

表 2. エアサンプラー調査した冷却塔の冷却水中のレジオネラ属菌数

冷却塔	冷却塔の運転状態		保有水量(m ³)	レジオネラ属菌	
	ファン	水の循環		培養法 (CFU/100 mL)	定量 PCR (copies/100 mL)
CT-A	運転	運転	20	1.2×10^5	6.2×10^4
CT-B	停止	運転	20	1.0×10^4	2.7×10^6
CT-C	運転	運転	8	4.6×10^3	1.6×10^5
CT-D	停止	運転	18	<10	5.7



図 1. サイクロン式エアサンプラー（コリオリスμ）の外観

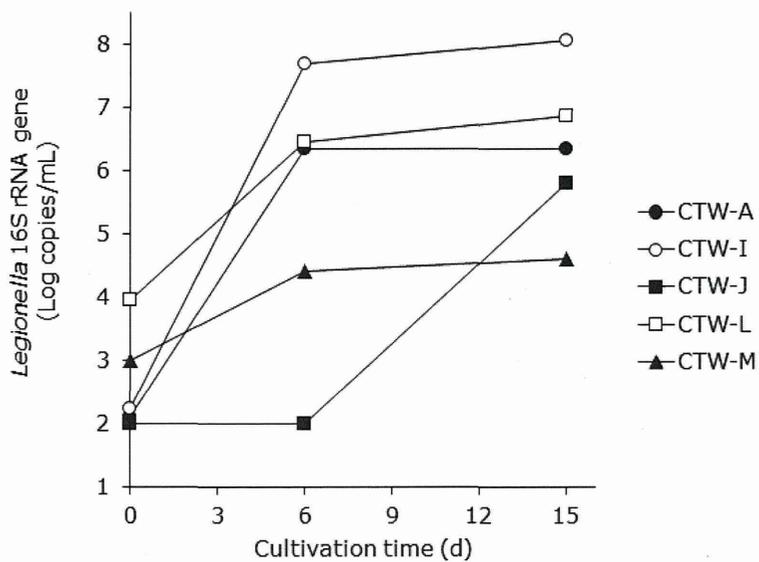


図 2. アメーバ共培養によるレジオネラ属菌遺伝子量の経時変化

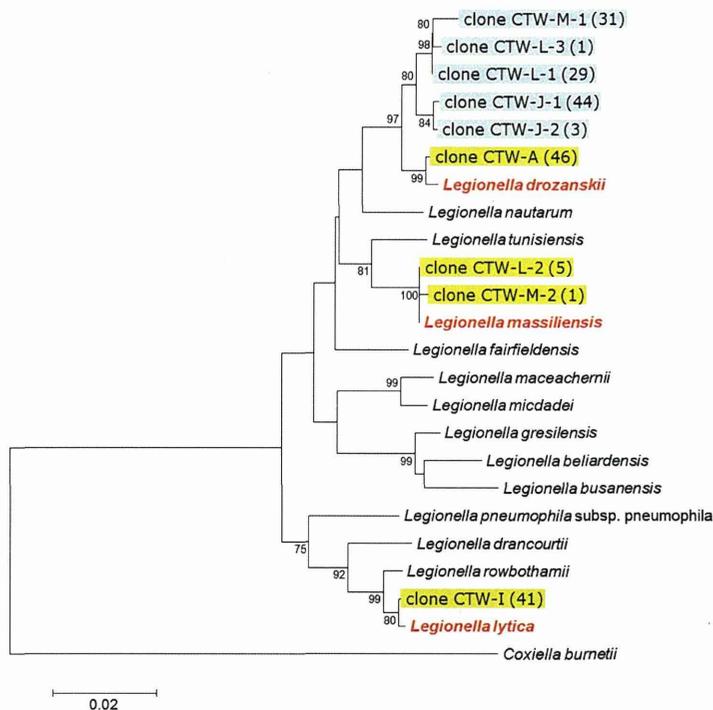


図3. 出した代表クローンと関連するレジオネラ属菌の16S rRNA 遺伝子部分配列 (616 bp) の分子系統樹 (NJ 法)

節部分の数値はブートストラップ値で70%以上のものを記載した。括弧内の数値は得られたクローン数を示す。

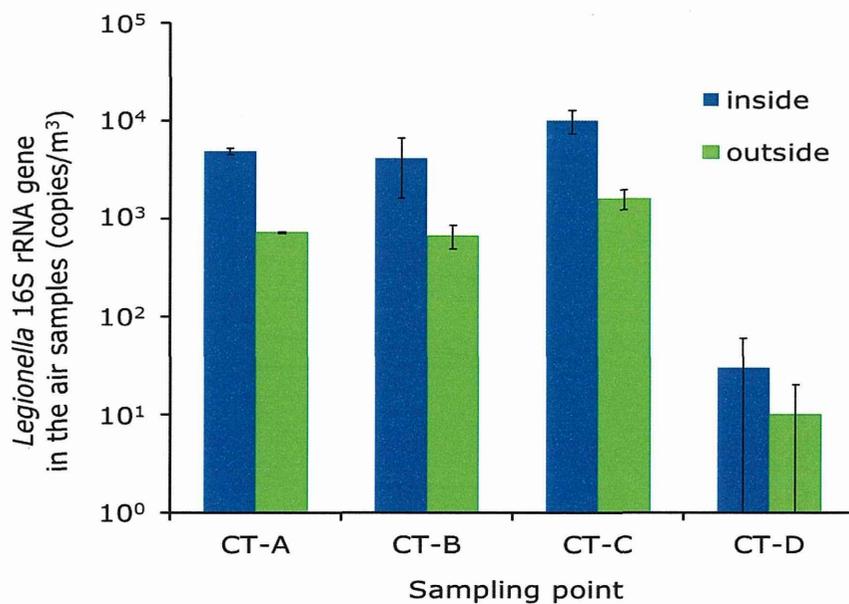


図4. 冷却塔の内部と外部の空气中レジオネラ属菌遺伝子

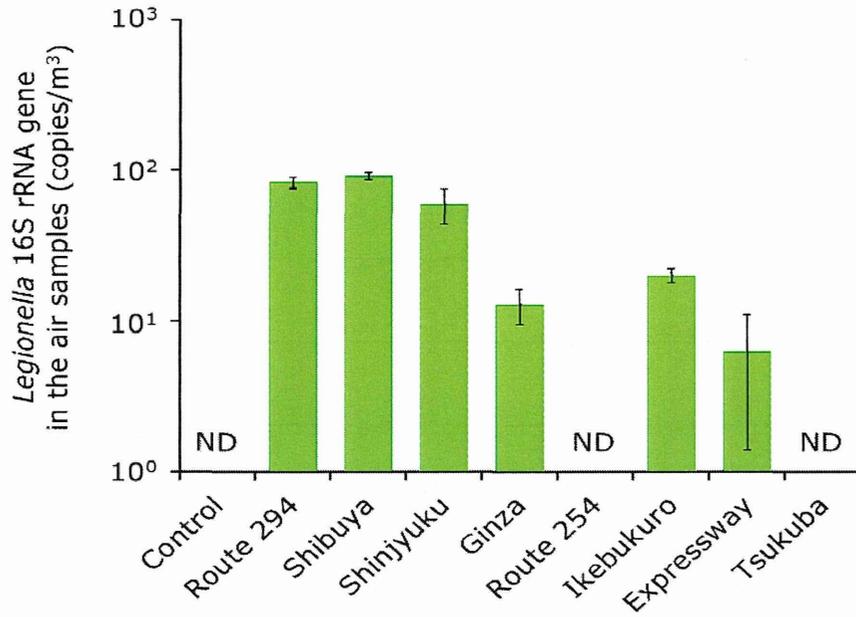


図5. 市街地の空气中的レジオネラ属菌遺伝子 (NDは不検出)

