

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)  
 公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究  
 平成 29 (2017) 年度分担研究報告書

レジオネラ属菌検査法の標準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
研究協力者	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
	倉 文明	国立感染症研究所
	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
	平塚 貴大	広島県立総合技術研究所
	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
	前川 純子	国立感染症研究所

研究要旨

レジオネラ属菌検査法の標準化を目的とし、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。

外部精度管理はWGサポートのもと、2015年度以降、実施母体を日水製薬株式会社とし、2017年度は公的、民間を問わず全国173の検査機関(延べ176試料配付)に対し行われた。配付試料については、信頼性においてメーカーにより品質と多施設への発送が保証されることから、ビオメリー社のBioBall(特注品)を使用した。検査法については、配付試料がより安定した性能を維持できる範囲内で、検査工程のどの部分に重きを置くかの定義付けを行い、一部指定した。研究班への協力機関として参加した地方衛生研究所等71機関については、WGにおいても独自に集計・解析を実施し、2015、16年度の結果とも比較した。3年連続参加した機関は58機関あり、そのうち今年度目標良好範囲外の結果を報告した16機関中4機関は3年連続で同様の結果を報告し、7機関は3回の外部精度管理中2回目標良好範囲外を報告していた。これらのことから、特定のいく

つかの機関については、特に検査手技の再確認が必要と思われた。以上のことから、本外部精度管理は、検査手技の安定性を確認し、不安定な機関へ検査手技の検証を促すことができる方法であり、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連携が必要と思われる。標準的検査法については、現在WGが推奨している方法と改訂されたISO法との調整を行った結果、現時点ではこれまでのWG推奨法が最も適当に対応できる方法と思われた。今後は、目的別に応じた検査法の提示のしかたを協議し、「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よう検討を進めていく。

#### A. 研究目的

レジオネラ属菌検査法の標準化を目的とし、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>

2015年度以降、実施母体を日水製薬株式会社(以下、日水製薬)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が実施された。

まず2017年6月中旬に日水製薬より「参加募集案内文、参加要件、指定法」(別紙参照)が示され参加募集が行われ、9月29日(金)に締め切られた。その後、10月16日(月)に試料、試料送付案内及び試料受領書兼承諾書(別紙参照)が参加者に向け発送された。回答期限は11月17日(金)17時に指定された。解析結果は、2018年1月31日(水)より、検査実施者が専用ホームページから個別のIDとパスワード(以下PW)によりログインし閲覧可能となることが案内で示された。

##### <参加機関>

全国173の検査機関(延べ176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等71機関が参加した。

##### <配付試料>

信頼性においてメーカーにより品質と多施設への発送が保証されることから、例年通りビオメリュー社のBioBall(特注品)を使用した。

##### <検査法>

配付試料がより安定した性能を維持できる範囲内で、検査工程のどの部分に重きを置くかの定義付けを行い、一部指定した(別紙サーベイ指定法参照)。

##### <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た。地方衛生研究所等71機関については、WGにおいても独自に集計・解析を実施し、2015、16年度の結果とも比較した。なお報告値について、WGでは2013年度から実施している研究報告と同じ換算値として集計することとした<sup>1-4)</sup>。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(非濃縮試料①は×100、非濃縮試料②は×1000)を乗じたのち、小数第一位を四捨五入した数値を表示した。

本調査での目標良好範囲は、以下のように設定した。メーカー保証による95%信頼区間

(下限値 8119.8cfu/Ball、上限値 24432.2 cfu/Ball)をレジオネラ属菌検査で使用される、検体 100ml 中の cfu(colony forming unit)に換算すると、下限値 1623.96、上限値 4886.44 cfu/100ml となる。例えば、非濃縮検体においては、分離平板上の1集落を 1000cfu/100mlと換算することから、結果は 1000cfu の整数倍となる。このことを勘案し、前述の 100ml 中の cfu を下限値については 100 の位を切り捨て、上限値については切り上げ 1000 ~ 5000cfu/100ml と補正した。さらにこの範囲に対し、国内における食品衛生外部精度管理で実績のある一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が統計処理で行っている「Xbar 管理図における管理線を理化学調査では添加量の 70%および 120%、微生物学調査では全体の平均値の 30%および 300%」という考え方を参考に、本外部精度管理では、「メーカー保証されてい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、本外部精度管理においては、目標良好範囲を 300~15000cfu/100mlとして設定することとした。

なお、本年度は参考的に回収率についても解析した。目標とした回収率は、昨年度の外部精度管理で報告を求めたすべての試料(非濃縮①、②、濃縮)において目標良好範囲を報告し、かつ非濃縮の菌数が濃縮の菌数以上を報告した機関のうち、80%以上の機関がクリアしていた 20%とした。

日水製薬で行った全国の結果集計・解析は、2018年1月31日(水)、検査実施者が専用ホームページから個別の ID と PW 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った。

## 2) 標準的検査法および研修システム

現在 WG が推奨している方法<sup>1, 5)</sup>と平成 29 年 5 月に改訂された ISO 法との調整を行い、改訂版 WG 標準的検査法が提示できるよう検討した。また、外部精度管理に参加した施設を対象に日水製薬主催で開催されたレジオネラ属菌検査セミナー(別紙参照)において、WG 推奨法の普及に努めた。研修システムについては、WG 内でこれまでの課題について改めて検討した。

