にろ過法と酸処理法を採用した機関の回収率の平均を見ると、試料 1 で 69.9%（n=10）、試料 2 で 67.0%（n=10）であった。比較すると、今回「良好範囲」の高い回収率の側を見ると、試料 1 では回収率 52.9%以上、試料 2 でも回収率 48.6%以上のものが外れることとなり、結果として今回のように全体的に低い回収率となった場合であっても「良好範囲」と評価されてしまうことから、年度ごとに回収率のバラツキが変化するような状況でこの集計方法をそのまま採用してよいも

のか、再考が必要と考えられた。

次に、試行経験回数による影響を見るため、この精度管理システムの経験機関と初回参加機関の回収率を比較したが、昨年度は影響が認められたものの、今回は差異が認められなかった。

また、各機関で行っている詳細な検査方法等の条件について回収率への影響も考えられたので、調査票への記載を求めたが、試料の輸送日数、保存期間、保存温度などの条件による回収率への影響は認められなかった。

ただしその中で、0.2 μ m フィルターを使用し酸処理を行った場合回収率の比較では、試料 1 についてはポリカーボネート製が 38.6% (n=5)、ニトロセルロース製が 8.9% (n=8)、また試料 2 についてはポリカーボネート製が 39.3% (n=5)、ニトロセルロース製が 14.0% (n=8) と、ポリカーボネート製が良好という結果が認められた。

4) 検査工程別回収率

今回の結果では、酸処理法に比べ、加熱処理を行うことによる低下が著しかった。

HPA では、ディスクから作製した検水は、酸処理に比較して熱処理の回収率が低下すること報告し検討が必要と考えられている。今後、加熱処理は、別に集計するなど方法を検討するとともに、あわせて、ディスク法に代わる新たな標準試料作製や疑似検体作製の検討など、両方からアプローチしていく必要がある。

E. 結論

今年度は、民間検査機関を含めた 30 機関にディスク法で作製した濃度の異なる 2 種類の試料を配付することにより試行を行った。今回は、精度管理参加者への

依頼から試料の作製、発送及び集計までの一連の作業を行ったので、これにより精度管理に必要な全体の体制を整えての試行となった。

各機関による回収率を見ると、昨年と比較して低い値を示した。濃縮法間では大きな差は認められなかったが、加熱法が低値を示した。

低値を示した要因としては、HPA の報告によれば試料の作製方法にディスク法を採用したことが原因のひとつと考えられるが、これが原因であるならば、今後、ディスク法の見直しが必要と考えられる。

今回の調査では、HPA の評価方法に基づいて各機関の回収率を中央値と良好範囲によって評価したが、現時点では参加機関数が少ない実情の中で (HPA は 200 前後の機関が参加)、国内における測定結果の評価方法として妥当であるか、引き続き検討が必要と考えられる。

F. 研究発表

渡辺祐子, 佐々木美江, 磯部順子, 杉山寛治, 田栗利紹, 緒方喜久代, 倉文明: レジオネラの外部精度管理に関する基礎的検討. 21 年度 地研協議会関東甲信静支部細菌研究部会第 22 回総会・研究会 (前橋), 2010 年 2 月 5 日.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 配付試料の菌数

試料番号	発送前		発送後*		参考値**	
	菌数 (n=10)	CV%	菌数 (n=30)	CV%	菌数 (n=5)	CV%
試料1	5.29×10^3	19.6	2.64×10^3	75.5	2.99×10^3	28.5
試料2	5.41×10^4	16.3	2.14×10^4	67.5	2.57×10^4	15.1

