

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 28-30 年度総括・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	
	田栗 利紹	長崎県環境保健研究センター	
	中西 典子	神戸市環境保健研究所	
	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	
三津橋和也		北海道立衛生研究所	
武藤千恵子		東京都健康安全研究センター	
研究代表者	山口 友美	宮城県保健環境センター	
	吉野 修司	宮崎県衛生環境研究所	
	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、平成 27 年度以降、実施母体を日水製薬株式会社とし 4 年連続で行われてきた。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、バイオメュー社の 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については、WG においても独自に集計・解析を実施し結果の比較を行った。平成 29 年度からは、濃縮検査結果について回収率による考え方を取り入れた。解析の結果、特定のいくつかの機関に検査手技の

再確認が必要と判定される傾向が認められた。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た。標準的検査法については、これまで WG が推奨している方法と改訂された ISO 法との調整を行い、「公衆浴場における衛生等管理要領」内の推奨検査法「浴槽水に関するレジオネラ属菌検出のための検査方法」として提示した。

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>

平成27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ており、本研究期間においても以下の手順で実施された。

まず日水製薬より「参加募集案内文、参加要件、指定法」(別紙(平成30年度実施分)参照)が示され参加募集が行われた。その後、試料、試料送付案内、試験概要、結果記入メモ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。結果回答は1カ月以内とされ、解析結果は、毎年1月末日に、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>

平成28年度165機関(延べ171試料配付)、平成29年度173機関(延べ176試料配付)、平成30年度148機関(延べ151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が平成28年度、29年度71機関、平成30年度70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(平成30年度実施分)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。地方衛生研究所等については、WGにおいても独自に集計・解析を実施し、平成27年度以降の結果とも比較した。なお報告値について、WGでは平成25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¹⁻⁴⁾。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(非濃縮検体①は×100、非濃縮検体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。

本調査での非濃縮検体の目標良好範囲は、以下のように設定した。メーカー保証による95%信頼区間の数値に対し、レジオネラ属菌検査で使用される、検体 100ml 中の cfu (colony forming unit) に換算し、下限値、上限値を計算。次に、実検体の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、前述計算した下限値については 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し、目標良好範囲を設定することとした。

平成 29 年度から、濃縮検体については、回収率により判定(平成 29 年度は参考)を行った。目標とした回収率は、平成 28 年度の外部精度管理で報告を求めたすべての検体(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%を下限とし、上限を 100%未満とした。

日水製薬で行った全国の結果集計・解析は、毎年 1 月末日に、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システムとなっている。

2) 標準的検査法および研修システム

これまで WG が推奨している方法^{1, 5)}と平成 29 年 5 月に改訂された ISO 法との調整を行った。一部の検査工程(ろ過濃縮におけるろ過フィルターの洗浄時間)について、改訂 ISO 法との比較が必要であったことから、外部精度管理用の配付試料である BioBall を利用して検証を行った。検証方法を以下に示す。滅菌生理食塩水 1L に BioBall 2 個を入れ、十分混和後、外部精度管理の手法に従い非濃縮②による菌数を測定した。均質化された試料各 500mL をポリカーボネート製フィルターで同時にろ過後、それぞれのろ過フィルターをボルテックス 1 分、2 分により洗浄し菌数測定を行い、回収率の比較を行った。これらの比較を 10 試料について行った。培地は OXOID のアガーベースとサプリメントにより調製した BCYE α 培地を使用した。本検証後、「公衆浴場における衛生等管理要領」内の推奨検査法「浴槽水に関するレジオネラ属菌検出のための検査方法」について WG 内で検討した。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、適切な検査法の普及に努めた。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。

(倫理面への配慮)
特になし。

C. 研究結果及び考察

1) 精度管理

表 1 に平成 27~30 年度の結果判定一覧を示した。ここでは、過去 4 年間の比較をしやすくするために、平成 27~29 年度までに行っていた報告菌数から見た判定による結果も記載

した。参加機関は、平成27年度67機関、平成28、29年度71機関、平成30年度70機関、4年連続で参加した機関は55機関であった。回収率による判定では、今年度目標良好範囲外を報告したのは18機関であった。このうち14機関は参考的に回収率による判定を取り入れた昨年度も参加していたが、うち9機関は2年連続で良好範囲外を報告していた。一方、平成29年度までの報告菌数から見た判定を当てはめた場合、目標良好範囲外の結果を報告したのは28機関あり、うち4年連続が2機関、3年連続が2機関、2年連続が7機関、同様の結果を報告していた。これらの機関を含め4回の外部精度管理中複数回目標良好範囲外を報告していたのは28機関であった。総合的に見ると、検査結果が安定する方向に向かっている機関もあるが、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。特に複数年連続して目標良好範囲外の結果を報告している機関は、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。