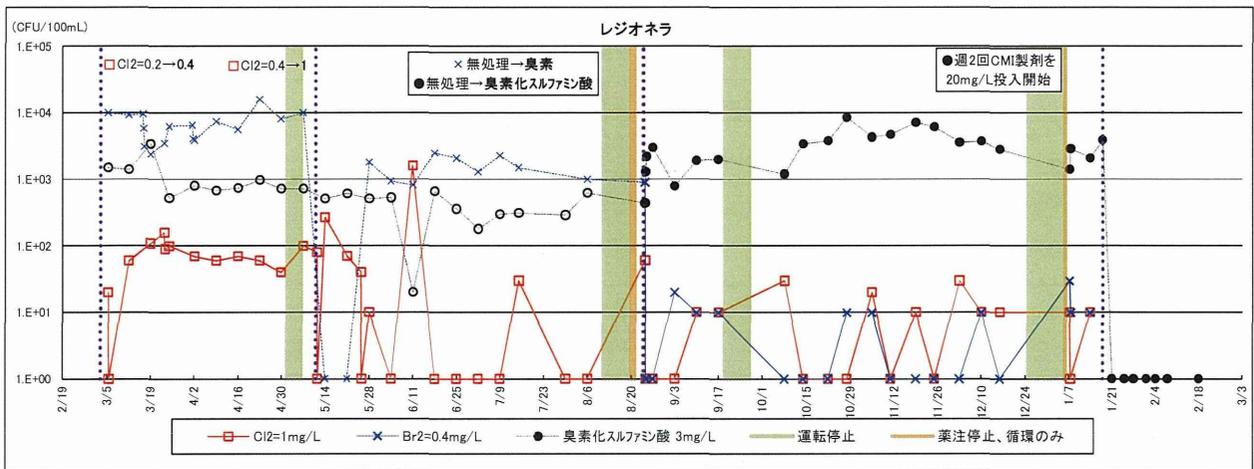


図6. モデル冷却水のレジオネラ属菌の推移

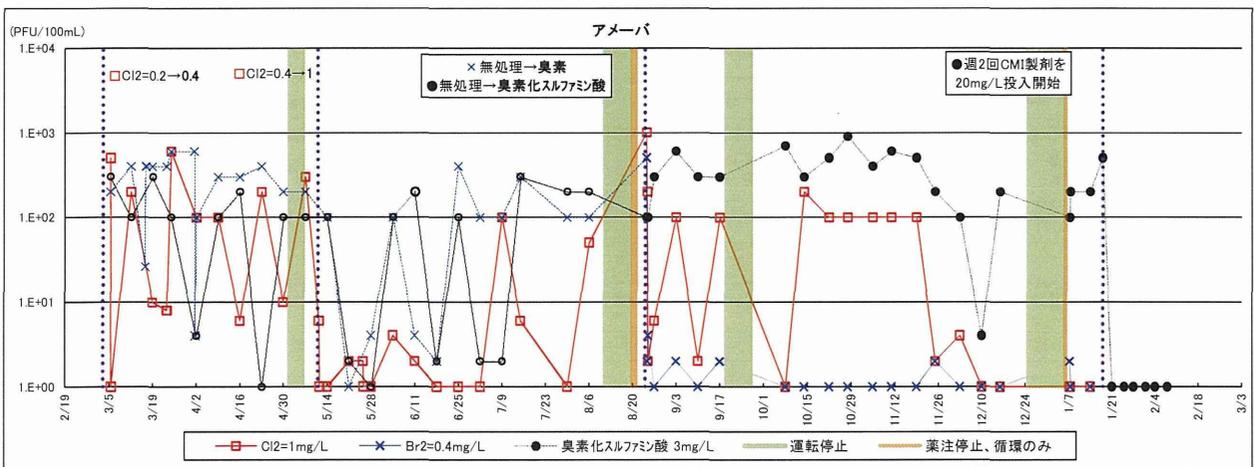


図7. モデル冷却水のアメーバ数の推移

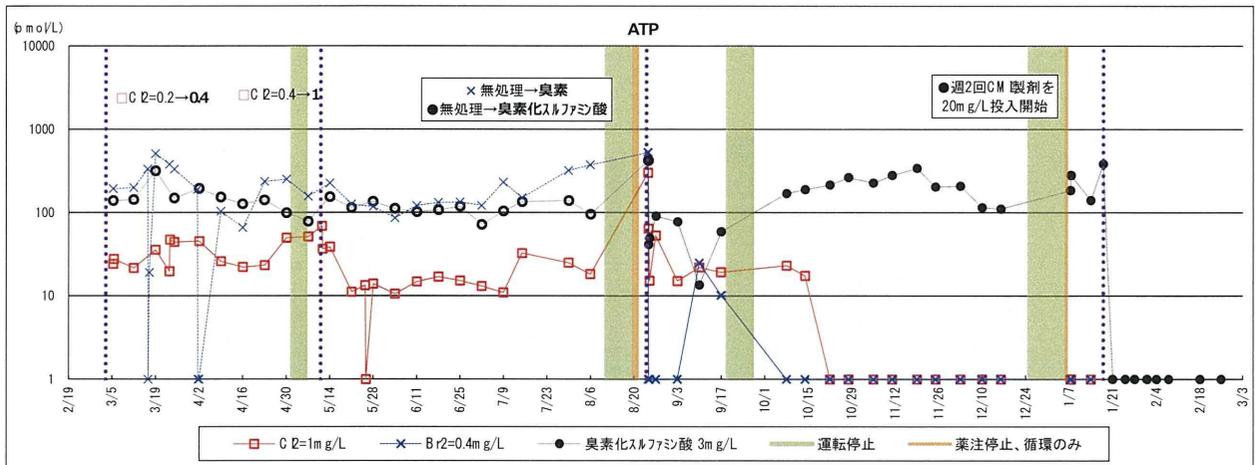


図 8. モデル冷却水の ATP 値の推移

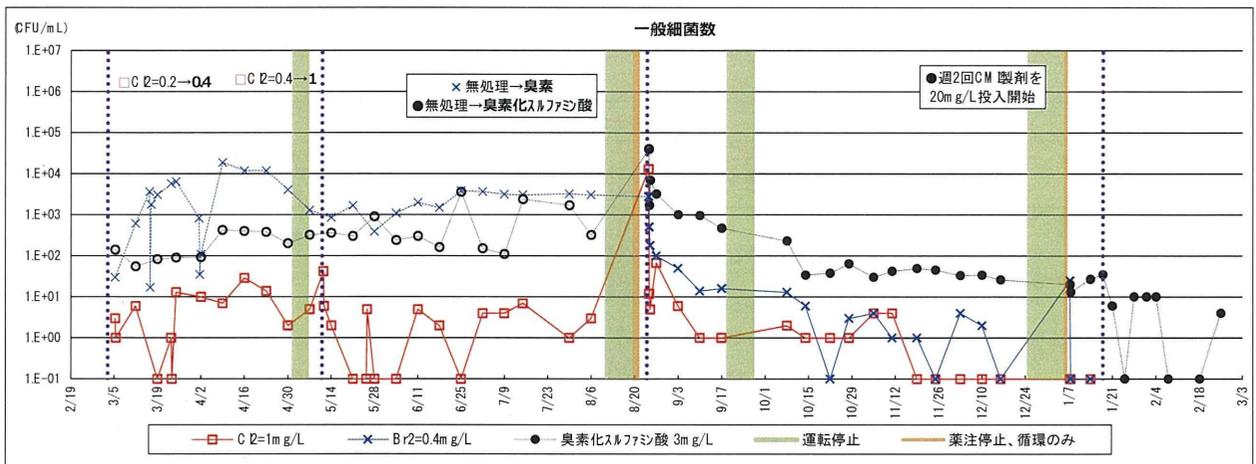


図 9. モデル冷却水の一般細菌数の推移

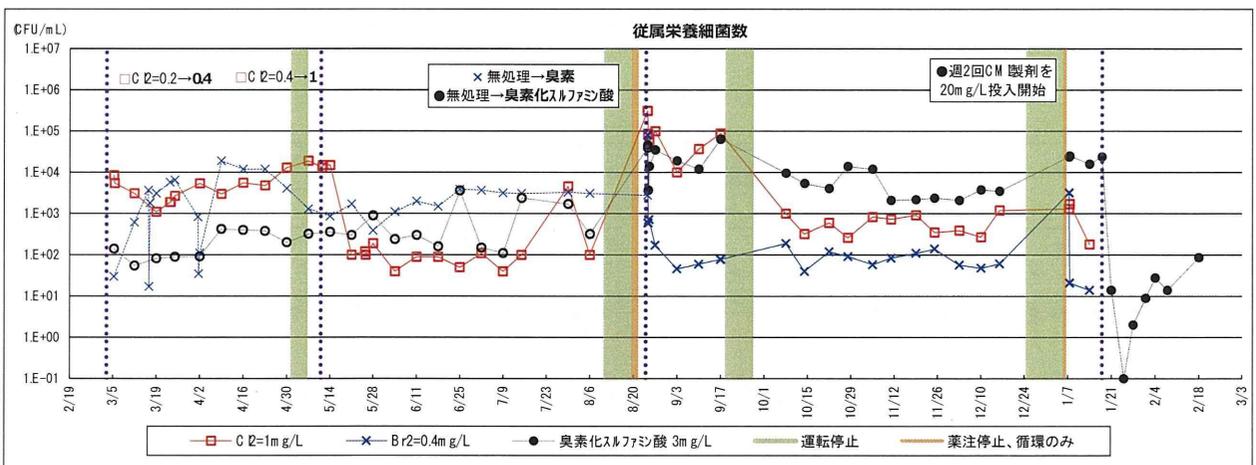


図 10. モデル冷却水の従属栄養細菌数の推移

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）

レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究

研究代表者 倉 文明 国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官

分担研究報告書

レジオネラ属菌迅速検査法の評価

研究分担者	磯部 順子	富山県衛生研究所
	佐々木 麻里	大分県衛生環境研究センター
研究協力者	山口 友美	宮城県保健環境センター
	武藤 千恵子	東京都健康安全研究センター
	淀谷 雄亮	川崎市健康安全研究所
	金谷 潤一	富山県衛生研究所
	浦山 みどり	長崎県環境保健研究センター
	田栗 利紹	長崎県環境保健研究センター
	原口 浩幸	株式会社ファスマック
	森中 りえか	株式会社ファスマック