*: 参加機関の集計 **: -4 0°C20 日後測定値

図1 試料1、2の菌数相関図

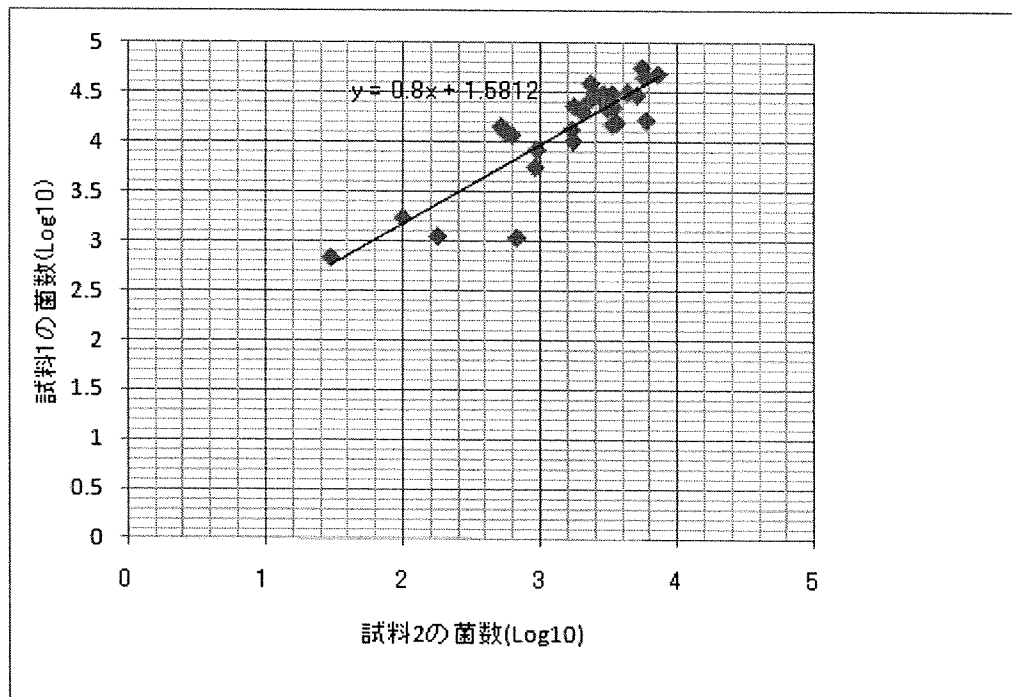


表2 試料1、2の菌数測定結果

*: 計算方法 例 500mlの希釈PBSに⑤ゼラチン・ディスク溶解時の菌液1mlを添加して検水を作製した場合の計算式 ⑤/5

機関番号	濃縮法	処理法	培地	試料1				試料2			
				⑤ゼラチン・ディスク溶解時の菌数 CFU/ml	⑥作製検水の菌数 CFU/100 ml *	⑦検水の菌数 CFU/100 ml	回収率 ⑦/⑥×100	⑤ゼラチン・ディスク溶解時の菌数 CFU/ml	⑧作製検水の菌数 CFU/100 ml *	⑦検水の菌数 CFU/100 ml	回収率 ⑦/⑧×100
1	ろ過	酸	WYO	7300	1460	280	19.2	49000	9800	2800	28.6
2	ろ過	酸	WYO	3100	620	10	1.6	29000	5800	170	2.9
3	ろ過	熱	WYO	950	190	0	0.0	8400	1680	110	6.5
4	ろ過	酸	WYO	680	136	0	0.0	1070	214	20	9.3
5	ろ過	熱	GVPC	100	20	15	75.0	1700	340	63	18.5
6	ろ過	酸	WYO	560	112	33	29.5	12600	2520	610	24.2
7	ろ過	酸	GVPC	30	6	0	0	670	134	20	14.9
7	ろ過	熱	GVPC	30	6	0	0	670	134	<10	0
8	ろ過	酸	GVPC	520	104	50	48	14400	2880	360	12.5
9	ろ過	酸	GVPC	2050	410	75	18.3	20136	4027	1302	32.3
9	ろ過	酸	WYO	2250	450	75	16.7	19454	3891	881	22.6
10	ろ過	熱	WYO	5150	1030	110	10.7	30000	6000	900	15
11	遠心	熱	MWY	4400	880	55	6.3	32000	6400	525	8.2
12	遠心	熱	WYO	3400	680	0	0	15125	3000	220	7.3
13	ろ過	酸	GVPC	5800	1160	25	2.2	45500	9100	915	10.1
14	遠心	酸	GVPC	1760	352	130	36.9	10250	2050	910	44.4
15	ろ過	酸	WYO	1780	360	0	0	23250	4650	120	2.58
16	ろ過	酸	WYO	2232	440	10	2.3	25000	5000	370	7.4
17	ろ過	酸	MWY	180	36	10	28	1100	220	47	21
18	遠心	熱	MWY	2550	520	0	0	30400	6080	500	8.3
19	ろ過	酸	WYO	1710	342	12	3.5	13400	2680	292	10.9
20	遠心	酸	GVPC	3470	694	280	40.3	22600	4520	1200	26.5
21	ろ過	熱	GVPC	2900	580	0	0	31000	6200	0	0
21	ろ過	未処理	GVPC	2900	580	45	7.8	31000	6200	690	11.1
21	ろ過	熱	GVPC	3700	740	0	0	22000	4400	0	0
22	ろ過	未処理	GVPC	2990	598	422	70.6	25700	2984	3277	63.8
22	ろ過	酸	GVPC	2990	598	186	31.1	25700	2984	2984	58.1
22	ろ過	熱	GVPC	2990	598	40	6.7	25700	2984	72	1.4
23	ろ過	熱	GVPC	6000	1200	85	7.1	16600	3320	505	15.2
23	ろ過	未処理	GVPC	6000	1200	590	49.2	16600	3320	2225	67
24	遠心	酸	GVPC	2300	460	20	4.35	17850	3570	240	6.72
24	ろ過	熱	GVPC	2300	460	0	0	17850	3570	0	0
24	ろ過	熱	MWY	3650	730	0	0	15800	3160	0	0
24	遠心	酸	MWY	3650	730	15	2.05	15800	3160	215	6.8
25	ろ過	未処理	GVPC	2350	470	330	70.2	39500	7900	4850	61.4
25	ろ過	酸	GVPC	2350	470	150	31.9	39500	7900	3090	39.1
25	ろ過	熱	GVPC	2350	470	100	21.3	39500	7900	2343	29.7
26	ろ過	酸	GVPC	5600	1120	10	0.89	57000	11400	340	2.98
26	ろ過	未処理	GVPC	5600	1120	30	2.67	57000	11400	315	2.76
27	ろ過	未処理	BCYE	3400	680	0	8.97	30900	6180	281	4.5
27	ろ過	未処理	MWY	2950	590	33	5.6	23200	4640	245	5.3
27	ろ過	酸	BCYE	3400	680	36	5.3	30900	6180	226	3.7
27	ろ過	酸	MWY	2950	590	20	3.4	23200	4640	177	3.8
27	ろ過	熱	BCYE	3400	680	1	0.1	30900	6180	15	0.2
27	ろ過	熱	MWY	2950	590	0	0	23200	4640	12	0.3
28	ろ過	酸	WYO GVF	925	185	9	48.6	5550	11100	88	79.3
29	ろ過	未処理	GVPC	627	125	114	90.3	11790	2358	2419	105
29	ろ過	酸	GVPC	627	125	60	47.8	11790	2358	1146	48.6
29	ろ過	熱	GVPC	627	125	0	0	11790	2358	0	0
29	遠心	未処理	GVPC	627	125	74	59.2	11790	2358	1050	44.5
29	遠心	酸	GVPC	627	125	28	22.4	11790	2358	464	19.7
29	遠心	熱	GVPC	627	125	2	1.6	11790	2358	38	1.6
30	ろ過	熱	GVPC	3100	620	5	0.8	22000	4400	45	1