これまでにも報告してきたが、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。また複数年連続で良好範囲外の結果を報告していた機関は、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

改訂ISO法では、ろ過攪拌時間を少なくとも2分としているが、WG推奨法では、これまで新版レジオネラ症防止指針に従い1分としてきた。今回ポリカーボネート製フィルターを対象に洗浄時間を1分及び2分で比較した。結果を表2に示した。洗浄時間1分の平均値と洗浄時間2分の平均値の差の有意性を確かめるために、有意水準5%で両側検定の t 検定を行ったところ、 $t(9)=0.95$ 、 $p=0.37$ ($p>0.05$)であり、洗浄時間の違いによる平均値の差に有意差は見られなかった。そのため、WGでは、ポリカーボネート製フィルターを使用した場合、その洗浄時間を1分間とした。この結果を考慮したWG推奨法と平成29年5月に改訂されたISO11731で示された方法との調整を改めて行い、公衆浴場の水質基準を担保するため、国から自治体に技術的助言として示すための検査法として「浴槽水に関するレジオネラ属菌検出のための検査方法」を提示した。

研修については、平成28、30年度に、国立保健医療科学院主催、国立感染症研究所村山庁舎で実施された「短期研修 新興再興感染症技術研修」内で、WG推奨法に沿った実習を伴ったレジオネラ検査研修会を行った。本研修会は、平成26年度に続いて3度目であった。対象は、地方衛生研究所等の公的機関である。内容的には、充実したものであったが、その反面、準備、調整には大きな労力と時

間を要した。一方、座学による研修会として、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4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。これまでに、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ねばならないと考える。

D. 結論

1) 精度管理

平成27年度以降、外部精度管理調査実施主体を民間会社とし、官民間問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4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、2)に記載する。

2) 標準的検査法および研修システム

公衆浴場の水質基準を担保するため、国から自治体に技術的助言として示すための検査法として「浴槽水に関するレジオネラ属菌検出のための検査方法」を提示した。今後は、本検査法を適切に全国へ普及・周知させるとともに、本法に沿った内部精度管理が各検査機関で実施できるよう、その対応方法を検討する必要がある。

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ね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.

F. 研究発表

学会発表

1) 下郷晶子, 水落慎吾, 菓子田充明, 森本洋: 各社 BCYE α 寒天培地における *Legionella pneumophila* の発育性と培地接種方法による発育菌数への影響、日本防菌防黴学会第 43 回年次大会、2016 年 9 月、東京

研修会

1) 森本 洋:レジオネラ検査研修会、北海道立保健所試験検査課研修、2016 年 6 月、北海道

2) 森本 洋:レジオネラ属菌検査における結果の変動要因と手技のポイント、2016 年度レジオネラ属菌検査セミナー、2016 年 7 月、東京

3) 森本 洋:レジオネラ培養法概論ほか、平成 28 年度 短期研修 新興再興感染症技術研修、2016 年 10 月、東京

4) 森本 洋:レジオネラの検査法と外部精度管理、生活衛生関係技術担当者研修会、2017 年 2 月、東京

5) 森本 洋:レジオネラ属菌培養検査について、2016 年度レジオネラ属菌検査セミナー、2017 年 3 月、東京

6) 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

7) 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

8) 森本 洋:レジオネラ培養法概論ほか、平成 30 年度 短期研修 新興再興感染症技術研修、2018 年 10 月、東京

9) 森本 洋:レジオネラ属菌培養検査について、2018 年度レジオネラ属菌検査セミナー、2019 年 3 月、東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 2015~2018年度結果一覧(2015/2016/2017/2018、良好範囲(菌数○、回収率(分母非濃縮② 2017/2018)黒字)、範囲外(菌数*、回収率(2017/2018)赤字、検査項目外又は不参加)

No.	非濃縮①	非濃縮②	ろ過濃縮	遠心濃縮	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	-/○/○/○	-/○/*/○		-/*/○/○
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	○/○/○/○	-/*/○/○	*/*/○/*						
36	○/○/○/○	-/*/○/○	○/*/○/○						

表2 ポリカーボネート製フィルターを使用した洗浄時間の違いによる回収率の比較

条件		実験①	実験②	実験③	実験④	実験⑤	実験⑥	実験⑦	実験⑧	実験⑨	実験⑩	平均
非濃縮	菌数	3000	2600	3400	3000	5600	3600	4200	2400	3800	4600	3620
ろ過濃縮 洗浄1分	菌数	1964	1808	1670	1336	1934	1438	2142	1158	1546	1936	1693
	回収率	65.5	69.5	49.1	44.5	34.5	39.9	51	48.3	40.7	42.1	48.5
ろ過濃縮 洗浄2分	菌数	1450	1998	1452	1292	1766	1508	1702	1352	1350	2062	1593
	回収率	48.3	76.8	42.7	43.1	31.5	41.9	40.5	56.3	35.5	44.8	46.1