研究要旨

本研究では、レジオネラ属菌迅速検査法の標準化のため、LAMP 法、LC EMA qPCR 法、PALSAR 法について、浴槽水などの実試料 441 検体を用いて、平板培養法に対する感度、特異度などの評価を行った。

342 検体について LC EMA qPCR 法を実施した。平板培養法による 10 CFU/100 ml 以上の検体を検出するカットオフ値として 1 CFU/100 ml 相当を用いて解析を行った結果、平板培養法に対する感度は 89.2% (74/83 検体)、特異度は 80.3% (208/259 検体) 菌数 (定量値) の相関は $R^2 = 0.6874$ であり、平板培養法と高い相関を示した。

286 検体について LAMP 法を実施した結果、平板培養法に対する感度は 84.0% (68/81 検体)、特異度は 76.6% (157/205 検体) であり、LC EMA qPCR 法の感度 (89.2%)、特異度 (80.3%) よりもやや低かったものの、全体として平板培養法と相関している方法であると考えられた。

268 検体について PALSAR 法を実施した結果、平板培養法に対する感度は 47.0% (39/83 検体)、特異度は 76.8% (142/185 検体) であり、LC EMA qPCR 法、LAMP 法と比較し、特異度は同等であったが、感度は低かった。異なる菌種や血清群 8 株を用いた感度実験に顕著な差はなかったため、実検体で検出された菌種に対する特異性が低かったわけではないと考えられる。一部の濃縮検体については、測定まで冷蔵または -20°C で保存していた。保存状態が RNA の検出に影響するかどうか確認する必要があるが、PALSAR 法の平板培養法に対する感度が不足している可能性は考えられる。検体の濃縮率を上げて 1 反応あたり用いる検水量を多くすることで感度が向上するかについても、検討する必要がある。

今年度の結果から、LC EMA qPCR 法 (カットオフ値 1 CFU/100 ml 相当) および LAMP 法は、平板培養法と高い相関を示す迅速検査法であることが示された。

A 研究目的

現在、浴槽水などを対象としたレジオネラ属菌検査は、濃縮検体を用いた平板培養法が広く普及している。しかしながら、レジオネラ属菌は発育が遅く、検査結果が判明するまでに7~10日を要する。一方、濃縮検体から直接レジオネラ属菌の遺伝子を検出する迅速検査法(リアルタイムPCR法およびLAMP法)は、検査開始から数時間で結果を得られるため、配管洗浄などの効果確認に活用されている¹⁾。平成25年には、死菌由来遺伝子の検出を阻害した「生菌迅速検査法(LC EMA qPCR法)」が開発され²⁾、市販されている。また近年、レジオネラ属菌特異的16S rRNAを標的とし、プレート上のDNAプローブに結合させて検出するPALSAR法が開発された。他の迅速検査法と同様に濃縮検体を用いる本検査は、特殊な機器が不要で肉眼による判定が可能であり、当日中に結果が判明する方法である。

本研究では、レジオネラ属菌迅速検査法の標準化のため、LAMP法、LC EMA qPCR法、PALSAR法について、浴槽水などの実試料を用いて、平板培養法に対する感度、特異度などの評価を行った。

B 材料と方法

1 検査材料

全国6か所の地方衛生研究所において、平成27年度に浴用施設やプールから441検体の試料を採取し、検査法の検討に用いた(表1)。検体の内訳は、浴槽水が268検体(60.8%)、湯口水が25検体(5.7%)、シャワー水が50検体(11.3%)、プール水および採暖槽水が88検体(20.0%)、その他10検体(2.3%)であった。浴槽水の泉質は、温泉が111検体(41.4%)、白湯が137検体(49.3%)、薬湯が3検体(0.7%)、不明が17検体(3.9%)であった。

2 検査方法

ATP値は、検水100倍濃縮液にルシパックワイドまたはルシパックPen(キッコーマン)の専用綿棒を浸して約100 μ lを吸い取り、携帯用簡易測

定器を用いて検水10ml当たりのRLU値を測定した。

平板培養法は新版レジオネラ症防止指針に準じ、各機関の方法で実施した。

LAMP法は、Loopampレジオネラ検査キットE(LMP661、栄研化学)を使用し、添付の取扱説明書に従い実施した。一部の検体は、5%(w/v)キレックス溶液(バイオラッド)を用い、100 $^{\circ}$ C10分間加熱後、遠心上清を鋳型DNAとして用いた。

LC EMA qPCR法は、Viable *Legionella* Selection Kit for LC EMA-qPCR(7730、タカラバイオ)、*Legionella* LC Medium base(9016、タカラバイオ)、Lysis Buffer for *Legionella*(9181、タカラバイオ)、Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit(CY240、タカラバイオ)を用い、添付の取扱説明書に従い実施した。ATP値が5,000 RLU/10ml以上の検体は、1,000倍濃縮液及び100倍濃縮液の両方について検査を実施し、定量値の高い値を採用した。リアルタイムPCR実施後、添付の取扱説明書に記載された方法でコピー数からCFUに換算した。

PALSAR法は、100倍濃縮検体1mlを遠心後、上清を除去し、添付の取扱説明書に従い実施した。

L. gormanii、*L. bozemanii*、*L. micdadei*、*L. dumoffii*、*L. pneumophila* SG 3、*L. pneumophila* SG 8、*L. pneumophila* SG 10、*L. pneumophila* SG 1 Philadelphiaの8株について、PALSAR法における菌種、血清群ごとの感度を調べた。BCYE寒天培地で35 $^{\circ}$ C、3日間培養後、生理食塩水でMcFarland No. 1濁度の菌液(約10⁸ CFU/ml)を調製した。その菌液を10倍段階希釈し、-1~-6段階の希釈液0.1mlをそれぞれ測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、研究機関内外の倫理委員会等における承認手続きが必要となる研究には該当しない。

C 結果

1 平板培養法による結果

441 検体について検査した結果、108 検体 (24.5%) から 10 CFU/100 ml 以上のレジオネラ属菌が検出された (表 2)。菌数別に見ると、63 検体 (14.3%) が 10~99 CFU/100 ml、100~999 CFU/100 ml が 20 検体 (4.5%)、1,000 CFU/100 ml 以上が 25 検体 (5.7%) であった。最も多かった検体では、46,000 CFU/100 ml のレジオネラ属菌が検出された。血清群別の結果を表 3 に示した。*L. pneumophila* 血清群 (SG) 6 が 31 検体から分離され、最も多かった。次に多かったのは、*L. pneumophila* SG 1 (25 検体)、*L. pneumophila* SG 3 (24 検体)、*L. pneumophila* SG 5 (24 検体) であった。また、*L. pneumophila* 以外の菌種が 20 検体から分離された。

2 LC EMA qPCR 法による結果

(1) 平板培養法との比較

昨年度の検討結果³⁾を参考に、平板培養法による 10 CFU/100 ml 以上の検体を検出するカットオフ値として 1 CFU/100 ml 相当を用いて解析を行った。LC EMA qPCR 法を使用した 342 検体について、平板培養法の結果と比較した (表 4)。平板培養法では 83/342 検体 (24.3%) の検体から 10 CFU/100 ml 以上のレジオネラ属菌が検出された。一方、LC EMA qPCR 法では 125/342 検体 (36.5%) の検体からレジオネラ属菌の遺伝子が検出された。LC EMA qPCR 法の平板培養法に対する感度は 89.2% (74/83 検体)、特異度は 80.3% (208/259 検体) であった。LC EMA qPCR 法と平板培養法との菌数 (定量値) の相関は、 $R^2 = 0.6874$ であった (図 1)。