図 2-1 試料1の検出菌数分布

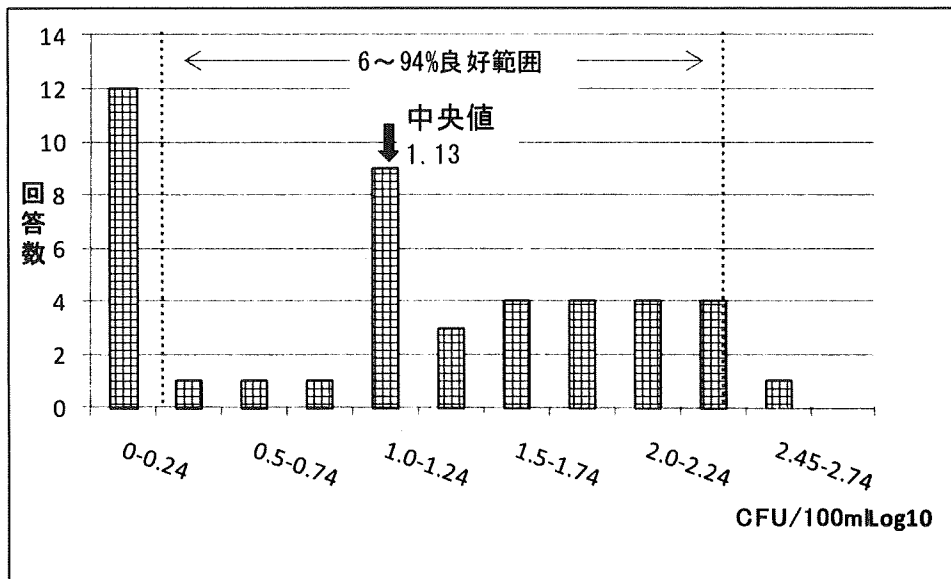


図 2-2 試料2の検出菌数分布

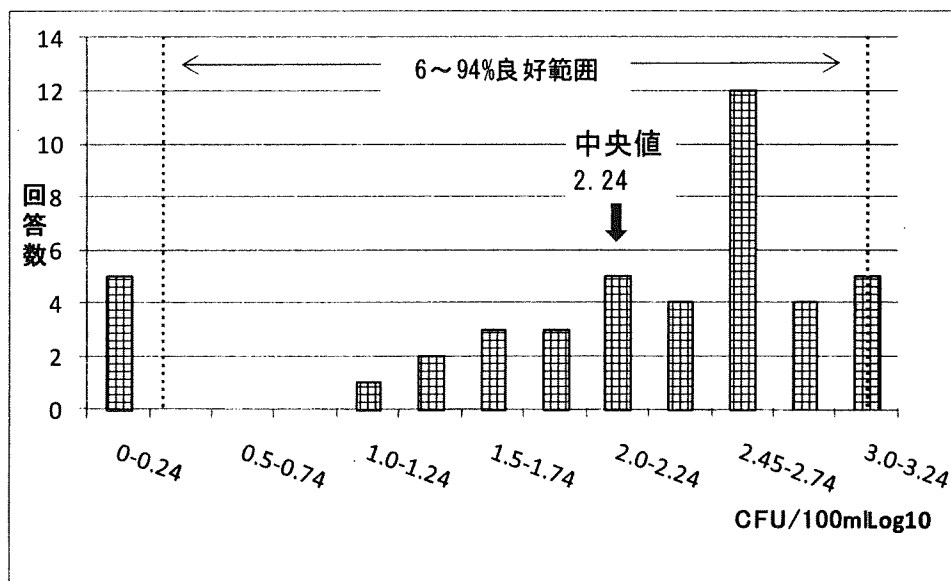


図 3-1 試料1に対する濃縮法による分布

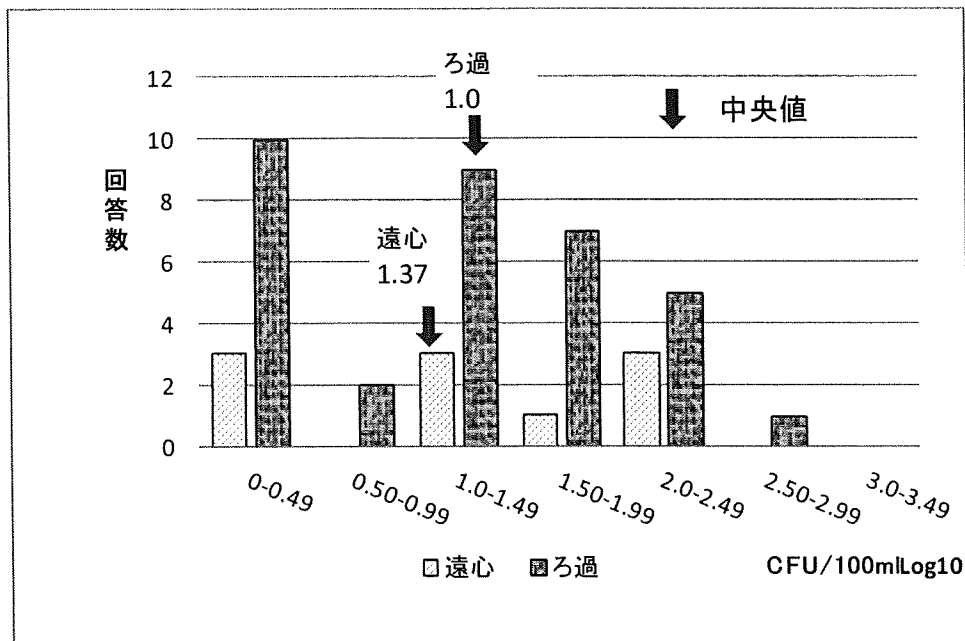


図 3-2 試料2に対する濃縮法による分布

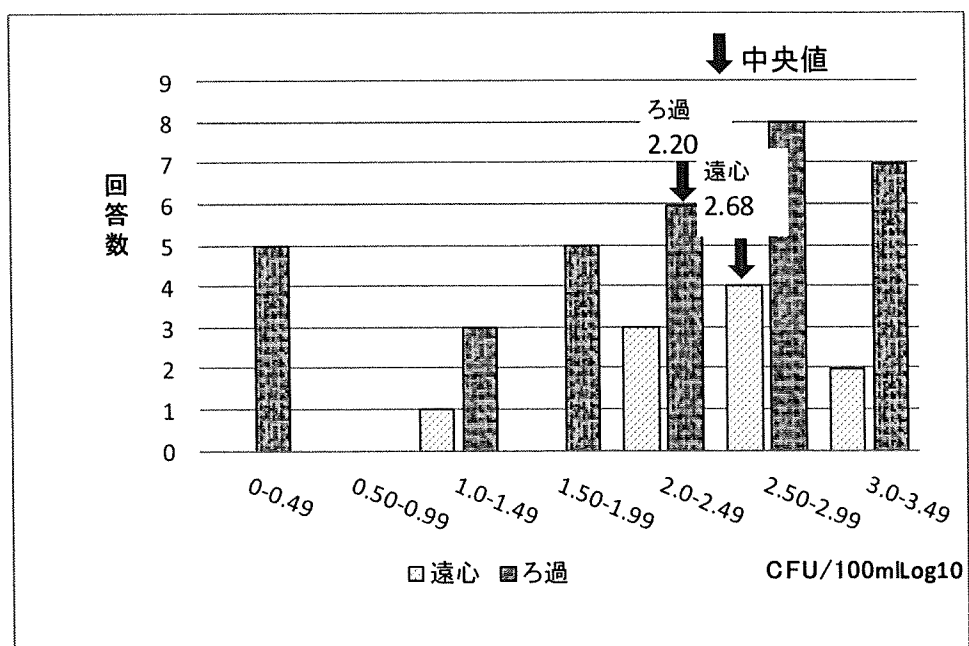


図 4-1 試料1に対する処理法による分布

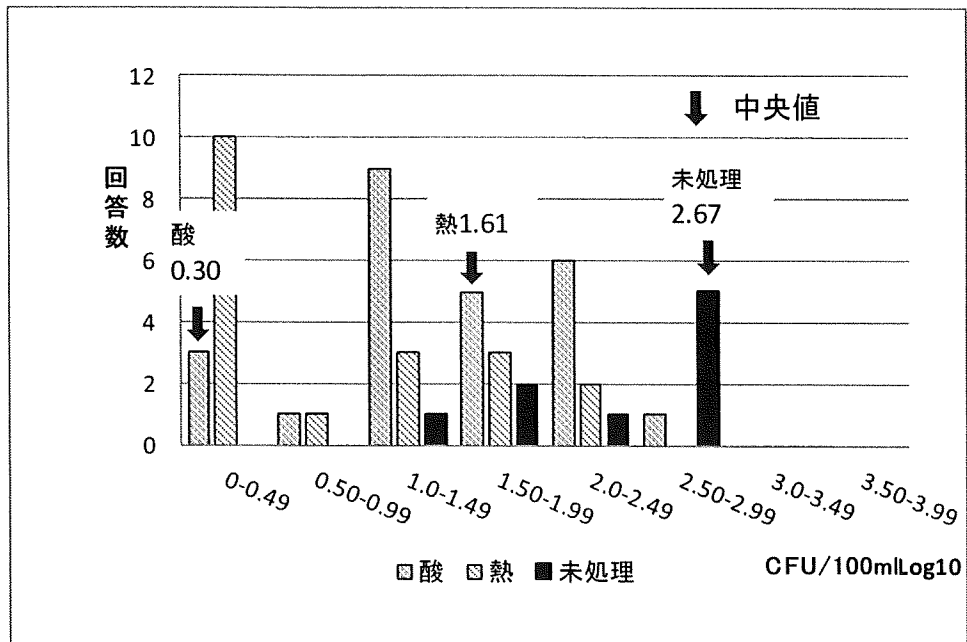


図 4-2 試料2に対する処理法による分布

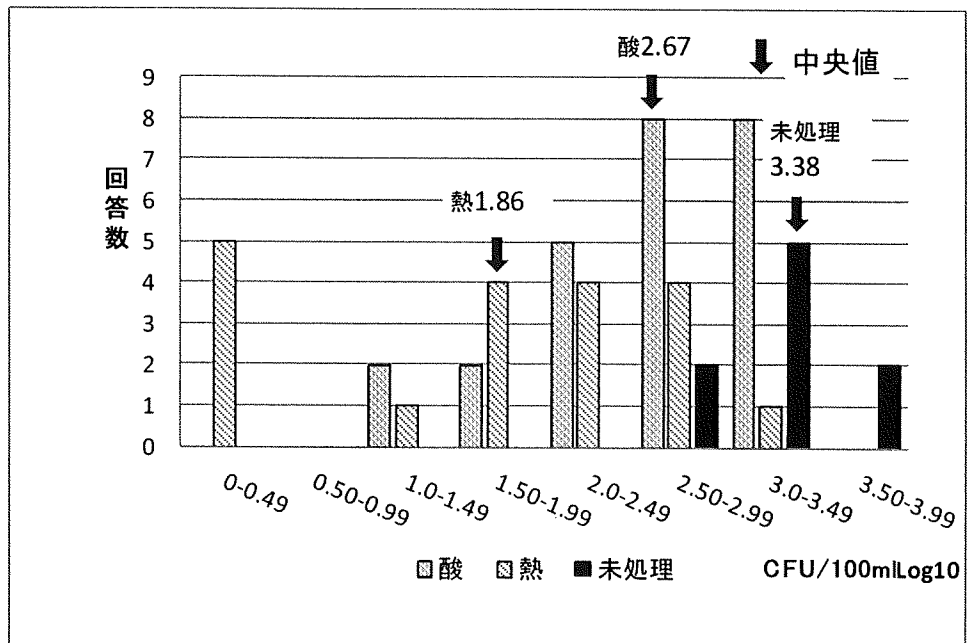


表 3 検査工程別回収率 (21 年度)

		未処理	酸処理	熱処理
遠心法	試料 1	59.2(n=1)	20.9(n=6)	2.0 (n=4)
	CV%		76.1	130.7
	試料 2	44.5(n=1)	19.7(n=6)	6.0 (n=4)
	CV%		72.5	43.6
ろ過法	試料 1	55.0 (n=8)	19.0(n=19)	8.0 (n=15)
	CV%	61.8	100.3	236.7