レジオネラ属菌検査実施施設様各位

2018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「2018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.「2018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試料の使用方法・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	「2018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）。 2018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「ISO11731:2017」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 35,000 円（消費税別） ※原材料の値上げにより昨年度の価格から変更となっております。
参加募集数	150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）

7月 下旬	参加募集開始 ● 弊社コスモ会ホームページ(https://cosmokai.com)の2018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込ください。 ● 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20日（木）	参加募集締切
10月15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（水）	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16日（火）～ 11月16日（金）	検査実施 ● 弊社コスモ会ホームページ(https://cosmokai.com)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16日（金）17時	回答締切
12月21日（金）	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きます。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（木）	解析結果返却 ● 弊社コスモ会ホームページ(https://cosmokai.com)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24番6号

TEL : 03-5846-5729 FAX:03-5846-5629

E-mail: legi-srvy@nissui-pharm.jp



日水製薬株式会社

参加要件

2018年7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. 注意事項について承頂け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

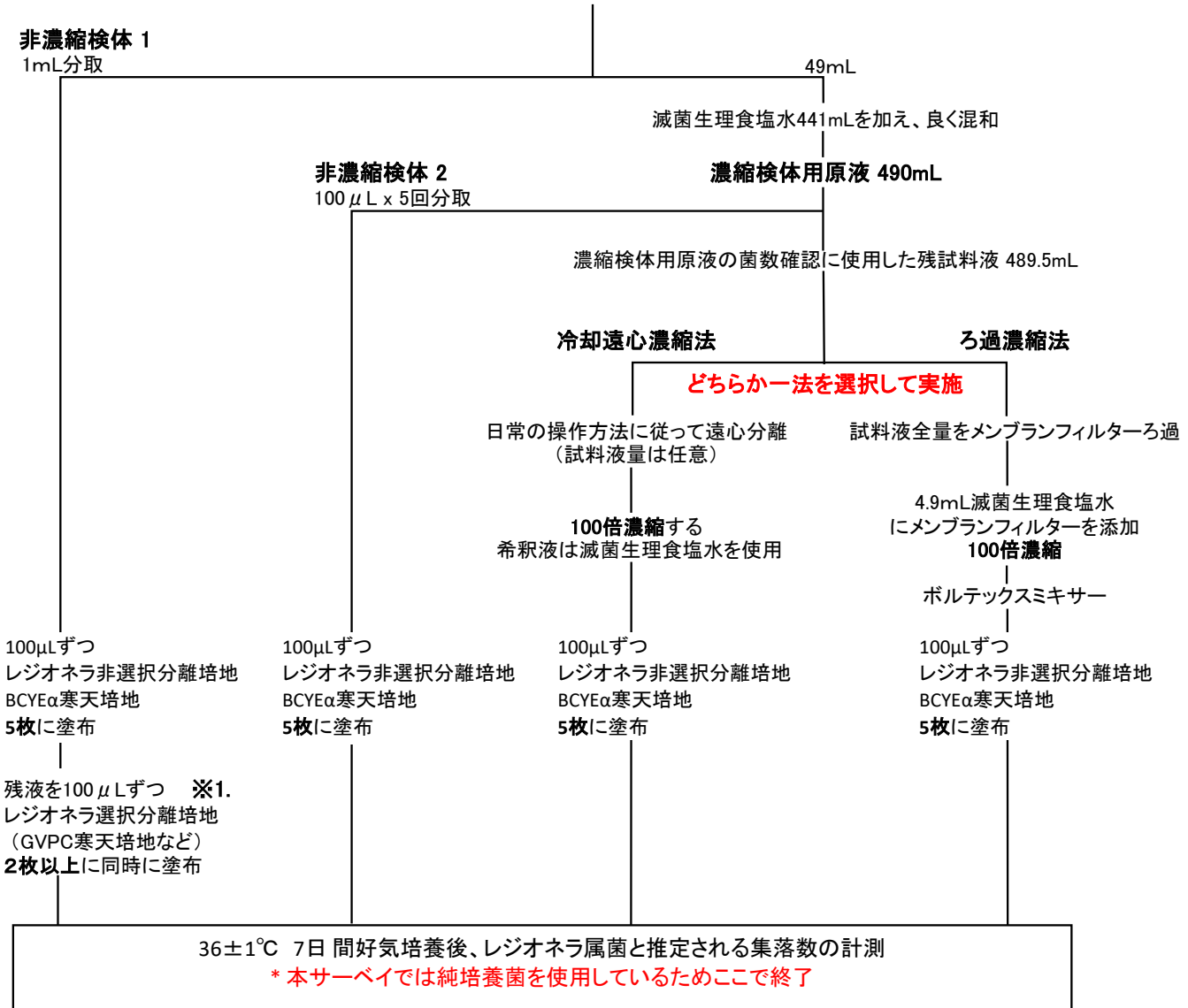
予告なく実施スケジュールが変更となることがあります。変更後のスケジュールは、メール等にてご連絡いたします。