(2) LC EMA qPCR 法における偽陰性検体

平板培養法の結果が陽性 (10 CFU/100 ml 以上) となったが LC EMA qPCR 法で陰性 (1 CFU/100 ml 相当未満) となった 9 検体は、すべて平板培養法での菌数が 10 CFU/100 ml であった (表 5)。9 検体から分離された株の血清群別の結果、すべて *L. pneumophila* であった。また、6/9 検体 (66.7%) は、機関 A で実施した検体であった。なお、低濃度平板培養法陽性検体 (10 CFU/100 ml) 25 検

体における LC EMA qPCR 法の感度は 57.1% (12/21 検体、4 検体は LC EMA qPCR 未実施) であった。

(3) LC EMA qPCR 法における偽陽性検体

平板培養法の結果が陰性 (10 CFU/100 ml 未満) となったが LC EMA qPCR 法で陽性 (1 CFU/100 ml 相当以上) となったのは、51/342 検体 (14.9%) であった (表 6)。これら 51 検体における LC EMA qPCR 法の定量値を見ると、26 検体 (51.0%) は 1~9 CFU/100 ml 相当、19 検体 (37.3%) は 10~99 CFU/100 ml 相当、6 検体 (11.8%) は 100 CFU/100 ml 相当以上であった。ただし、10 検体 (19.6%) は、平板培養法の菌数が 1~9 CFU/100 ml であった。

3 LAMP 法による結果

(1) 平板培養法との比較

LAMP 法を使用した 286 検体について、平板培養法の結果と比較した (表 7)。平板培養法では 81/286 検体 (28.3%) の検体から 10 CFU/100 ml 以上のレジオネラ属菌が検出された。一方、LAMP 法では 116/286 検体 (40.6%) の検体からレジオネラ属菌の遺伝子が検出された。LAMP 法の平板培養法に対する感度は 84.0% (68/81 検体)、特異度は 76.6% (157/205 検体) であった。

(2) LAMP 法における偽陰性検体

平板培養法の結果が陽性 (10 CFU/100 ml 以上) となったが LAMP 法で陰性となった 13 検体のうち、6 検体 (46.2%) は平板培養法での菌数が 10 CFU/100 ml、残りの 7 検体 (53.8%) は 20~60 CFU/100 ml であった (表 8)。また、No. 10 の検体では *L. quinlivani* および *L. rubrilucens*、No. 13 の検体では血清群不明のレジオネラ属菌が検出された。

4 PALSAR 法による結果

(1) 平板培養法との比較

PALSAR 法を使用した 268 検体について、平板培養法の結果と比較した (表 9)。平板培養法では 83/268 検体 (31.0%) の検体から 10 CFU/100 ml 以上のレジオネラ属菌が検出された。一方、

PALSAR 法では 82/268/検体 (30.6%) の検体からレジオネラ属菌の遺伝子が検出された。PALSAR 法の平板培養法に対する感度は 47.0% (39/83 検体)、特異度は 76.8% (142/185 検体) であった。

(2) PALSAR 法における偽陰性検体

平板培養法の結果が陽性 (10 CFU/100 ml 以上) となったが PALSAR 法で陰性となった 44 検体のうち、35 検体 (79.5%) は平板培養法での菌数が 10~99 CFU/100 ml であった。残りの 9 検体は、平板培養法での菌数が 100 CFU/100 ml 以上 (最大 1,500 CFU/100 ml) であり、分離菌の血清群別の結果、すべての検体から *L. pneumophila* が分離された (表 10)。この 9 検体については、100 倍濃縮検体 1 ml を遠心して上清を除去した後、測定するまで、3 検体は冷蔵で 2 日間、3 検体は -20°C で約 1 か月保存した (残り 3 検体は保存状態不明)。

(3) PALSAR 法における菌種ごとの感度

8 株の 10 倍段階希釈液について PALSAR 法を実施した結果、すべての株について検出限界が $10^3 \sim 10^4$ CFU/reaction (0.1 ml) であった (図 2)。

5 各機関における培養法に対する迅速検査法の感度・特異度

6 機関における迅速検査法の感度・特異度を表 11 に示した。LC EMA qPCR 法では、感度 76.0~100% (平均 89.2%)、特異度 79.2~94.4% (平均 80.3%) であった。LAMP 法では、感度 73.1~100% (平均 84.0%)、特異度 59.4~94.4% (平均 76.6%) であった。PALSAR 法では、感度 28.6~60.0% (平均 47.0%)、特異度 57.1~86.1% (平均 76.8%) であった。

D 考 察

今年度は、3 種類の迅速検査キット (LC EMA qPCR 法、LAMP 法、PALSAR 法) について、平板培養法の結果と比較し、評価した。

LC EMA qPCR 法について、昨年度の解析と同様に平板培養法による 10 CFU/100 ml 以上の検体を検出するカットオフ値として 1 CFU/100 ml 相

当を用いて解析を行った結果、平板培養法に対する感度は 89.2%、特異度は 80.3%、菌数 (定量値) の比較は $R^2=0.6874$ と高い相関を示し、全体として平板培養法の菌数を反映していた。昨年度の検討結果 (感度 89.5%、特異度 73.9%、 $R^2=0.6176$) と比較すると、感度は同等であった。特異度および相関係数は今年度の検討結果がやや高かったが、用いた検体が異なるために生じた差であると考えられた。

LC EMA qPCR 法で偽陰性となった 9 検体は、平板培養法での菌数が 10 CFU/100 ml と低濃度ではあったが、9 検体から検出された菌種がすべて *L. pneumophila* であり、検出可能な菌種であった。低濃度培養陽性検体 (10 CFU/100 ml) における LC EMA qPCR 法の感度は 57.1% であったことから、平板培養法の菌数が低い場合には、LC EMA qPCR 法で陰性になる場合があると考えられる。

LC EMA qPCR 法で偽陽性となった検体は全体の 14.9% (51/342 検体) であった。本研究では平板培養法のカットオフ値を 10 CFU/100 ml としているが、各機関の平板培養法が異なるため、検出下限値も機関ごとに異なる (1~10 CFU/100 ml)。10/51 検体 (19.6%) は、平板培養法による菌数が 1~9 CFU/100 ml であった。したがって残りの検体についても、平板培養法で検出限界以下の低濃度のレジオネラ属菌が存在していた可能性は考えられる。また、温泉成分などによる EMA 効果の阻害や、viable but non-culturable 状態のレジオネラ属菌が存在していた可能性も考えられる。

LAMP 法の平板培養法に対する感度は 84.0%、特異度は 76.6% であり、LC EMA qPCR 法の感度 (89.2%)、特異度 (80.3%) よりもやや低かったものの、全体として平板培養法と相関している方法であると考えられた。LAMP 法で偽陰性となった 9 検体は、平板培養法の菌数が 10~60 CFU/100 ml と低濃度であり、LC EMA qPCR 法と同様であった。したがって LAMP 法においても、低濃度培養陽性検体においては、感度がやや低下すると考えられた。また、一部の検体で検出された菌株

については、LAMP 法で検出できなかった可能性が考えられた。

PALSAR 法の平板培養法に対する感度は 47.0%、特異度は 76.8%であり、LC EMA qPCR 法、LAMP 法と比較し、特異度は同等であったが、感度は低かった。PALSAR 法で偽陰性となった 9/44 検体 (20.5%) は、平板培養法での菌数が 100 CFU/100 ml 以上であり、検出された菌種はすべて *L. pneumophila* であった。異なる菌種や血清群 8 株を用いた感度実験に顕著な差はなかったため、実検体で検出された菌種に対する特異性が低かったわけではないと考えられる。この 9 検体のうち 6 検体は、濃縮沈殿検体を冷蔵または -20°C で保存した。LC EMA qPCR 法、LAMP 法と異なり、PALSAR 法は RNA を標的とする迅速検査法である。RNA は DNA と比較し分解されやすいため、検体の保存によって RNA が分解された可能性も考えられる。濃縮検体の保存が RNA に与える影響については、検討する必要がある。一方で、菌種や血清群による感度を調査した結果では、検出可能な菌数がすべて $10^3 \sim 10^4$ CFU/reaction であった。本実験は BCYE 寒天培地を用いて平板培養した菌株を用いた系ではあるが、実検体を用いた場合は検水 100 ml/reaction となるため、PALSAR 法の平板培養法に対する感度が不足している可能性は考えられる。検体の濃縮率を上げて 1 反応あたり用いる検水量を多くすることで、感度が向上するか検討する必要もある。