## C. 研究結果及び考察

### 1) 精度管理

WG が集計した地方衛生研究所 71 機関の全判定結果を表 1 に、2015~17 年度の結果概要(良好施設比較)を表 2 に示した。今年度 300~15000cfu/100ml の目標良好範囲を報告した機関は、非濃縮試料①では回答のあった 70 機関中 69 機関(約 99%)、非濃縮試料②では 70 機関中 65 機関(約 93%)、ろ過濃縮試料では 65 機関中 49 機関(約 75%)、遠心濃縮試料では 5 機関中 4 機関(約 80%)であった。一方、それぞれの検査項目でレジオネラ属菌を検出できなかった機関もあった。非濃縮①、②では、平均値、中央値において有意な差はなく、昨年度同様ともに 90%以上の機関が目標値(良好範囲)を報告していた。濃縮試料において、ろ過濃縮では、昨年度良好範囲報告約 77%に対し本年度約 75%とほぼ変わらない結果であった。一方、遠心濃縮では、実施した機関数が少なかった(5 機関)が、目標良好範囲報告 80%であり、2015 年度(約 36%)、2016 年度(約 56%)と比較し、非常に高い結果であった。参考値として報告を求めた選択分離培地による結果では、検査を実施した 69 機関中

63 機関(約 91%)が目標良好範囲を報告していた。しかしながら、非選択分離培地である BCYE  $\alpha$  培地の結果と比較すると、報告菌数が平均値で約 53%、中央値で約 57%低い報告値となっており、昨年度も同様の傾向が認められた。このことは、選択分離培地による供試菌に対する発育抑制があったと考えられ、過去にも WG で報告している<sup>1, 5-7)</sup>。

表 3 に 2015~17 年度の結果判定一覧を示した。参加機関は、2015 年度 67 機関、2016、17 年度 71 機関、3 年連続で参加した機関は 58 機関であった。58 機関のうち今年度目標良好範囲外の結果を報告した 16 機関中 4 機関は 3 年連続で同様の結果を報告し、7 機関は 3 回の外部精度管理中 2 回目標良好範囲外を報告していた。これらのことから、特定のいくつかの機関については、特に検査手技の再確認が必要と思われた。外部精度管理の結果は、検査機関の良し悪しを判断するためのものではなく、その時の結果を次に生かすためのものである。目標良好範囲を報告した機関は、安定した検査環境を継続すること、目標良好範囲外の結果を報告した機関は検査法の再確認を行うこと、それぞれの立場に立った認識と対応が必要である。特に 3 年連続で目標良好範囲外の結果を報告した機関は、改めて検査手技を再確認する必要があると思われた。

以上のことから、本外部精度管理は、検査手技の安定性を確認し、不安定な機関へ手技の検証を促すことができる方法であることが確認された。

次に参考値として算出した回収率について表 4 に示した。日水製薬による外部精度管理では、非濃縮試料②が 100 倍濃縮のスタート試料だったことから、非濃縮②の結果を分母として回収率を算出し、参考値として報告された

が、ここでは非濃縮①を分母とした場合も算出した。目標回収率 20%をクリアしたのは、非濃縮①を分母とした場合、全 71 機関のうち有効回答(非回答 1 機関を除く)のあった 70 機関中 45 機関(約 64%)、非濃縮②を分母とした場合、有効回答(非回答 1 機関、非検出 3 機関、濃縮後菌数が濃縮前菌数を上回った 1 機関を除く)のあった 66 機関中 37 機関(約 56%)であった。また両試料を分母とした場合では、両試料で有効回答のあった 66 機関(前述非濃縮②と同)中 34 機関(約 52%)が目標回収率をクリアしていたが、半数近くの機関がその回収率を下回る結果となった。WG では、これまでも試料を濃縮した際のレジオネラ属菌の効率的な回収について報告してきたところである<sup>1, 5)</sup>。しかしながら、回収率については検査機関ごとで差がある、あるいは同一の検査機関であっても安定しない場合がある、など今後も検討が必要な事項である。その不安定となる要因は、各検査機関で異なると考えられ、内部精度管理により自施設の実態把握に努めることが肝要である。今回目標として設定した回収率 20%は、数値だけでみると低い回収率に思われるが、レジオネラ属菌の検査においては、前述のとおり各項目において半数近くの機関がクリアできていない数値であること、また計算上では 50CFU/100mL のレジオネラ属菌数の試料まで定性的に確認できる数値であることから、目標としては適当な回収率であると思われる。引き続き WG 内でも回収率の向上と安定に向け検討したいと考える。なお、非濃縮①と②の試料間で回収率に差が認められた要因の一つに、両試料間での報告菌数に有意な差が認められた機関が複数あったことが挙げられる。