	試料 2	51.0(n=8)	21.0 (n=19)	6.9 (n=15)
	CV%	62.2	78.5	148.1

ディスクを用いたレジオネラ精度管理の菌数測定方法および回答方法

1 送付したもの

- セラムチューブ 2本 (試料 1、試料 2:ゼラチン・ディスク各 2枚、各 1枚は予備のため使用しません)

注意：到着後、すぐに菌数検査を行わない場合には、試料を凍結保存（できれば、 -35°C 以下）してください。

- PBS 試薬 (1袋)

2 方法

準備するもの

希釈 PBS 溶液：当所から送付した PBS 試薬の全量を蒸留水 1,000ml に溶解し、原液とする (保存の場合は滅菌)。蒸留水で 50 倍希釈し、滅菌後検水や希釈液に使用する。

検水用ボトル：希釈 PBS500ml 入り滅菌ボトル 2本。

培地：通常検査に使用しているレジオネラ属菌検査用培地。

その他貴所で菌数測定やレジオネラ属菌検査に使用している器材。

検査方法

- ① 滅菌試験管に希釈 PBS 溶液を 10ml 分注し、ふ卵器等でレジオネラの培養温度に保温しておく。
- ② 当所から送付したディスク各 1枚をピンセット等を使用して①の希釈 PBS 溶液に入れる。(試験管の壁に付くことがあるので希釈 PBS 溶液中に完全に入ったことを確認する。)
- ③ ふ卵器等でレジオネラの培養温度に 10 分程度保温し、ディスクを溶解させる。