平板培養法に対する迅速検査法の感度・特異度は、機関ごとにばらつきが見られたが、平板培養法の方法や、検体の泉質などが異なることによるものと考えられた。

今年度の結果から、LC EMA qPCR 法 (カットオフ値 1 CFU/100 ml 相当) および LAMP 法は、平板培養法と高い相関を示す迅速検査法であることが示された。一方で、PALSAR 法は平板培養法に対する感度が低かった。濃縮検体の保存が RNA の検出に影響するかどうかは、確認する必要がある。

E 結論

各種迅速検査法 (LAMP 法、LC EMA qPCR 法、PALSAR 法) について、浴槽水などの実試料を用いて、平板培養法に対する感度、特異度などの評価を行った。

LC EMA qPCR 法について、昨年度の解析と同様に平板培養法による 10 CFU/100 ml 以上の検体を検出するカットオフ値として 1 CFU/100 ml 相当を用いて解析を行った結果、平板培養法に対する感度は 89.2%、特異度は 80.3%、菌数 (定量値) の比較は $R^2=0.6874$ と高い相関を示し、全体として平板培養法の菌数を反映していた。

LAMP 法の平板培養法に対する感度は 84.0%、特異度は 76.6%であり、LC EMA qPCR 法の感度 (89.2%)、特異度 (80.3%) よりもやや低かったものの、全体として平板培養法と相関している方法であると考えられた。

PALSAR 法の平板培養法に対する感度は 47.0%、特異度は 76.8%であり、LC EMA qPCR 法、LAMP 法と比較し、特異度は同等であったが、感度は低かった。

今年度の結果から、LC EMA qPCR 法 (カットオフ値 1 CFU/100 ml 相当) および LAMP 法は、平板培養法と高い相関を示す迅速検査法であることが示された。一方で、PALSAR 法は平板培養法に対する感度が低かった。濃縮検体の保存が RNA の検出に影響するかどうか、検体の濃縮率を上げて 1 反応あたり用いる検水量を多くすることで感度が向上するかは、検討する必要がある。

参考文献

- 1) 浅野陽子、核酸増幅法を用いた公衆浴場等におけるレジオネラ属菌検出時の指導について、生活と環境、2007、52 (1)、89-91.
- 2) 烏谷 竜哉 他、液体培養 (Liquid Culture) EMA-qPCR 法を用いたレジオネラ生菌迅速検査法の検討、公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究、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 平成 24 年度 総括・分担研究報
告書、71-84.

3) 金谷 潤一 他、Liquid Culture EMA qPCR に
おけるレジオネラ生菌迅速検査法の改良と評価、
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆
浴場等における衛生管理手法に関する研究、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 平成 26 年度 総括・分担研究報告
書、63-76.

F 研究発表
なし

G 知的財産権の出願・登録状況
なし

表1. 検体内訳と検査方法

		機関						
		A	B	C	D	E	F	計
浴槽水	温泉	21	6	21	17	33	13	111
	白湯	22	36	27	8	16	28	137
	薬湯	3						3
	不明	16					1	17
湯口水				25				25
シャワー水	48		2					50
プール水および採暖槽水							88	88
その他	1		9					10
計		111	42	59	50	49	130	441
検査方法								
LC EMA qPCR		○	○	○		○	○	
LAMP		○	○		○	○	○	
PALSAR		○	○	○	○	○		

表 2. 平板培養法による検出率

菌数 (CFU/100 ml)	検体数	(%)
10 未満	333	(75.5)
10-99	63	(14.3)
100-999	20	(4.5)
1,000 以上	25	(5.7)
計	441	(100)

表3. 分離菌の血清群

菌種	検体数
<i>L. pneumophila</i>	
SG 6	31
SG 1	25
SG 3	24
SG 5	24
SG 9	7
SG 15	6
SG 2	5
SG 10	5
SG 8	4
SG 7	3
SG 4	2
SG 12	2
UT	39
<i>Legionella</i> spp.	20

表4. 平板培養法とLC EMA qPCR法との比較

		平板培養法		計
		≥ 10	< 10	
LC EMA qPCR法	≥ 1	74	51	125
(カットオフ値1 CFU/100 ml相当)	< 1	9	208	217
計		83	259	342

感度 89.2%、 特異度 80.3%

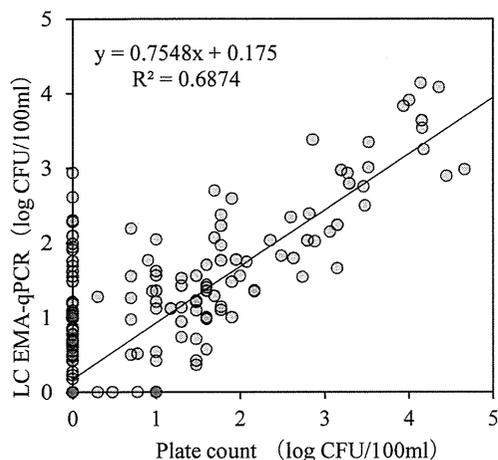


図1. 平板培養法とLC EMA qPCR法との相関

表5. LC EMA qPCR法における偽陰性検体

No.	検体	泉質など	湯温 (°C)	残塩 (mg/L)	pH	ATP値 (RLU/10 ml)	平板培養法 (CFU/100 ml)	菌種	血清群	LAMP法	PALSAR法
1	浴槽水	白湯	40	0.2	8.07	15	10	<i>L. pneumophila</i>	5	-	-
2	浴槽水	白湯	41	0.5	7.57	56	10	<i>L. pneumophila</i>	1	-	-
3	浴槽水	白湯	40	0.8	7.36	351	10	<i>L. pneumophila</i>	9	-	-
4	浴槽水	温泉	39	1	7.77	5	10	<i>L. pneumophila</i>	10, 15	-	-
5	浴槽水	白湯	40.7	>2.2		74	10	<i>L. pneumophila</i>	UT	+	-
6	浴槽水		42	0.6		1,239	10	<i>L. pneumophila</i>	5	+	-
7	浴槽水	温泉	42.5	0.6	8.06	3,124	10	<i>L. pneumophila</i>	1	+	+
8	浴槽水	白湯	41	0.8		5	10	<i>L. pneumophila</i>	1	-	+
9	浴槽水	温泉	42.1	0.1		76	10	<i>L. pneumophila</i>	3	+	+