ここまでの結果を解析した結果、以下の項

目に該当する検査機関(非回答 1 機関を除く 70 機関中 36 機関:重複項目機関あり)は、検査手技を再確認する必要があると思われた。

- ・非濃縮試料①で目標良好範囲外を報告した 1 機関。

- ・非濃縮試料②で目標良好範囲外を報告した 5 機関(3 機関はレジオネラ属菌非検出)。

- ・ろ過濃縮で目標良好範囲外を報告した 16 機関(1 機関はレジオネラ属菌非検出)。

- ・遠心濃縮で目標良好範囲外を報告した 1 機関。

- ・非濃縮及び濃縮試料で目標良好範囲外を報告した 11 機関。

- ・3 年連続で目標良好範囲外の結果を報告した 4 機関。

- ・本年度目標良好範囲外を報告し、3 回の外部精度管理中 2 回目標良好範囲外を報告した 7 機関。

- ・回収率が低かった機関(目標良好範囲菌数を報告していたが回収率が低かった機関も含む。低回収率参考値:20%未満)。

- ・非濃縮①と②で報告菌数が大きく異なっていた機関。

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検査工程等が結果へ影響し、菌数減少の原因となるので丁寧な検査対応が必要である。また 3 年連続で良好範囲外の結果を報告していた 4 機関は、試料の混ぜ方、培地の状態、5 枚の培地への各接種量が安定していたか、コンラージの力加減、濃縮操作等、改めて検査工程を見直し検証する必要があると思われる。

## 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。

- ・ISO 11731:1998(E)を基本とした新版レジオネラ症防止指針収載の方法(公衆浴場における衛生等管理要領で参照とされている方法)をベースに検討。

- ・検査結果のバラツキを無くす方法。

- ・分離培地に発育したレジオネラ属菌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。中でも非濃縮試料の検査実施については、外部精度管理結果からもその重要性が改めて示唆された。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求められる場合がある。レジオネラ症防止指針-第3版、第4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。

そのような中、2017 年 5 月に ISO 11731 の改訂がなされ、WG 推奨法との調整を行うこととなった。改訂版 ISO では、レジオネラ属菌の検査工程において、以下の 4 つの手順選択が

示された。手順の選択 1:検査試料について、雑菌が少ない、多い、極めて多い。さらに、レジオネラ属菌が多い場合と少ない場合。手順の選択 2:濃縮について、非濃縮、フィルター貼付、ろ過濃縮。手順の選択 3:前処理について、未処理、熱処理、酸処理、熱/酸処理。手順の選択 4:培地について、非選択培地、選択培地、高度選択培地。これら手順の選択 1~4 を、検査試料の状況に応じ、該当する必要項目を選択し、検査を進めて行く流れとなっている。これを日本の浴槽水検査に当てはめてみると、手順の選択 1 において、改訂 ISO の例示では、雑菌が少ない試料として水道水、多い試料として冷却塔水、極めて多い試料として工業用廃水としているが、浴槽水をどこに当てはめるのが妥当なのか判断が難しい状況であった。一般的に、事前に浴槽水の雑菌量を把握することは大変難しく、ここで項目を選択することは極めて困難である。さらにレジオネラ属菌量を事前に推定するのも一般的には極めて困難である。このため、その後進めて行く手順の選択 2~4 の必要項目を選ぶことも難しい状況である。さらに、手順の選択 4 における選択培地は日本では一般的ではなく、対応が難しい(非選択培地:BCYE  $\alpha$ 、高度選択培地:GVPC、MWY、WYO  $\alpha$  等)。以上のことから、現状、日本における浴槽水のレジオネラ属菌検査においては、改訂 ISO に準拠した方法で対応するのは難しいと思われた。一方で、国際的な流れから大きく外れるのは問題がある。これらのことを踏まえ WG 推奨法との調整を行った結果、WG 推奨法が ISO 11731:1998(E)を基本とした新版レジオネラ症防止指針収載の方法(公衆浴場における衛生等管理要領で参照とされている方法)をベースに検討してきた方法であり、国際的な流れのポイントを押さえ

ていること、検査試料中のレジオネラ属菌数を予測できないので、濃縮検体と非濃縮検体を同時に検査するとしていること、改訂 ISO 同様、ろ過濃縮方法を中心に検討していること、以上のことから、標準的な検査方法として適当な方法であると思われた。今後は、WG 推奨法について目的別に応じた提示のしかたを協議し、「公衆浴場における衛生等管理要領」で標準的検査法として提示できるよう検討を進めていく予定である。

研修については、日水製薬主催で開催されたレジオネラ属菌検査セミナーに 3 年連続参加し、WG 推奨法の普及に努めた。しかしながら、座学のみであることから、毎年実習を伴った研修会についての要望を耳にしている。これまでも、公的、民間等対象となる検査機関を区別することなく、実習を伴った研修会を開催するための検討がWG内でなされているが、主催者、場所、条件、予算、講師の養成等クリアすべき課題が多く、目立った進展が見られていない。このことについては、本研究班において解決策を見出すのは困難と思われ、研究班内外からの幅広い意見を求め方策を検討していかなければならないと考える。

## D. 結論

### 1) 精度管理

2015 年度以降、外部精度管理調査実施主体を民間会社とし、官民間わず幅広い調査を試みた。これにより、感染症法の検査対象となる病原体を用いた、全国規模での外部精度管理調査(積極的疫学調査における環境調査)の一モデルを示すことができたと思われる。また 3 年連続して参加した検査機関のデータ解析から、本外部精度管理は、検査手技の安定

性を確認し、不安定な機関へ検査手技の検証を促すことができる方法であることが確認された。このことから、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連携が必要と思われる。

内部精度管理については、まずは標準的検査法を「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

現在 WG が推奨している方法と改訂された ISO 法との調整を行った結果、現時点ではこれまでの WG 推奨法が最も適切に対応できる方法と思われた。今後は、目的別に応じた検査法の提示のしかたを協議し、「公衆浴場における衛生等管理要領」で標準的検査法として提示できるよう検討を進めていく予定である。

研修会については、実施母体、講師養成、経費等を含めクリアすべき課題が多く、本研究班において解決策を見出すのは困難と思われ、研究班内外からの幅広い意見を求め方策を検討していかなければならないと考える。

## 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.

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)「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.