以上

2018年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法

(参考：厚生科学研究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



■ 2018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。

2018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あげます。

この度は、2018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あげます。

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（Web入力する際にご活用ください）・・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
10/16(火)～17(水)	■ 精度管理試料到着 精度管理サーベイ試料が到着します。送付内容を確認してください。
11/16(金) 17時	■ 回答締切 検査を実施し、上記結果入力手順にそって結果の入力をお願いいたします。回答期限を11/16 (金) 17時とさせていただきます。
1/31(木)	■ 解析結果開示 解析結果はコスモ会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 : 03-5846-5707 FAX : 03-5846-5629 E-mail : legi-srvy@nissui-pharm.jp

2018年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

試験概要

1. レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ試験項目

試料名	試験項目
精度管理サーベイ試料A (1本)	レジオネラ属菌

精度管理サーベイ試料は、菌をボール状に凍結乾燥処理しバイアル瓶に封入したもので、レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ用に菌数を特別に調整しています。瓶ラベルには「A」と記載されています。

精度管理サーベイ試料Aの使用法・操作手順および結果入力をご確認のうえ、試験を実施してください。

2. 精度管理サーベイ試料Aの使用法・操作手順

非濃縮検体 1		非濃縮検体 2	冷却遠心濃縮法	ろ過濃縮法
非選択分離培地 (5枚)	選択分離培地 (2枚以上)	非選択分離培地 (5枚)	濃縮検体	
実施	実施 (参考値)	実施	冷却遠心濃縮法、ろ過濃縮法 どちらか一方を実施	

精度管理サーベイ試料Aは、「レジオネラ属菌」の【非濃縮検体】および【濃縮検体】の菌数試験に使用します。濃縮検体については、【冷却遠心濃縮法】または【ろ過濃縮法】のどちらか一方を実施してください。

以下の操作手順をよく読み、記載された方法に従って使用してください。

注1：本操作手順（2018年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法）は、本精度管理サーベイ用のみの検査方法であり、サンプル量、濃縮倍率などにおいて、実検体の検査方法と異なる部分があります。

■ 試料液の調製

① 検査を開始する30分前に保管庫より取り出して室温に戻し、以下の操作を始めてください。

注2：精度管理サーベイ試料Aは、到着後から試験開始日までマイナス18℃～マイナス33℃で保管してください。

注3：室温に戻っていない瓶を開封した場合、瓶内壁の結露水により凍結乾燥処理したボールが瓶から取り出しにくい場合があります。

注4：精度管理サーベイ試料は1個のみですので、取扱いに十分注意のうえ試験を実施してください。

- ② 500mL以上の滅菌容器に滅菌生理食塩水 50mLを用意し、精度管理サーベイ試料を加え良く混和します。これを試料原液とします。

注 5：精度管理サーベイ試料の特性上、本サーベイにおいては、すべての溶解液、希釈液は、**滅菌生理食塩水**を使用してください。

注 6：完全に溶解したことを確認してください。この時、加温はしないでください。

注 7：溶解後の保存は測定誤差をもたらす原因となりますので、溶解後は直ちに試験を開始し、操作の流れを止めることなく試験を終了させてください。

- ③ 試料原液から 1mL を正確に分取してください。【非濃縮検体 1】の試験に使用します。

- ④ 残りの試料原液 49mL に、滅菌生理食塩水 441mL を加え良く混和します。これを【非濃縮検体 2】、【濃縮検体 冷却遠心濃縮法】、または【濃縮検体 ろ過濃縮法】の試験に使用します。

注 8：試料が均一になるよう十分に混和してください。

注 9：混和後フタを開ける場合には、エアロゾルが発生しているため安全キャビネット内で操作を行ってください。特に、転倒混和等を行った場合には、フタの開閉時における試料の飛散には十分注意してください。