- ④ ふ卵器から出して 10 秒程度ボルテックス等で、ディスクが完全に溶解するまで攪拌する。(ディスクが透明のため見にくいので完全に溶解していることを確認してください。)
- ⑤ 試料 1 は、その溶液を平板 2 枚に各 0.1ml 接種し、さらに 1 段階 (10^{-1})、試料 2 は 2 段階 ($10^{-1\sim 2}$) まで希釈を行い菌数を測定する。→菌数測定
- ⑥ 用意しておいた希釈 PBS 溶液 500ml 入りボトル 2 本にそれぞれ④のディスク溶解液を 1ml 接種し、よく攪拌したものを検水とする。(試料 1、2 各 1本の検水を作製)

⑦ 貴所で通常行っているレジオネラ検査の方法で検水の菌数を測定する→**菌数測定**

⑧ 回答用紙に⑤⑦の菌数測定結果を記入する。記入用紙の枠がありますが貴所での検査結果記載に合わない場合は修正してください。また検査方法やご意見等についても記入をお願いします。

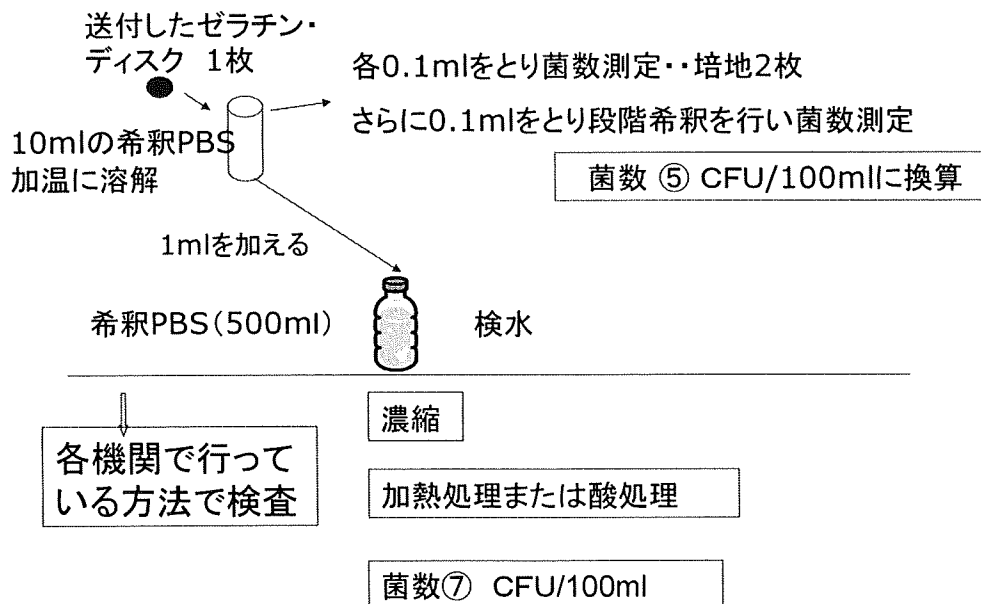
3 注意事項

- (1) ⑤⑦の菌数測定を行う際には、同じ種類の培地を使用してください。
- (2) ディスクは、溶解の際、均一に溶解するため必ず加温してください。
- (3) ディスク溶解後は、速やかに検査を行ってください。