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)「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 年度総括・分担研究報告書 pp.71-95.

4) 森本 洋 他:レジオネラ属菌検査法の標準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)「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成 28 年度総括・分担研究報告書 pp.85-104.

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)「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.

6) 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.

7) 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.

#### F. 研究発表

##### 研修会

- 1) 森本 洋:レジオネラ感染症とその衛生対策について、平成 29 年度 道南獣医師会公衆衛生講習会、2018 年 2 月、北海道
- 2) 森本 洋:レジオネラ属菌培養検査について、2017 年度レジオネラ属菌検査セミナー、2018 年 3 月、東京

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



表1 全判定結果 cfu/100ml

施設No.	非濃縮①	非濃縮①*	非濃縮②	ろ過濃縮	遠心濃縮	施設No.	非濃縮①	非濃縮①*	非濃縮②	ろ過濃縮	遠心濃縮
1	3080	2420	3000	1964		41	860	150	1200	0	
2	880	700	140	60		42	3000	1000	800	860	
3	1140	450	800	84		43	2700	1400	2000	170	
4	1120	425	400		384	44	2360	1400	2400	604	
5	500	700	1000	80		45	2880	500	4200	1076	
6	1800	800	1800	520		46	3300	1600	2600	350	
7	1700	1000	3600	580		47	2180	1000	2800		750
8	2600	1600	3000	600		48	4320	1425	3400	1684	
9	1120	350	1200		200	49	1840	750	1800	32	
10	4220	2750	3600	624		50	920	330	800	330	
11	5780	4250	3200		1660	51	4760	2800	13800	748	
12	920	520	400	310		52	440	400	0		416
13	1440	450	1000	160		53	非回答	非回答	非回答	非回答	
14	6700	2100	5000	100		54	3940	1480	8600	430	
15	4300	1650	5000	792		55	4000	1700	4800	920	
16	2600	2400	2400	1900		56	300	0	0	188	
17	2860	1660	2000	664		57	860	680	200	8	
18	3160	1330	2000	1010		58	4520	1230	2800	1118	
19	1680	450	1000	708		59	1900	630	2000	950	
20	2660	1800	4200	682		60	1800	800	2000	930	
21	2940	600	2400	496		61	1080	280	1000	612	
22	2320	1100	2800	974		62	340	500	400	42	
23	4040	675	3800	852		63	1000	500	800	500	
24	1120	550	1800	62		64	3000	1400	2200	1230	
25	4500	1400	3200	280		65	3000	非回答	3000	1450	
26	1600	900	1400	630		66	2420	900	2200	382	
27	2760	1750	3200	778		67	3700	1400	4200	1200	
28	3800	1470	4800	390		68	2320	1350	3600	472	
29	60	25	0	18		69	1600	700	1000	340	
30	7800	4800	7000	1600		70	5980	3550	4400	2372	
31	3240	3000	5000	710		71	1980	1050	1800	374	
32	3600	900	3000	800							
33	4900	2900	6000	1090							
34	360	50	600	180		平均値	2534	1207	2613	640	682
35	3500	1050	2800	330		最大値	7800	4800	13800	2372	1660
36	2720	575	3400	1110		最小値	60	0	0	0	200
37	1940	1175	3000	456		中央値	2390	1000	2300	580	416
38	1340	700	1600	418		対象機関	70	69	70	65	5
39	820	900	1200	146		良好機関	69(99%)	63(91%)	65(93%)	49(75%)	4(80%)
40	460	50	400	38							

表2 2015～2017年度の結果概要

	2015	2016	2017
非濃縮①	91 (62/68)	97 (68/70)	99 (69/70)
非濃縮②	—	94 (66/70)	93 (65/70)
ろ過濃縮	62 (38/61)	77 (47/61)	75 (49/65)
遠心濃縮	36 (8/22)	56 (5/9)	80 (4/5)

%(良好施設数/参加施設数)

表3 2015、16、17年度結果判定一覧(2015/2016/2017、良好範囲※○、範囲外\*、検査項目外又は不参加—)