□非濃縮検体1

※非選択分離培地と選択分離培地に塗布します。

■非選択分離培地

- (1) 試料液の調整③で分取した 1mL の検体より、レジオネラ非選択分離培地 5 枚に、100 μ L ずつ塗布します。

■参考情報 「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」（以下、平成 25 年度レジオネラ属菌検査法研究）表 14 より抜粋

- ・検体の塗布方法は、コンラージ棒の力加減においてソフトタッチを意識すること。
- ・コンラージ棒の力加減が発育集落数に影響する可能性が示唆されたため（平成 24 年度厚労科研費「公衆浴場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データより」）。

- (2) 36 \pm 1 $^{\circ}$ C 7 日間 好気培養後、レジオネラ非選択分離培地上に発育したレジオネラ属菌と推定される集落数を計測します。複数の培地から得た集落数の平均値を算出します。

注 10：「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」（以下、平成 26 年度レジオネラ属菌検査法研究）において、GVPC 寒天培地等のレジオネラ選択分離培地へ接種した場合、レジオネラ非選択分離培地へ接種した場合に比べ集落数の減少が認められたため、レジオネラ非選択分離培地（BCYE α 寒天培地）を使用してください。

■参考情報 ISO11731：2017 Water quality – Enumeration of *Legionella*

・雑菌が少ない場合の検体では、BCYE α 寒天培地の使用が必須となっています。

- (3) 試料原液 100mL あたりの菌数を算出します。

本サーベイ用計算式 : 100mL あたりの菌数 = 平均値 \times 1000

■選択分離培地(参考値)

※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。

- (1) 【非濃縮検体 1 非選択分離培地】(1)の残液を、レジオネラ選択分離培地 2 枚以上に、 $100\mu\text{L}$ ずつ塗布します。
- (2) $36\pm 1^\circ\text{C}$ 7日間 好気培養後、レジオネラ選択分離培地上に発育したレジオネラ属菌と推定される集落数を計測します。培地から得た集落数の平均値を算出します。
- (3) 試料原液 100mL あたりの菌数を算出します。

本サーベイ用計算式 : 100mL あたりの菌数 = 平均値 \times 1000

■非濃縮検体2

- (1) 試料液の調整④の検体 490mL より、 $500\mu\text{L}$ を分取して、非選択分離培地に $100\mu\text{L}$ ずつ 5 枚に塗布します。
- (2) 試料原液 100mL あたりの菌数を算出します。

本サーベイ用計算式 : 100mL あたりの菌数 = 平均値 \times 10000

□濃縮検体

※【冷却遠心濃縮法】、または【ろ過濃縮法】どちらか一方を実施してください。

■冷却遠心濃縮法

- (1) 試料液の調整④で作製した検体 490mL より、日常の検査工程に従って、冷却遠心分離を行います。試料液量は任意で実施してください。

■参考情報 平成 25 年度レジオネラ属菌検査法研究 表 12 より抜粋

- ・遠心加速度と遠心時間は、 $6000\text{g}\times 10$ 分または $3000\text{g}\times 30$ 分とする。ISO 11731: 1998 を基礎として対比検討された JIS K 0350-50-10 による。
- ・遠心加速度(g)= $1118\times$ 回転半径 (cm) \times 回転速度² (rpm) $\times 10^{-8}$ 本来遠心加速度の統一が必要であって、回転数を統一しても使用機種により遠心加速度は異なる。遠心加速度が設定できない場合は、機種ごとに計算する必要がある。
- ・冷却設定温度は、 $15\sim 25^\circ\text{C}$ とする。

- (2) 【冷却遠心濃縮法】(1)で得られた検体を、希釈液に滅菌生理食塩水を用いて 100 倍濃縮します。

注 11 : 精度管理サーベイ試料の特性上、本サーベイにおいては、すべての溶解液、希釈液は、**滅菌生理食塩水**を使用

してください。

注 12：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るため、本サーベイにおいては、加熱処理および酸処理を行わないでください。

■参考情報 平成 25 年度レジオネラ属菌検査法研究 表 12 より抜粋

- ・沈殿物を巻き上げないように注意して上清を滅菌ピペットで慎重に除去し、沈殿物を含めて残りの体積を 2mL にする。
- ・沈渣は大変浮遊しやすく、上清のデカンテーションによる除去や全量除去では、実験ロスにより回収率に大きく影響する場合が考えられる。(森本 洋ほか：濃縮法の違いによる温泉水中のレジオネラ属菌検出結果の比較. 北海道衛研所報, 59, 73-74, 2009 (厚労科研費「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」データより))。これらの実験ロスによる影響を防止するために、その手順は、ISO 11731: 1998 を基礎として対比検討された JIS K 0350-50-10 に従う。