表7. 平板培養法とLAMP法との比較

		平板培養法		計
		≥ 10	< 10	
LAMP法	陽性	68	48	116
	陰性	13	157	170
計		81	205	286

感度 84.0%、 特異度 76.6%

表6. LC EMA qPCR法における偽陽性検体

No.	検体	湯温 (°C)	残塩 (mg/L)	pH	ATP値 (RLU/10 ml)	平板培養法 (CFU/100 ml)	菌種	血清群	LC EMA qPCR法 (CFU/100 ml相当)	LAMP法	PALSAR法
1	シャワー水		0.1		38	<10			1.5	-	-
2	シャワー水		0.05		33	<10			1.7	-	-
3	シャワー水				3	<10			1.9	NT	NT
4	浴槽水	白湯	0		8	<10			2.6	+	-
5	浴槽水	温泉	40	0.2	7.53	1,569			2.6	+	+
6	浴槽水		13	0		54			2.7	-	+
7	浴槽水	温泉	36	>2.0		2			3.0	NT	+
8	浴槽水	白湯	40.8	1		586			3.1	+	-
9	プール水		36.6	0.5		5	<i>L. pneumophila</i>	1, 6	3.2	NT	NT
10	プール水		29.6	0.8		<10			3.2	NT	NT
11	採暖槽水		41.3	0.4		6	<i>L. pneumophila</i>	1, 7	3.3	NT	NT
12	採暖槽水		39.5	1.5		<10			3.6	NT	NT
13	浴槽水	温泉	19	0	8	4			3.9	NT	NT
14	浴槽水	温泉	21	0	8	2			4.0	NT	NT
15	浴槽水	温泉	40	2	7.71	14			4.2	-	-
16	浴槽水	温泉	41	0	8.2	433			4.3	NT	NT
17	浴槽水	温泉	41.7	0.57	7.5	8			4.7	NT	-
18	浴槽水	温泉	43.6	<0.05		59,492			4.7	-	+
19	プール水		31.9	0.8		<10			4.8	NT	NT
20	シャワー水			0.03	42	<10			4.8	-	+
21	採暖槽水		30.2	0.4		<10			5.0	NT	NT
22	プール水		30.0	0.7		<10			5.9	NT	NT
23	プール水		29.5	0.7		<10			6.8	NT	NT
24	シャワー水			0.2	104	<10			7.3	-	-
25	浴槽水逆流水	温泉			35	5	<i>L. pneumophila</i>	UT	9.4	NT	-
26	採暖槽水		37.4	2.0		<10			9.7	NT	NT
27	プール水		31.0	0.5		<10			10.4	NT	NT
28	シャワー水		40	0.1	41	<10			10.8	-	NT
29	浴槽水	温泉	18.3	0	8	9			11.6	NT	NT
30	シャワー水		38.8	0.6		9			12.4	-	+
31	浴槽水	白湯	19.1	0.6	7.66	1,501			15.2	-	+
32	シャワー水		38.9	0.6		26			16.2	+	+
33	浴槽水	白湯			925	5	<i>L. pneumophila</i>	1	18.2	NT	NT
34	採暖槽水		36.5	>2.0		2	<i>L. pneumophila</i>	1	18.9	NT	NT
35	採暖槽水		33.7	1.0		9	<i>L. pneumophila</i>	1	22.5	NT	NT
36	浴槽水	温泉	40	0		11			30.5	NT	+
37	浴槽水	温泉	37.8	1.3	8.57	83			35.5	-	+
38	浴槽水	温泉		0.98	7.5	6	<i>L. pneumophila</i>	UT	35.6	NT	+
39	浴槽水	温泉	50	0		48			41.8	NT	+
40	浴槽水	温泉	42.6	<0.05		13,888			49.4	+	+
41	浴槽水	温泉	50	0		32			56.9	NT	+
42	プール水		32.0	0.7		8	<i>L. pneumophila</i>	1	58.3	NT	NT
43	屋外蛇口	白湯			681	<10			81.7	+	+
44	浴槽水	温泉	21	>2.0		40			88.3	NT	+
45	浴槽水	温泉	50	0		12			97.8	NT	+
46	浴槽水	温泉	42	0.92	7.1	18,763			124.1	+	+
47	浴槽水	温泉		0.74	7.5	15	<i>L. pneumophila</i>	UT	154.7	NT	-
48	浴槽水	温泉	42	0.89	7.08	4,441			192.0	-	+
49	浴槽水	温泉	41	<0.05		29,562			201.2	+	+
50	浴槽水	温泉	44	<0.05		412			409.0	-	+
51	プール水		38.5	0.7		1	<i>L. pneumophila</i>	1	870.3	NT	NT

表8. LAMP法における偽陰性検体

No.	検体	湯温 (°C)	残塩 (mg/L)	pH	ATP値 (RLU/10 ml)	平板培養法 (CFU/100 ml)	菌種	血清群	LC EMA qPCR法 (CFU/100 ml相当)	PALSAR法
1	浴槽水	白湯	40	0.2	8.07	15	<i>L. pneumophila</i>	5	0.0	-
2	浴槽水	白湯	41	0.5	7.57	56	<i>L. pneumophila</i>	1	0.0	-
3	浴槽水	白湯	40	0.8	7.36	351	<i>L. pneumophila</i>	9	0.0	-
4	浴槽水	温泉	39	0.6	7.77	5	<i>L. pneumophila</i>	10, 15	0.0	-
5	浴槽水			0.1		7	<i>L. pneumophila</i>	1	NT	NT
6	浴槽水	白湯	41	0.8		5	<i>L. pneumophila</i>	1	0.0	+
7	浴槽水	温泉	44.1	<0.05		1607	<i>L. pneumophila</i>	3, 5	33.6	+
8	浴槽水	温泉	40	0.05	8.16	9	<i>L. pneumophila</i>	3, 6	2.6	-
9	浴槽水	温泉	42.3	<0.05		2379	<i>L. pneumophila</i>	6, UT	12.4	-
10	湯口水		0			40	<i>L. pneumophila</i> , <i>L. quinlivani</i> , <i>L. rubrilucens</i>	3, UT	NT	-
11	浴槽水	温泉	41.7	0.2	9	40	<i>L. pneumophila</i>	3, 5	22.7	-
12	浴槽水			0.02		50	<i>L. pneumophila</i>	1, 6	NT	-
13	シャワー水			0	38	60	UT		168.9	-

表9. 平板培養法とPALSAR法との比較

		平板培養法		計
		≥10	<10	
PALSAR法	陽性	39	43	82
	陰性	44	142	186
計		83	185	268

感度 47.0%、 特異度 76.8%

表10. PALSAR法における偽陰性検体

No.	泉質	湯温 (°C)	残塩 (mg/L)	pH	ATP値 (RLU/10 ml)	平板培養法 (CFU/100 ml)	菌種	血清群	LC EMA qPCR法 (CFU/100 ml相当)	LAMP法	濃縮検体保存状態
1	浴槽水	42	<0.05		101	100	<i>L. pneumophila</i>	1	35.9	+	不明
2	シャワー水		0		18	120	<i>L. pneumophila</i>	10	55.5	+	冷凍保存
3	湯口水					150	<i>L. pneumophila</i>	UT	NT	+	冷蔵保存
4	湯口水					160	<i>L. pneumophila</i>	3, 5, UT	NT	+	冷蔵保存
5	浴槽水	36	0.2		14	230	<i>L. pneumophila</i>	6	107.2	+	不明
6	シャワー水		0		221	310	<i>L. pneumophila</i>	3, 6	66.8	+	冷凍保存
7	浴槽水	42	0.6	7.73	98	400	<i>L. pneumophila</i>	3	219.6	+	不明
8	シャワー水		0.1		155	760	<i>L. pneumophila</i>	3, 6	104.4	+	冷凍保存
9	浴槽水		0			1500	<i>L. pneumophila</i>	1	NT	+	冷蔵保存

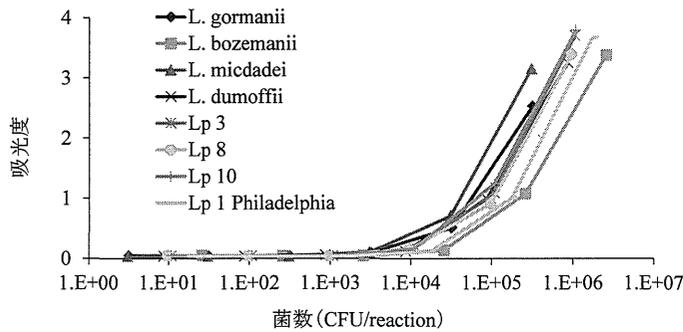


図2. PALSAR法における菌種・血清群ごとの感度

表11. 各機関における培養法に対する迅速検査法の感度・特異度

		機関						6機関
		A	B	C	D	E	F	
LC EMA qPCR	N	104	42	59	0	49	88	342
	感度(%)	76.0	83.3	100.0		92.0	測定不可	89.2
	特異度(%)	82.0	94.4	50.0		79.2	84.1	80.3
LAMP	N	111	42	0	50	49	34	286
	感度(%)	73.1	100.0		90.9	84.0	100.0	84.0
	特異度(%)	87.1	94.4		53.6	62.5	59.4	76.6
PALSAR	N	97	42	30	50	49	0	268
	感度(%)	28.6	33.3	33.3	59.1	60.0		47.0
	特異度(%)	80.3	86.1	57.1	67.9	79.2		76.8

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)
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究

平成 27 年度分担研究報告書

レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み

研究分担者	○森本 洋	北海道立衛生研究所
	磯部 順子	富山県衛生研究所
	黒木 俊郎	神奈川県衛生研究所
	佐々木麻里	大分県衛生環境研究センター
	中嶋 洋	岡山県環境保健センター
	前川 純子	国立感染症研究所
	研究協力者	浦山みどり
大屋日登美		神奈川県衛生研究所
緒方喜久代		大分県薬剤師会検査センター
小川 恵子		北海道立衛生研究所
金谷 潤一		富山県衛生研究所
久保田晶子		北海道立衛生研究所
田中 忍		神戸市環境保健研究所
千田 恭子		仙台市衛生研究所
武藤千恵子		東京都健康安全研究センター
山口 友美		宮城県保健環境センター
研究代表者	吉野 修司	宮崎県衛生環境研究所
	渡邊 涼太	北海道立衛生研究所
	倉 文明	国立感染症研究所

研究要旨

レジオネラ属菌検査法の安定化を目的とし、1)精度管理、2)標準的検査法、3)研修システムの3点を柱とし、レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループ(以下WG)内で検討を行った。

WGでは、これまでの厚労科研研究事業において、レジオネラ属菌の特異的な性質から、外部精度管理用の配付試料の作製について、その安定性及び再現性及びそれらの妥当性評価について試行錯誤を繰り返してきた¹⁻³⁾。平成25、26年度は、微生物定量試験用標準菌株の販売を行っているシスメックス・ビオメリュー社のBioBall(特注品)を利用し、外部精度管理を試みた^{4、5)}。その結果、配付試料の信頼性においてメーカー保証が得られ、また、メーカーによる商品発送対応であることから、多施設へ安定した輸送が可能となった。そこで、配付試料がより安定した性能を発揮で