施設No.	非濃縮①	非濃縮②	ろ過濃縮	遠心濃縮	施設No.	非濃縮①	非濃縮②	ろ過濃縮	遠心濃縮
1	○/○/○	-/○/○	○/○/○	○/—/—	37	○/○/○	-/○/○	* / ○ / ○	
2	-/—/○	-/—/ *	-/—/ *		38	-/—/○	-/—/○	-/—/○	
3	-/○/○	-/○/○	-/—/ *	-/ * /—	39	* / ○ / ○	-/○/○	* / ○ / *	
4	-/○/○	-/○/○		-/ * /○	40	○/○/○	-/○/○	○/○/ *	* /—/—
5	○/○/○	-/○/○	○/○/ *		41	* / * / ○	-/○/○	* / * / *	
6	○/○/○	-/○/○	○/○/○		42	○/○/○	-/○/○	○/○/○	
7	○/○/○	-/○/○	○/○/○		43	○/○/○	-/○/○	* / ○ / *	
8	○/○/○	-/○/○	○/○/○		44	○/○/○	-/○/○	-/—/○	* / * /—
9	○/○/○	-/○/○		* / ○ / *	45	○/—/○	-/—/○	○/—/○	
10	○/○/○	-/○/○	○/○/ *		46	○/○/○	-/○/○	* / ○ / ○	
11	○/○/○	-/○/○	○/—/—	○/○/○	47	-/—/○	-/—/○		-/—/○
12	○/○/○	-/○/○	○/○/○		48	○/○/○	-/○/○	○/○/○	
13	○/○/○	-/○/○	○/○/ *		49	* / ○ / ○	-/○/○	* / ○ / *	
14	○/○/○	-/○/○	* / * / *		50	○/○/○	-/○/○	○/○/○	* /—/—
15	○/○/○	-/○/○	* / ○ / ○	○/—/—	51	○/○/○	-/○/○	○/ * / ○	
16	-/○/○	-/○/○	-/○/○		52	-/○/○	-/○/ *		-/ * / ○
17	○/○/○	-/○/○	-/—/○	* / ○ /—	53	○/○/非	-/○/非	○/○/—	* /—/非
18	-/○/○	-/○/○	-/○/○		54	-/—/○	-/—/○	-/—/○	
19	○/○/○	-/○/○	○/○/○		55	○/○/○	-/○/○	○/○/○	
20	○/○/○	-/○/○	○/○/○		56	○/○/○	-/○/ *	* / * / *	
21	○/○/○	-/○/○	* / ○ / ○		57	* / ○ / ○	-/○/ *	* / ○ / *	* /—/—
22	○/○/○	-/○/○	○/○/○		58	○/○/○	-/○/○	○/○/○	
23	○/○/○	-/○/○	○/○/○		59	○/○/○	-/○/○	○/○/○	
24	* / ○ / ○	-/ * / ○	* / * / *		60	○/○/○	-/○/○	○/○/○	* /—/—
25	○/○/○	-/○/○	○/○/ *	○/—/—	61	○/○/○	-/○/○	-/○/○	* /—/—
26	○/○/○	-/○/○	○/○/○		62	○/○/○	-/○/○	* / ○ / *	* /—/—
27	○/○/○	-/○/○	* / * / ○		63	○/○/○	-/○/○	* / ○ / ○	
28	-/—/○	-/—/○	-/—/○		64	○/○/○	-/○/○	* / ○ / ○	
29	-/—/ *	-/—/ *	-/—/ *		65	○/—/○	-/—/○	-/—/○	
30	○/○/○	-/○/○	○/○/○		66	○/○/○	-/○/○	-/○/○	
31	○/○/○	-/○/○	○/○/○	○/—/—	67	○/○/○	-/○/○	-/ * / ○	* /—/—
32	○/○/○	-/ * / ○	* / * / ○		68	○/○/○	-/○/○	○/ * / ○	
33	○/○/○	-/ * / ○	○/ * / ○		69	○/○/○	-/○/○	-/○/○	* /—/—
34	○/○/○	-/○/○	○/○/ *	* /—/—	70	○/○/○	-/○/○	-/○/○	
35	○/○/○	-/○/○	* / * / ○		71	○/○/○	-/○/○	○/ * / ○	
36	○/○/○	-/○/○	* / ○ / ○	* /—/—					

非:非回答 ※ 厚労科研WGによる判定基準による

表4 全施設の回収率(%)

施設No.	分母 非濃縮①	分母 非濃縮②	施設No.	分母 非濃縮①	分母 非濃縮②	施設No.	分母 非濃縮①	分母 非濃縮②
1	63.8	65.5	25	6.2	8.8	49	1.7	1.8
2	6.8	42.9	26	39.4	45	50	35.9	41.3
3	7.4	10.5	27	28.2	24.3	51	15.7	5.4
4	96	96	28	10.3	8.1	52	94.5	-
5	16	8	29	30	-	53	非回答	非回答
6	28.9	28.9	30	20.5	22.9	54	10.9	5
7	34.1	16.1	31	21.9	14.2	55	23	19.2
8	23	20	32	22.2	26.7	56	62.7	-
9	17.9	16.7	33	22.2	18.2	57	0.9	4
10	14.8	17.3	34	50	30	58	24.7	39.9
11	27.7	51.9	35	9.4	11.8	59	50	47.5
12	33.7	77.5	36	40.8	32.6	60	51.7	46.5
13	11.1	16	37	23.5	15.2	61	56.7	61.2
14	1.5	2	38	31.2	26.1	62	12.4	10.5
15	18.4	15.8	39	17.8	12.2	63	50	62.5
16	73.1	79.2	40	8.3	9.5	64	41	55.9
17	23.2	33.2	41	0	0	65	48.3	48.3
18	32	50.5	42	28.7	107.5	66	15.8	17.4
19	42.1	70.8	43	6.3	8.5	67	32.4	28.6
20	25.6	16.2	44	25.6	25.2	68	20.3	13.1
21	16.9	20.1	45	37.4	25.6	69	21.3	34
22	42	34.8	46	10.6	13.5	70	39.7	53.9
23	21.1	22.4	47	34.4	26.8	71	18.9	20.8
24	5.5	3.4	48	39	49.5			