- (3) 得られた検体を、レジオネラ非選択分離培地 5 枚に、100 μ L ずつ塗布します。
- (4) 36 \pm 1 $^{\circ}$ C 7日間 好気培養後、レジオネラ非選択分離培地上に発育したレジオネラ属菌と推定される集落数を計測します。複数の培地から得た集落数の平均値を算出します。
- (5) 試料原液 100mL あたりの菌数を算出します。

本サーベイ用計算式 : 100mL あたりの菌数 = 平均値 \times 100

■ろ過濃縮法

- (1) 試料液の調整④で作製した検体 490mL より、【非濃縮検体 2】で非濃縮検体用に 500 μ L 分取した残液 489.5mL を、メンブランフィルターにてろ過を行います。

注 13：本サーベイにおいては、日常検査において異なる検水量をろ過している施設におかれましても 489.5mL の検水にて、ろ過を行ってください。

■参考情報 平成 25 年度レジオネラ属菌検査法研究 表 11 より抜粋

- ・ポリカーボネートタイプフィルターは、ろ過後の水の検査ではなく、フィルターに捕集されたレジオネラ属菌を回収することを目的としている。ポリカーボネートタイプフィルターは、均一な表示径の円筒状孔を持ち、その孔径分布が一定のため、サイズによる正確な分離が可能となる。他の材質のフィルターでは、膜の内部に菌が入り込んで回収されにくくなる場合がある。
 - ・包装製品ラベル側を補集面にする。(光沢度が高い側)。ポリカーボネートタイプフィルターは、その構造上表裏対象面となっているが、製法として電子銃で打ち抜き後片面をアルカリ処理することで作製されている。そのためアルカリ処理面の平滑性が若干低下している可能性がある。
 - ・新版レジオネラ症防止指針には、レジオネラ属菌体サイズを 0.3 \sim 0.9 \times 2 \sim 20 μ m と記載されている。レジオネラ属菌がフィルターを縦に通過しようとした場合、状況によっては 0.40 や 0.45 μ m のポアサイズであればトラップされず、そのまま通過してしまう可能性がある。
- ISO11731 : 1998 を基礎として対比検討された JIS K 0350-50-10 では孔径 0.2 μ m と規定されている。

■参考情報 ISO11731 : 2017 Water quality – Enumeration of *Legionella*

・フィルターの種類は、ポリカーボネートもしくは、ポリエーテルスルホンを、ポアサイズは $0.2\mu\text{m}$ を使用する旨が記載されている。

- (2) 50mL の遠沈管等に 4.9mL の滅菌生理食塩水を用意します。
- (3) 吸引後のメンブランフィルターを剥がし、(2)で用意した遠沈管中の滅菌生理食塩水にメンブランフィルターを入れます。
- (4) ボルテックスミキサーで洗浄し、100 倍濃縮液とします。

注 14：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るため、本サーベイにおいては、加熱処理および酸処理を行わないでください。

- (5) 得られた検体を、レジオネラ非選択分離培地 5 枚に、 $100\mu\text{L}$ ずつ塗布します。
- (6) $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 7日間 好気培養後、レジオネラ非選択分離培地上に発育したレジオネラ属菌と推定される集落数を計測します。複数の培地から得た集落数の平均値を算出します。
- (5) 試料原液の 100mL あたりの菌数を算出します。