4 検査結果の送付

検査結果はメールにて 10月30日(金)までに送付をお願いします。

菌数測定法



レジオネラ精度管理の菌数測定方法

1 送付したもの

セラムチューブ 2本 (試料1、試料2:ゼラチン・ディスク各2枚、各1枚は予備のため使用しません)

注意:到着後、すぐに菌数検査を行わない場合には、試料を凍結保存(できれば、 -35°C 以下)してください。

2 方法

準備するもの

- ・検水用ボトル:滅菌水500ml入り滅菌ボトル2本。
- ・菌液の希釈には、滅菌水を使用してください。
- ・培地:通常検査に使用しているレジオネラ属菌検査用培地。
- ・その他貴所で菌数測定やレジオネラ属菌検査に使用している器材。

検査方法

- ① 滅菌試験管2本に滅菌水各10ml分注し、ふ卵器等でレジオネラの培養温度に保温しておく。
- ② 当所から送付した試料1、2のディスク各1枚をピンセット等を使用して①の滅菌水に入れる。(試験管の壁に付くことがあるので滅菌水中に完全に浸ったことを確認する。)
- ③ ふ卵器等でレジオネラの培養温度に10分程度保温し、ディスクを溶解させる。
- ④ ふ卵器から出して10秒程度ボルテックス等で、ディスクが完全に溶解するまで攪拌する。(ディスクが透明のため見にくいので完全に溶解していることを確認してください。)
- ⑤ 試料1は、その溶液を平板2枚に各0.1ml接種し、さらに1段階(10^{-1})、試料2は2段階($10^{-1\sim 2}$)まで希釈を行い菌数を測定する。→**菌数測定**
(この菌数測定は可能であれば実施してください。)
- ⑥ 用意しておいた滅菌水500ml入りボトル2本にそれぞれ④のディスク溶解液を1ml接種し、よく攪拌したものを検水とする。(試料1、2各1本の検水を作製)
- ⑦ 貴所で通常行っているレジオネラ検査の方法で検水の菌数を測定する。→**菌数測定**

- ⑧ 回答用紙に⑦ (⑤) の菌数測定結果を記入する。記入用紙の枠がありますが貴所での検査結果記載に合わない場合は修正してください。また検査方法についても記入をおねがいします。

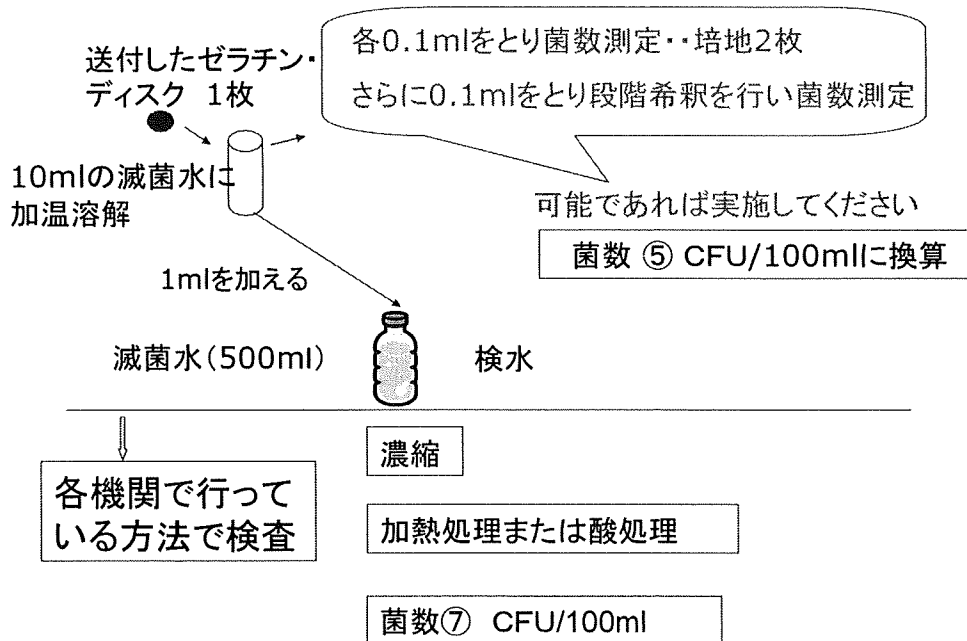
3 注意事項

- (1) ⑦ (⑤) の菌数測定を行う際には、同じ種類の培地を使用してください。
- (2) 検水量は 500ml 作製していただくよう記載してありますが、貴所で通常検査を行っている検水量を作製して検査を実施してください。
- (3) ディスクは、ゼラチンが入っているため、溶解の際に必ず加温してください。
- (4) ディスク溶解後は、速やかに検査を行ってください。
- (5) 精度管理用試料を発送した発泡スチロール箱、菌株輸送用容器は、同封したラベルを貼り、着払いで返送してください。