レジオネラ属菌検査実施施設様各位

## 2017年度 レジオネラ属菌検査精度管理サーベイのご案内

日頃は弊社製品のご愛顧を賜り厚く御礼申し上げます。

さて、この度レジオネラ属菌検査を実施されている施設様を対象に、下記の要領で「2017年度 レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ」を実施致します。

日常の検査精度の確認のため、奮ってご参加いただきますようお願い申し上げます。

### ■参加要件

別紙 1.「参加要件」を満たし、かつ、別紙 2.「2017 年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法」(参考：厚生労働省レジオネラ属菌検査推奨法 / ISO11731:1998 / ISO 11731:2017) による検査対応が可能なお施設様

### ■実施概要

検査試料	レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ試料（凍結乾燥品、-18～-33℃保存） 同封書類：①試料送付のご案内、②試料の使用・操作手順、③結果記入用メモ、④試料受領書兼承諾書
実施方法について	「2017年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法」に従って実施お願いします（参照：別紙2）。 2017年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法は、「ISO 11731:1998」の考え方を基本として平成23年度より検討されている「厚生労働省科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業」（以下、レジオネラ研究事業）において報告された方法に基づき、また「ISO 11731:2017」を参考に、本精度管理サーベイ用に変法したものです。
参加費	1セット 25,000円（消費税別）
参加募集数	300セット（募集数に達し次第、締め切らせていただきますのでご了承ください。）

### ■実施スケジュール（予定）

6月中旬	参加募集開始 ●弊社コスモ会ホームページ( <a href="https://cosmokai.com">https://cosmokai.com</a> )の2017年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ申込フォームから申込手順に従いお申しください。 ●1施設複数名のお申込みも可能です。検査試料はそれぞれの試験実施者様へお送りさせていただきます。
9月29日（金）	参加募集締切
10月16日（月）	試料発送 ●検査試料到着後は直ちに-18～-33℃で保管願います。
10月31日（火）	請求書送付 ●請求書はお申込み者様へ一括でお送りさせていただきます。
10月17日（火）～ 11月17日（金）	検査実施 ●弊社コスモ会ホームページ( <a href="https://cosmokai.com">https://cosmokai.com</a> )にてIDとパスワードでログイン後、結果を入力していただきます。 ●成績入力方法は検査試料に同封の資料を参照してください。
11月17日（金）17時	回答締切
12月31日（日）	参加費お支払い期限 ●振込用紙をご利用いただくか、弊社指定の口座にお振り込みいただけます。なお、振込手数料は貴施設ご負担をお願い致します。銀行振り込みの控えをもって領収書とさせていただきます。
1月31日（水）	解析結果返却 ●弊社コスモ会ホームページ( <a href="https://cosmokai.com">https://cosmokai.com</a> )にてID番号とパスワードでログイン後、結果を表示・ダウンロードができます。

### ■問い合わせ先

日水製薬株式会社 レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ事務局  
〒110-8736 東京都台東区上野3丁目23番9号  
TEL：03-5846-5729 FAX:03-5846-5629  
E-mail: legi-srvy@nissui-pharm.jp

# 参加要件

2017年6月吉日

日水製薬株式会社

レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ事務局

下記の 1. 使用要件、2. 使用承諾、および 3. 注意事項について了承頂けるご施設様に参加をお願いいたします。

## 1. 使用要件

### 1) 病原体のバイオセーフティーレベル(以下 BSL)規定について

「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」では、病原体を病原性の最も高いものを一種病原体として、四種病原体まで規定しています。

また、病原体の規定とは別に、病原体の取扱者に対しての感染被害などの健康影響に基づき、BSL が規定されています。この BSL にも基づき、最も低リスクの病原体を扱うリスク群を BSL1 として、BSL4 までのリスク群を規定しています。

本菌種は BSL2 に分類されます。BSL2 の微生物に対して設備・技術に対する要件を以下に記載いたします。

### 2) 施設要件

1. 実験室内に、適切に管理された微生物試験を行う管理区域を有すること。管理区域の出入口にはバイオハザードマークを標示すること。
2. 管理区域の出入口及び病原体保管庫は施錠が出来る構造であること。保管設備にはバイオハザードマークを標示すること。
3. 消毒用の薬剤が常備されており、壁・床等の消毒が可能であること。
4. 管理区域内もしくは実験施設内に、高圧蒸気滅菌装置、もしくはそれに準ずる滅菌設備を有すること。
5. 本サーベイでは、検査工程上エアロゾル発生の危険があることから、生物学用安全キャビネットが必要です。

### 3) 作業従事者要件

作業従事者に求められる基本的な要件について以下に記載します。

1. 1年に1回以上、病原体に関するセキュリティ及びセーフティに関して教育を受けていること。
2. 1の要件を満たさない場合には、微生物試験に習熟しており十分な知識・技能を有すること。あるいは微生物試験に習熟した人の指導のもとで試験を行うこと。