本サーベイ用計算式： 100mL あたりの菌数 = 平均値 \times 100

3. 結果入力方法

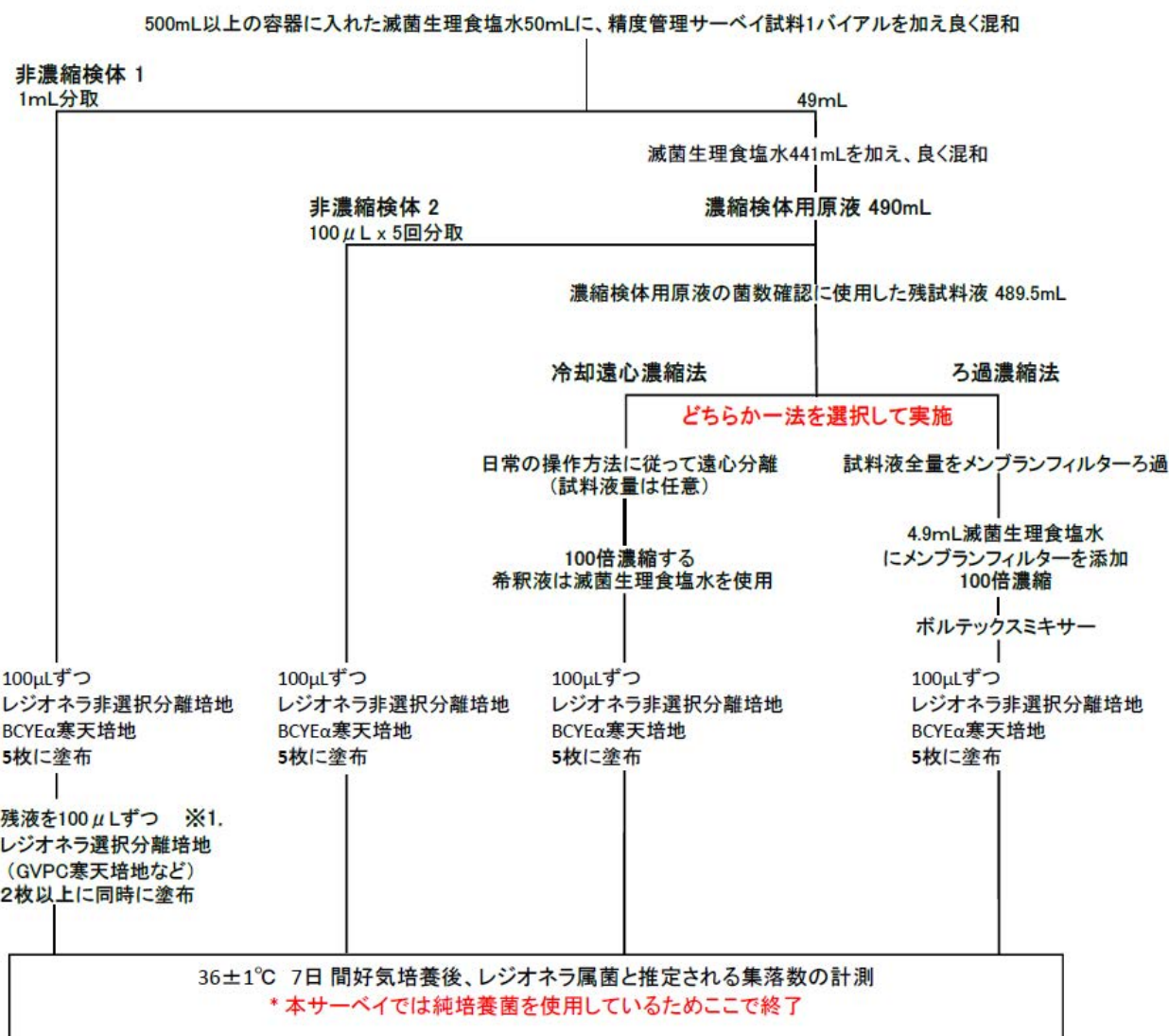
- (1) 結果の記入は、コスモ会HP (<https://cosmokai.com/>) より「レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ」専用HPをクリックし、IDとPW（別送ハガキ参照）を入力してログインしてください。
- (2) 登録画面が表示されますので、ご登録内容をご確認ください。ご確認後は、ページの下にあります【変更なし データ入力画面へ進む】をクリックしてください。
- (3) データ入力画面に進み結果の入力が完了したら、ページの下にあります【入力内容を確認】をクリックし入力内容を確認してください。入力に間違いがなければ、ページの下にあります【送信】をクリックしてください。

注 15：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。



2018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 / IS011731:1998 / IS011731:2017)



■ 2018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。2018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BCYE α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。

結果記入用メモ (Web 入力する際にご活用ください)

貴施設名	所属部署
氏名	I D

■ 共通設問

貴施設で行っている日常の検査方法に関してご回答ください。あてはまるものはすべて選択してください。

※半角英数（整数）で入力してください。指数表記および数式での入力は認識出来ません。

(1) 参考としている基準は何ですか。

- IS011731 : 2017 IS011731 : 1998 新版レジオネラ症防止指針 1999
 第 3 版レジオネラ症防止指針 2009 上水試験法 2011 衛生試験法注解 2015
 病原体検出マニュアル 2011（国立感染症研究所） 厚労科研レジオネラ研究班 WG 推奨法
 その他