4 検査結果の送付

検査結果はメールあるいは郵送にて 10月30日(金)までに送付してください。

菌数測定法



菌数測定結果記入用紙（地研用）

検査機関名

○ 黄色欄以外は適宜拡大して記入してください。

濃縮法:

酸加臭処理法:

試料1

⑤ゼラチンディスク溶解時の菌数

希釈倍率	試料1	
原液		
10 ¹		
平均		
菌数 CFU/100ml		

⑦検水の菌数

希釈倍率	試料1	
平均		
菌数 CFU/100ml		

⑧作製検水の菌数

菌数 CFU /100ml	
回収率	
⑦/⑧×100	
	%

試料2

⑤ゼラチンディスク溶解時の菌数

希釈倍率	試料2	
10 ¹		
10 ²		
平均		
菌数 CFU/100ml		

⑦検水の菌数

希釈倍率	試料2	
平均		
菌数 CFU/100ml		

⑧作製検水の菌数

菌数 CFU /100ml	
回収率	
⑦/⑧×100	
	%

○ 備考

菌数測定結果記入用紙（民間検査機関用）

検査機関名 _____

○ 黄色欄以外は適宜修正して記入してください。

濃縮法: _____

酸加熱処理法: _____

試料1

⑤ゼラチンディスク溶解時の菌数

希釈倍率	試料1	
原液		
10 ¹		
平均		
菌数 CFU/100ml		

⑦検水の菌数

希釈倍率	試料1	
平均		
菌数 CFU/100ml		

試料2

⑤ゼラチンディスク溶解時の菌数

希釈倍率	試料2	
10 ¹		
10 ²		
平均		
菌数 CFU/100ml		

⑦検水の菌数

希釈倍率	試料2	
平均		
菌数 CFU/100ml		

○ 備考

菌数測定方法記入票

検査方法等について	回答(例)	回答
1: 検査機関名	神奈川県衛生研究所	
2: 担当者名	渡辺祐子	
3: メールアドレス		
4: ディスクの到着日時	2009/2/15	
5: 検査開始までの保存方法	冷凍庫保存(-40℃)	
6: 検査日	2009/2/25	
7: 検水量(ml)	500ml	
8: 検水作製容器材質	ガラス	
9: 濃縮法 a:ろ過法 b:冷却遠心法	a	
a:ろ過法		
素材 1. ポリカーボネート 2. ニトロセルロース 3. その他()	1	
ポアサイズ 1. 0.2 μm 2. 0.4 μm 3. その他(μm)	1	
ホルダーの材質	ガラス	
b: 冷却遠心法		
回転数	6000rpm 4000g	rpm g
遠心時間	20分	分
上清の除去方法 1. デカンテーション 2. ピペッティング 3. その他()	1	
C: 回収方法を具体的に記載してください	遠心後希釈PBS5mlを加えピペッティング5回後デカンテーション	
10: 濃縮倍率	100倍	倍
再浮遊量	5mL	mL
11: 雑菌処理法 a:加熱処理 b:酸処理 c:加熱、酸処理併用 d:その他	c	
a: 加熱処理		
加熱時間	分	分
加熱温度	℃	℃
b: 酸処理		
酸処理時間	分	分
酸処理液 自家製 市販品(メーカー)	日生研	
c: 加熱後酸処理		
加熱処理温度	50℃	℃
加熱処理時間	20分	分
酸処理時間	4分	分
d: その他の処理方法		
12: 使用培地		
培地名	WYO	
培地メーカー	栄研化学	
13: 特記事項、ご意見等(裏面もご利用ください)		

別添 3

平成 22 年 2 月 26 日

衛生研究所長 殿
レジオネラ検査担当者 殿

厚生労働科学研究費補助金
健康安全・危機管理対策総合研究事業
「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係
る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」
研究代表者 国立感染症研究所
細菌第一部 倉 文明

レジオネラ属菌外部精度管理試行の結果について

初春の候、皆様方におかれましては、ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。
日ごろから精度管理試行に御協力いただきありがとうございます。また、外部精度管理の試行への参加をはじめ、質問メール等に対して御丁寧なお答えをいただき、心から感謝しております。
皆様からお送りいただいた検査結果を集計いたしました。これらの結果を基に今後とも外部精度管理システムの構築に向けて検討を重ねていきたいと考えておりますので、引き続き御協力をお願いいたします。
つきましては、今後の外部精度管理の構築の資料にさせていただきたいと思っておりますので、御提案や御助言等がございましたら、お忙しいところ恐縮ですが下記へ御連絡いただきますよう、お願いいたします。

問い合わせ、連絡先
神奈川県衛生研究所 微生物部
渡辺祐子
電話 0467-83-4400 内 7017
watanabe.nfa0@pref.kanagawa.jp

【1】 参加機関

ディスク配付機関 30カ所 (民間検査機関7カ所、衛生研究所23カ所)
 回答機関 30カ所 (回答率100%)
 回答数 53 (複数回を含む)

【2】 配付ディスク菌数

「発送前」菌数は、精度管理試料として発送する前に感染研(感染研へは「ゆうパック」チルドで輸送)と神奈川衛研で測定を行いました。「発送後」菌数は、各機関でディスクを溶解後測定した結果を集計しました。「参考値」は、各機関への発送と同時にゆうパックで神奈川衛研宛発送し、到着日時を2日後に指定し、到着後-40℃に20日間保存後菌数測定をしました。