## 2. 精度管理サーベイ試料の使用承諾

1. 試料は、精度管理サーベイの目的以外には使用しません。
2. 試料は、使用要件及び検査実施上の注意事項を厳守し使用します。
3. 試料及び使用後の容器類は、検査終了後、直ちに滅菌してから廃棄し、他への分与・放置・保存はしません。
4. 直接または間接的に発生する全ての出費・行動・環境汚染・健康被害・その他損失については、日水製薬株式会社の責に基づく過失により発生した場合を除き、いかなる場合においても日水製薬株式会社は責任を負いません。
5. 使用者は、菌種の所持・使用に関する日本国内で適用される全ての法令・条例及び規則を順守する責任を負うことに同意します。

## 3. 注意事項

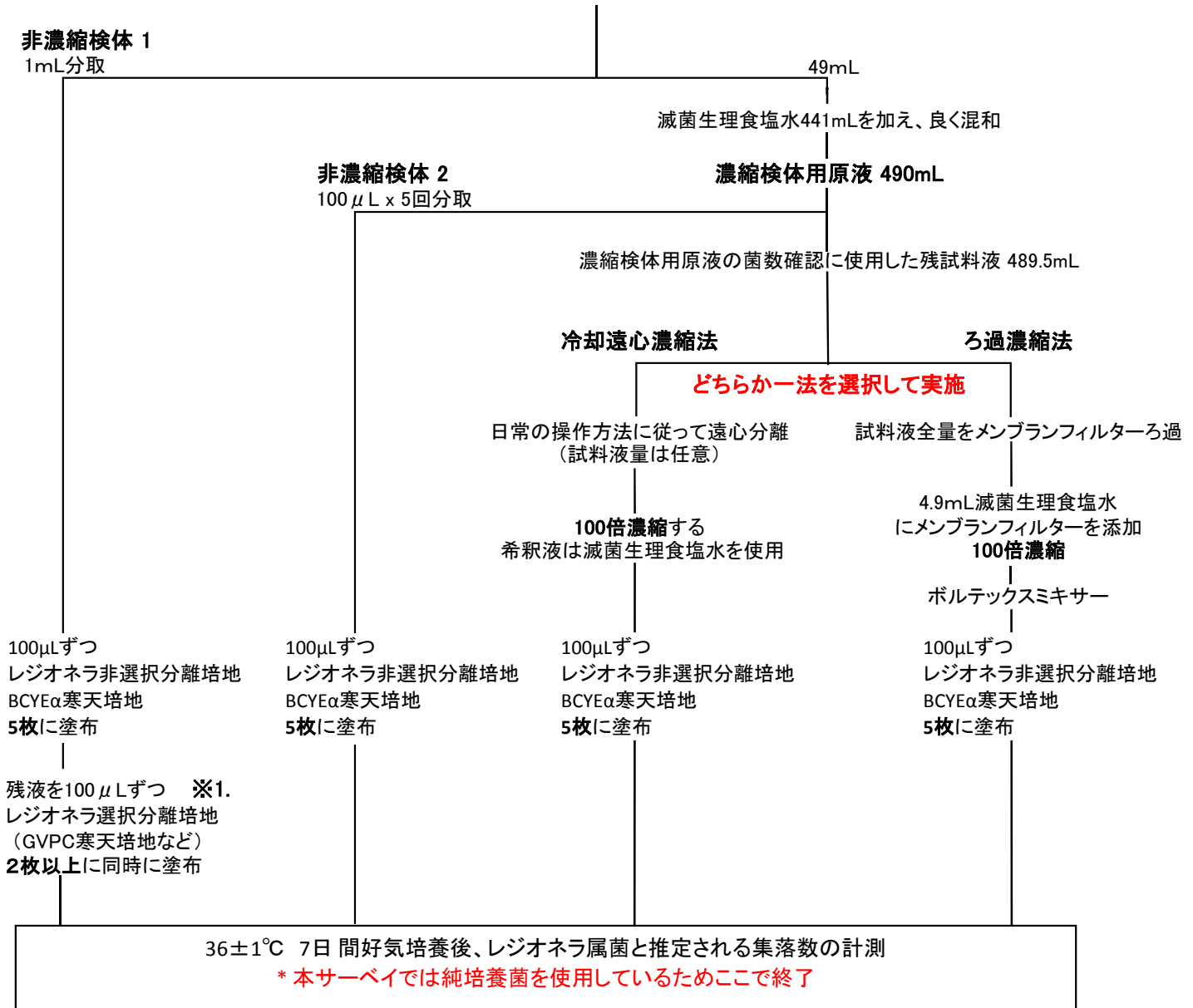
予告なく実施スケジュールが変更となることがあります。変更後のスケジュールは、メール等にてご連絡をいたします。

以上

## 2017年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法

(参考：厚生科研費レジオネラ属菌検査推奨法 / ISO11731:1998 / ISO 11731:2017)

500mL以上の容器に入れた滅菌生理食塩水50mLに、精度管理サーベイ試料1バイアルを加え良く混和



■ 2017年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法は、“ISO 11731:1998”の考え方を基本として平成23年度より検討されている「厚生労働省科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業」(以下、レジオネラ研究事業)において報告された方法に基づき、また“ISO 11731:2017”を参考に、本精度管理サーベイ用に変法したものです。

■ 本精度管理サーベイ試料は、平成26年度のレジオネラ研究事業において、加熱処理または酸処理によるダメージにより菌数が極端に減少することが報告されています。2017年度サーベイにおいては、濃縮操作法や培地接種操作などの手技の精度確認に主眼を置くこととし、日常検査において濃縮加熱処理もしくは酸処理を実施している施設におかれましても、上記指定法に従って行った検査法での結果の報告をお願いします。