きる範囲内で、検査工程のどの部分に重きを置くかの定義付けを行い、平成 27 年度はその実施母体を日水製薬(株)とし、公的、民間を問わず全国 189 の検査機関(延べ 192 試料配付)に対し外部精度管理を実施した。研究班への協力機関として参加した地方衛生研究所 68 機関については、WG でも集計・解析を実施した。今後もさらに検討を重ね、適切な研修会までの実施を視野に入れた継続的な外部精度管理を開催できるよう検討が必要と思われる。

A. 研究目的

レジオネラ属菌検査法の安定化を目的とし、1) 精度管理、2) 標準的検査法、3) 研修システムの3点を柱とし、レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループ(以下 WG)内で検討を行った。

B. 研究方法

1) 精度管理

外部精度管理の実施

<実施概要>

本年度は、実施母体を日水製薬株式会社とし、公的、民間を問わず全国の検査機関に案内を発信し外部精度管理を実施した。

まず平成 27 年 9 月初旬に日水製薬より「参加募集案内文、参加要件、検査方法」(別紙参照)が示され参加募集が行われた。次に、参加申込者に対し、12 月 29 日付けで詳細な日程がメールにより配信された(別紙参照)。平成 28 年 1 月 18 日(月)に試料及び試料送付案内(別紙参照)が発送された。回答期限は 2 月 19 日(金) 17 時に指定された。

<参加機関>

全国 189 の検査機関(延べ 192 試料配付)に対し、実施された。うち研究班への協力機関として地方衛生研究所 68 機関が参加した。

<結果集計と解析>

全参加機関に対する集計・解析は日水製薬が実施し、地方衛生研究所 68 機関については、WG による集計・解析も実施した。なお WG では、

過去 2 年の研究報告と同じ換算値として集計することとした^{4, 5)}(500ml の滅菌生理食塩水に配付試料をすべて溶かした場合の 100ml 当たりの菌数に換算)。また、各機関の最終菌数は、コロニー数の平均値に換算のための定数を乗じたのち、四捨五入により上から二桁までを有効数字として表示した。本調査での目標値(良好範囲)は、過去 2 年間と同じく「配付試料について、メーカー保証されている 95%信頼区間における菌数をベースに補正した範囲に対し、その下限値の 30%および上限値の 300%」という考え方を導入することとした。その結果、300~9000cfu/100ml を目標値(良好範囲)と設定した。

<検査方法>

本年度は、日水製薬の実施要領に従った(別紙サーベイ指定法参照)。

2) 標準的検査法および研修システム

WG による地方衛生研究所 68 機関の集計・解析結果から検討した。

C. 研究結果及び考察

1) 精度管理

平成 27 年度は、検査手技の確認に重点を置き、①特注品 BioBall を利用する。②未処理のみで検査をする。③BCYE α 培地のみで検査をする。④非濃縮試料、濃縮試料について検査する(非濃縮試料が適切に混和されているか、適切な濃縮が行われているかを大きな評価点とする)、以上を念頭に、実施母体を日水製薬株式会社とし、公的、民間を問わず全国の検査機関に対し外部

精度管理の実施を試みた。全国の結果集計・解析は日水製薬で行い、3月30日、検査実施者が専用ホームページから個別のIDによりログインし、解析結果をダウンロードすることが可能となる。

一方、WGが集計した地方衛生研究所68機関の全判定結果を表1に示した。300～9000cfu/100mlの目標値(良好範囲)を報告した機関は、非濃縮試料では68機関中62機関(91%)、ろ過濃縮試料では61機関中38機関(62%)、遠心濃縮試料では22機関中8機関(36%)であった。濃縮試料ではろ過濃縮による判定結果が良い傾向にあった。WGではこれまでも検査者間差が少なく、回収率が比較的安定しているろ過濃縮法を推奨してきており、これを裏付ける結果が示されたと思われる。表2に非濃縮及び濃縮試料(ろ過および遠心濃縮両方を実施していた場合そのどちらか)ともに目標値(良好範囲)を報告した機関を示した。68機関中42機関(62%)がこれに該当した。表3に非濃縮及び2種類の濃縮試料すべてに対応していた15機関を示した。全試料目標値(良好範囲)を報告した機関は15機関中4機関(27%)であった。表4にろ過濃縮、表5に遠心濃縮対応機関ごとの判定結果を示した。表3～5については、各機関の非濃縮菌数に対する濃縮菌数の回収率も示した(非濃縮試料でレジオネラ属菌を確認できなかった機関及び回収率が>100%だった機関は集計対象から除外した)。表6に、北海道衛研で確認した異なる7試料の非濃縮検査結果を示した。

これらの結果を解析した結果、以下に該当する検査機関(重複あり)は、それぞれの試料項目に応じた検査工程を再確認する必要があると思われる。①非濃縮試料で目標値(良好範囲)を報告できなかった6機関。特にレジオネラ属菌が確認できなかった3機関。②ろ過濃縮で目標値(良好範囲)を報告できなかった23機関。特に10cfu/100ml未満を報告した5機関(うち4機関は

レジオネラ属菌を確認できず)。③遠心濃縮で目標値(良好範囲)を報告できなかった14機関。特に10cfu/100ml未満を報告した1機関(レジオネラ属菌を確認できず)。④非濃縮及び濃縮試料で目標値(良好範囲)を報告できなかった6機関。特に両試料ともにレジオネラ属菌を確認できなかった2機関。⑤非濃縮と濃縮試料の判定結果を比較した時に、濃縮試料の結果の方が多い菌数を報告していた3機関(両試料で目標値(良好範囲)が報告できず)。なお、非濃縮試料において、目標値(良好範囲)を報告していたが1000cfu/100ml未満の菌数を報告していた10機関については、配付試料の製品保証精度及び表6の結果等から、検査工程を再確認することが望ましいと思われる。

これまでも報告してきたが、レジオネラ属菌検査においては、コンラージや濃縮時のいくつかの操作等が結果へ影響し、菌数の減少に繋がる傾向にあるので注意が必要である。特に遠心濃縮時にはその影響を受けやすいと思われるので、より慎重な対応が必要となる。また今回非濃縮試料で目標値(良好範囲)を報告できなかった6機関は、濃縮試料についても目標値(良好範囲)を報告できていなかった。さらに、このうちの2機関(うち1機関は日常的に検査を実施していない)は、今回の配付試料からレジオネラ属菌を検出できていなかった。これらの機関は、試料の混ぜ方、培地への接種量、コンラージの力加減、濃縮操作等、全検査工程を確認し検証する必要があると思われる。また、可能であれば、適当な機関での研修を視野に入れた対応が必要と思われる。

2) 標準的検査法および研修システム

標準的検査法については、以下の考え方を柱に検討してきたところである。①ISO 11731:1998(E)に準じた方法。②検査結果のバラツキを無くす方法。③分離培地に発育したレジオネラを見逃さないようにする。つまり、ある精度以

上を確保した基準となる方法、基本となる考え方を統一した方法、と定義することができる。今回の外部精度管理結果から、非濃縮試料の検査実施の重要性が改めて示された。WG においても非濃縮試料の検査実施を推奨している。しかしながら現行の「公衆浴場における衛生等管理要領」には非濃縮試料の検査実施は記載されていない。このことが検査精度の低下を招いている一因と思われる。濃縮法については、WG では、検査者間差が少なく、回収率が比較的安定しているろ過濃縮法を推奨してきた。一方で、この方法は、多検体処理や夾雑物の多い検体に対しては課題が多い。このような状況においては、遠心濃縮法での対応が扱いやすい場合がある。レジオネラ症防止指針-第3版-では、培養法の基本を JIS K 0350-50-10:2006 に準拠しており、JIS 法では回収率を高めた遠心濃縮方法が提示されている。WG でも遠心濃縮を行う場合においては、この方法を推奨している。浴槽水の検査においては、適切な濃縮が行われかつその後の回収方法が、重要なポイントの一つであることから、ろ過濃縮、遠心濃縮を問わず、濃縮工程中の注意点について提示できるよう引き続き検討したいと考える。なお、現在 ISO でも本検査法の改訂作業が進められていることを受け、今後は WG 推奨法との調整を行い、「公衆浴場における衛生等管理要領」内で提示したいと考える。