「発送後」は、「発送前」と比較して40~50%程度菌数が減少し、ばらつきが認められました。

配付ディスク菌数 CFU/ml

試料番号	発送前		発送後*		参考値**	
	菌数(n=10)	CV%	菌数(n=30)	CV%	菌数(n=5)	CV%
試料1	5.29 × 10 ³	19.6	2.64 × 10 ³	75.5	2.99 × 10 ³	28.5
試料2	5.41 × 10 ⁴	16.3	2.14 × 10 ⁴	67.5	2.57 × 10 ⁴	15.1

* : 参加機関の集計 ** : -40℃20日後測定値

【3】 作製検水からのレジオネラ検出数と回収率

各機関で作製した検水からの検出数と回収率のうち濃縮後未処理の菌数と回収率を除いた結果です。(n=44)

作製検水からのレジオネラ検出数と回収率

	試料1		試料2	
	菌数CFU/100ml	回収率(%)	菌数CFU/100ml	回収率(%)
平均値	55.9	13.8	609.2	14.6
中央値	13.5	3.9	266.0	8.8
範囲	0~360	0~75	0~3090	0~58.1

【4】 検査工程による回収率(%)の違い

検査工程のステップごとに回収率を見ると、全体としては遠心法とろ過法は同程度であり、酸・加熱処理を行うことで回収率は低下し、ばらつきが大きくなっています。また、処理を行った場合は加熱処理より酸処理の方が明らかに回収率が高くなりました。しかし、ディスクから作製した検水は、酸処理に比較して熱処理の回収率が低下することが HPA (Health Protection Agency) から報告されていること、また、今回作製していただいた検水での検査は雑菌の

影響を受けないことから、今回の結果を直ちに実際の検体に適用することはできません。酸処理法と熱処理法のどちらを採用するかは、試料の種類や雑菌の汚染状況等により異なります。そのため、今回の精度管理調査で熱処理法を実施して回収率が悪かったことのみを理由に処理方法を変更することは避けてください。今回の結果は、採用している検査法での回収率を向上させるための基礎データとして考えてください。

濃縮法、処理法ごとの回収率

濃縮法		未処理(%)	酸処理(%)	熱処理(%)
遠心法	試料 1	59.2(n=1)	20.9(n=6)	2.0 (n=4)
	CV%		76.1	130.7
	試料 2	44.5(n=1)	19.7(n=6)	6.0 (n=4)
	CV%		72.5	43.6
ろ過法	試料 1	55.0 (n=8)	19.0(n=19)	3.0 (n=14)
	CV%	61.8	100.3	180.8
	試料 2	51.0(n=8)	21.0 (n=19)	6.9 (n=15)
	CV%	62.2	78.5	148.1

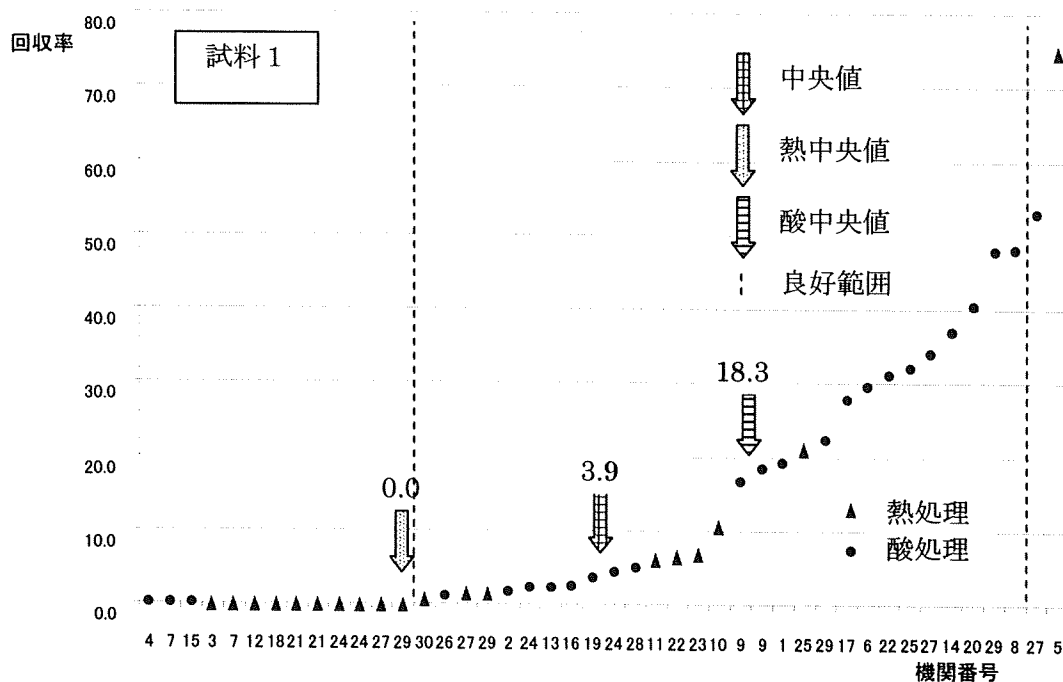
【5】 回収率の分布

今回の検査結果の集計は、レジオネラ属菌の濃縮法や、酸・加熱処理法など検査条件が機関ごとに異なり評価が複雑になるため、回答のあった測定値をすべて集計し、HPA に準じて中央値、機関の測定値の 6% から 94% の範囲を「良好範囲」として示しました。

濃縮後未処理の回収率を除いた試料 1、2 の回収率を低い順に示すとともに、今回処理法により回収率に大きな差が認められたため、全体の中央値以外に熱・酸処理法別の中央値もあわせて示しました。

回答数は、複数の処理法を実施した機関があるため n=44 となりました。良好範囲外は、試料 1 が 15 (11 機関)、試料 2 が 8 (5 機関) でした。

試料 1 の回収率の分布



試料 2 の回収率の分布