■ 指定法に記載されていない手技、使用器材(例：冷却遠心濃縮液量、メンブランフィルター材質、培地メーカー、レジオネラ選択分離培地の種類、など)は、各施設の操作方法で行ってください。

■ 各法におけるレジオネラ属菌数は、レジオネラ非選択分離培地BCYEα寒天培地から得られた集落数から算出し、報告してください。

※1. 日常の試験にレジオネラ選択分離培地を使用している施設におきましては、参考値として、同培地における集落数も計測してください。なお、レジオネラ研究事業において、レジオネラ選択分離培地における集落数は、組成中の選択剤による影響等により、レジオネラ非選択分離培地における集落数に比べ減少することが報告されています。

## 2017年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

## 試料送付のご案内

謹啓

日頃は弊社製品をご愛顧賜り厚く御礼申し上げます。

この度は、2017年度レジオネラ属菌細菌検査精度管理サーベイにお申し込み頂きましてありがとうございます。精度管理サーベイ試料を送付させていただきますのでご査収のほど、よろしくお願ひ申し上げます。

謹白

記

## 1. 送付内容一覧

- ・ 試料送付のご案内（本案内状）
- ・ 試験概要・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・6枚
- ・ 結果記入用メモ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・4枚
- ・ 試料受諾書兼承諾書・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1枚
- ・ 精度管理サーベイ試料A（瓶ラベルに「A」と記載）・・・・・・・・1本

**\* 到着後直ちにマイナス18℃～マイナス33℃で適切に保管してください。**  
**\* 到着後直ちに内容を確認し、書類の不備や精度管理サーベイ試料Aの破損等を認めた場合、レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ事務局にご連絡ください。**

## 2. 結果入力手順

- 1) 結果の記入は、コスモ会HP (<https://cosmokai.com/>) より「レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ」専用HPをクリックし、IDとPW（別送ハガキ参照）を入力してログインしてください。
- 2) 登録画面が表示されますので、ご登録内容をご確認ください。ご確認後は、ページの下にあります【変更なし データ入力画面へ進む】をクリックしてください。
- 3) データ入力画面に進み結果の入力が完了したら、ページの下にあります【入力内容を確認】をクリックし入力内容を確認してください。入力に間違いがなければ、ページの下にあります【送信】をクリックしてください。

注意：同じ PC で複数の方が入力・確認を行う際には、ユーザー毎に作業完了後、一度ブラウザを全て閉じ、再度結果入力画面にアクセスし、ログインしてください。  
表示されている内容が試験担当者ご本人のものであるかご確認ください。

## 3. スケジュール

期 日	内 容
10/17(火)～18(水)	<b>■精度管理試料到着</b> <b>精度管理サーベイ試料</b> が到着します。送付内容を確認してください。
11/17(金) 17時	<b>■回答締切</b> 検査を実施し、上記結果入力手順に沿って結果の入力をお願いいたします。 回答期限を11/17(金) 17時とさせていただきます。
1月31日(水)	<b>■解析結果開示</b> 解析結果はコスモ会HP ( <a href="https://cosmokai.com/">https://cosmokai.com/</a> ) より「レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ」専用HPをクリックし、IDとPWを入力後、試験実施者様の画面にて解析結果の閲覧・印刷ができます。

## 4. お問い合わせ先

日水製薬株式会社

レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ事務局

TEL：03-5846-5729

FAX：03-5846-5629

E-mail：[legi-srvy@nissui-pharm.jp](mailto:legi-srvy@nissui-pharm.jp)

2017 年 10 月 16 日

日水製薬株式会社

2017 年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

試料受領書兼承諾書

今回使用する菌株は、バイオセーフティーレベル 2 に該当する菌種ですので、レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ試料受領書兼承諾書を以て、サーベイ試料受領と菌株取扱いに関する承諾の確認とさせていただきます。

精度管理サーベイ試料の内容をご確認いただき、下記サーベイ試料受領書兼承諾書に必要事項をご記入のうえ、10 月 19 日(木)までに、レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ事務局宛に FAX してください。

FAX:03-5846-5629

日水製薬株式会社 レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ事務局 宛

レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ試料受領書兼承諾書

受領日： 2017 年 10 月 日

貴社名
ご所属部署
ご担当者名 <span style="float: right;">(印)</span>
ID 番号 <small>注</small>

注:弊社より、別途送付したはがきに記載した ID 番号をご記入ください。

本サーベイ試料の取扱いについては、バイオハザード防止のために以下のことを確認、承諾いたします。

1. 試料は、精度管理サーベイの目的以外には使用しません。
2. 試料は、使用要件及び検査実施上の注意事項を厳守し使用します。
3. 試料及び使用後の容器類は、検査終了後、直ちに滅菌してから廃棄し、他への分与・放置・保存はしません。
4. 直接または間接的に発生する全ての出費・行動・環境汚染・健康被害・その他損失については、日水製薬株式会社の責に基づく過失により発生した場合を除き、いかなる場合においても日水製薬株式会社は責任を負いません。
5. 使用者は、菌種の所持・使用に関する日本国内で適用される全ての法令・条例及び規則を順守する責任を負うことに同意します。

以上