研修については、これまで実施した研修会で、いくつかの課題が見つかったが、同時に今後に生かせる知見も集積された。これらをもとに、研修マニュアル作成に向けた検討を行ってきた(黒木分担研究者の報告参照:平成27年度)。今後は、各検査機関で適切な内部精度管理を行えるよう、より具体的な注意点等を提示した研修会を実施することが重要と思われる。一方で、このような研修会を開催するためには、既存のシステムによるのか、新たなシステムを必要とするかを含め、主催者、場所、条件等の基本的方針を検討しな

ければならない。講師の養成も不可欠である。上述の研修マニュアル作成に加え、それを生かすための検討が必要である。

D. 結論

1) 精度管理

外部精度管理調査実施主体を民間会社とし、官民間問わず幅広い調査を試みたことにより、全国規模で外部精度管理調査を実施するための一つのモデルを示すことができた。また、感染症法の改定により、平成28年4月から位置付けられる感染症発生動向調査における外部精度管理調査の一つとして対応可能と考える。今後さらに調査システムの検討を重ね、継続的かつ安定した外部精度管理調査ができるよう、引き続き実施主体となる民間会社との協力が必要と思われる。

内部精度管理については、標準的検査法を「公衆浴場における衛生等管理要領」で示し、基本となる検査法が全国的に周知、導入されることが重要であり、その対応を急ぐ必要がある。

2) 標準的検査法および研修システム

WG 推奨法は精度の高い検査法である。今後は、現在改訂作業中の ISO 法との調整を行い、「公衆浴場における衛生等管理要領」内で適切に位置付けられることで、全国の検査機関で導入されることにより、適切な内部精度管理実施にも繋がり、その精度が安定すると思われる。このことが、公衆浴場施設の日常の衛生管理対策に繋がり、レジオネラ症発生予防に寄与すると考える。

研修会については、継続的に開催できるよう、実施母体、講師育成、経費等を含めた検討が引き続き必要と思われる。また、より良い研修マニュアル作成に向け検討を重ねる必要があると思われる。一案としては、外部精度管理実施母体において、定期的に研修会が開催できるようになれば理想的であり、このことについても今後の検討課題にしたいと考える。

E. 参考文献

- 1) 森本 洋 他:レジオネラ属菌検査法の現状と今後に向けた検討-レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループの発足及び地方衛生研究所を対象としたレジオネラ属菌検査法アンケート調査結果-, -外部精度管理試料安定化に向けた取り組み-, 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)「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」平成 22 年度総括・分担研究報告書 pp.101-161.
- 2) 森本 洋 他:レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み-, 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)「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」平成 23 年度総括・分担研究報告書 pp.113-134.
- 3) 森本 洋 他:レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み-, 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)「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」平成 24 年度総括・分担研究報告書 pp.93-130.
- 4) 森本 洋 他:レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み-, 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)「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」平成 25 年度総括・分担研究報告書 pp.105-132.
- 5) 森本 洋 他:レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み-, 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)「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」平成 26 年度総括・分担研究報告書 pp.77-101.

F. 研究発表

研修会

- 1) 森本 洋:レジオネラ感染症について、平成 27 年度道央南ブロック保健所試験検査担当者研修会、2015 年 10 月、北海道室蘭市
- 2) 森本 洋:環境水のレジオネラ属菌検査について、平成 27 年度保健所微生物等検査業務担当者研修会、2016 年 2 月、北海道札幌市

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1-1 全判定結果 cfu/100ml

施設No.	非濃縮	ろ過濃縮	遠心濃縮	施設No.	非濃縮	ろ過濃縮	遠心濃縮
15110001001	2900	960	940	15110001021	2600	1400	-
15110001002	1400	65	-	15110001022	3700	1600	-
15110001003	3000	390	-	15110001023	3000	1600	420
15110001004	2900	1100	-	15110001024	1900	1100	-
15110001005	1600	790	-	15110001025	2300	590	-
15110001006	3000	1300	-	15110001026	1100	340	-
15110001007	1100	-	110	15110001027	1900	0	350
15110001008	2500	800	310	15110001028	400	400	-
15110001009	500	19	-	15110001029	1600	910	-
15110001010	100	180	-	15110001030	2300	290	-
15110001011	1700	500	-	15110001031	1700	350	140
15110001012	600	-	270	15110001032	2100	230	190
15110001013	1800	95	-	15110001033	0	0	-
15110001014	1800	260	-	15110001034	650	180	-
15110001015	2200	-	890	15110001035	2000	190	-
15110001016	1000	280	630	15110001036	3100	2200	-
15110001017	2900	600	610	15110001037	1600	900	-
15110001018	1200	160	-	15110001038	680	-	230
15110001019	600	460	-	15110001039	100	240	-
15110001020	1900	640	-	15110001040	470	250	-

表1-2 全判定結果 cfu/100ml

受付No.	非濃縮	ろ過濃縮	遠心濃縮	受付No.	非濃縮	ろ過濃縮	遠心濃縮
15110001041	2400	240	-	15110001061	2000	1500	-
15110001042	700	-	440	15110001062	1400	-	60
15110001043	1900	560	180	15110001063	1800	530	-
15110001044	2500	1100	-	15110001064	2600	600	140
15110001045	2300	500	-	15110001065	2100	1700	-
15110001046	2400	530	270	15110001066	1100	920	-
15110001047	0	110	-	15110001067	1400	600	-
15110001048	4800	3200	-	15110001068	1000	15	80
15110001049	0	0	0				
15110001050	2900	1600	-	平均値	1800	650	310
15110001051	3500	1800	-	最大値	4800	3200	940
15110001052	800	-	130	最小値	0	0	0
15110001053	100	0	-	中央値	1900	500	245
15110001054	2000	470	170	対象機関	68	61	22
15110001055	2800	670	-	良好機関	62(91%)	38(62%)	8(36%)
15110001056	2100	54	-				
15110001057	2100	530	260				
15110001058	370	8	-				
15110001059	3100	190	-				
15110001060	3100	1100	-				

表2 非濃縮及び濃縮試料(ろ過および遠心濃縮両方を実施していた場合そのどちらか)

ともに目標値(良好範囲)を報告した42機関の判定結果 cfu/100ml

施設No.	非濃縮	ろ過濃縮	遠心濃縮	施設No.	非濃縮	ろ過濃縮	遠心濃縮
15110001001	2900	960	940	15110001031	1700	350	(140)
15110001003	3000	390	-	15110001036	3100	2200	-
15110001004	2900	1100	-	15110001037	1600	900	-
15110001005	1600	790	-	15110001042	700	-	440
15110001006	3000	1300	-	15110001043	1900	560	(180)
15110001008	2500	800	310	15110001044	2500	1100	-
15110001011	1700	500	-	15110001045	2300	500	-
15110001015	2200	-	890	15110001046	2400	530	(270)
15110001016	1000	(280)	630	15110001048	4800	3200	-
15110001017	2900	600	610	15110001050	2900	1600	-
15110001019	600	460	-	15110001051	3500	1800	-
15110001020	1900	640	-	15110001054	2000	470	(170)
15110001021	2600	1400	-	15110001055	2800	670	-
15110001022	3700	1600	-	15110001057	2100	530	(260)
15110001023	3000	1600	420	15110001060	3100	1100	-
15110001024	1900	1100	-	15110001061	2000	1500	-
15110001025	2300	590	-	15110001063	1800	530	-
15110001026	1100	340	-	15110001064	2600	600	(140)
15110001027	1900	(0)	350	15110001065	2100	1700	-
15110001028	400	400	-	15110001066	1100	920	-
15110001029	1600	910	-	15110001067	1400	600	-

表3 判定結果(ろ過及び遠心濃縮対応機関) cfu/100ml

施設No.	非濃縮	ろ過濃縮	回収率(%)	遠心濃縮	回収率(%)
15110001001	2900	960	33	940	32
15110001008	2500	800	32	310	12
15110001016	1000	280	28	630	63
15110001017	2900	600	21	610	21
15110001023	3000	1600	53	420	14
15110001027	1900	0	0	350	18
15110001031	1700	350	21	140	8
15110001032	2100	230	11	190	9
15110001043	1900	560	29	180	9
15110001046	2400	530	22	270	11
15110001054	2000	470	24	170	9
15110001049	0	0	-	0	-
15110001057	2100	530	25	260	12
15110001064	2600	600	23	140	5
15110001068	1000	15	2	80	8

平均値	2000	500	23	310	17
最大値	3000	1600	53	940	63
最小値	0	0	0	0	5
中央値	2100	530	24	260	12
対象機関	15	15	14	15	14
良好機関	14(93%)	10(67%)		6(40%)	