(2) 日常の検査法は何を採用していますか。

- 非濃縮 冷却遠心濃縮法 ろ過濃縮法
 その他

(3) 日常検査の前処理は何を採用していますか。

- 処理なし 酸処理 熱処理 酸処理と熱処理 その他

(4) 冷却遠心濃縮法を採用している方にお聞きします。

1) 検水量は何 mL ですか。 mL

2) 遠心加速度は何 g ですか。 g

3) 回転数は何 rpm ですか。 rpm

4) 遠心時間は何分間ですか。 分

5) 設定温度は何℃ですか。 ℃

6) 冷却遠心機のローターは何ですか。 固定角ローター（アングルローター）

水平ローター（スウィングローター）

その他

7) 上清除去の方法は何ですか。

デカンテーション ピペット等による吸引

その他

8) 上清は全量除去しますか。

全量除去 一部残す mL

9) 全量除去の場合、菌体回収のための溶液は何ですか。

滅菌精製水 滅菌生理食塩水

滅菌リン酸緩衝液 その他

10) 濃縮倍率は何倍ですか。 倍

(5) ろ過濃縮法を採用している方にお聞きします。

1) 検水量は何mLですか。 mL

2) フィルターから菌体を回収するための溶液は何ですか。

滅菌精製水 滅菌生理食塩水

滅菌リン酸緩衝液 その他

3) フィルターメーカーはどちらですか。 ミリポア アドバンテック

その他

4) フィルター表裏は統一して使用していますか。 している していない

5) フィルターの材質は何ですか。 ポリカーボネート ナイロン セルロースアセテート

セルロース混合エステル ポリエーテルスルホン

その他

6) フィルターの直径は何mmですか。 mm

7) フィルターのポアサイズは何 μ mですか。 μ m

8) ボルテックスミキサーは何分かけていますか。 分

(6) 酸処理を行っている方にお聞きします。

1) 酸処理剤は何を使用していますか。 0.2M・HCl KCl (pH2.2)

その他

2) 酸処理する量は何mLですか。 mL

3) 酸処理剤は市販品を使用していますか。自家調製を使用していますか。

市販品を使用 自家調製品を使用

4) 添加量は検体に対し何%ですか。 %

5) 処理温度は何度ですか。 室温 その他 °C

6) 処理時間は何分ですか。 分

(7) 加熱処理を行っている方にお聞きします。

1) 加熱処理には何を使用していますか。 ウォーターバス ヒートブロック

インキュベータ その他

2) 加熱処理する量は何 mL ですか。 mL

3) 処理温度は何度ですか。 °C

4) 処理時間は何分ですか。 分

(8) 使用している培地とメーカーは何ですか。

培地名 \ メーカー	日水製薬	栄研化学	関東化学 (OXOID)	日本 BD	日研生物医学	ビオメリュー・シグマリン	極東製薬工業	メルク	(その他)
BCYE α 寒天培地									
GVPC 寒天培地									
WYO α 寒天培地									
MWY 寒天培地									
その他 <input type="text"/>									
その他 <input type="text"/>									

(9) 培地は市販の生培地を使用していますか。 自家調製を使用していますか。

市販の生培地 自家調製

(10) 培地は 1 検体あたり合計何枚に接種していますか。 枚

(11) 月あたりの検体数はおよそどのくらいですか。 夏期 (5~10 月) 検体/月
冬期 (11~4 月) 検体/月

■2018年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ結果回答

※試験を実際されていない場合は、空欄でお願いいたします。

※半角英数（整数）で入力してください。指数表記および数式での入力は認識出来ません。

□非濃縮検体 1

※非選択分離培地と選択分離培地に塗布します。

■非選択分離培地

(1) 100mLあたりの菌数をご記入ください。

CFU/100mL (本サーベイ用計算式 = 平均値 × 1000)

(2) 培地 1 枚あたりの菌数をご記入ください。

培地	1 枚目	2 枚目	3 枚目	4 枚目	5 枚目	平均
菌数 (CFU/培地)						

(3) 使用した培地は何ですか。

BCYE α 寒天培地

その他

(4) 培地メーカーはどちらですか。

日水製薬

栄研化学

関東化学 (OXOID)

日本 BD

日研生物医学

ビオメリュー・ジャパン

極東製薬工業

メルク

その他

(5) どのような方法で試料を混和しましたか。

手

ミキサー

その他

(6) 培地は市販の生培地を使用していますか。自家調製を使用していますか。

市販の生培地

自家調製

(7) 自家調製の場合、培地はいつ調製しましたか。

検査当日

前日以前

■選択分離培地（参考値）

(1) 100mLあたりの菌数をご記入ください。

CFU/100mL （本サーベイ用計算式 = 平均値 × 1000）

(2) 使用した培地の枚数は何枚ですか。 枚

(3) 培地1枚あたりの菌数をご記入ください。

培地	1枚目	2枚目	3枚目	4枚目	5枚目	平均
菌数 (CFU/培地)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

(4) 使用した培地は何ですか。

- GVPC 寒天培地 WYO α 寒天培地 MWY 寒天培地 CCVC 寒天培地 PAC (BMPA α) 寒天培地
PAV 寒天培地 その他

(5) 培地メーカーはどちらですか。

- 日水製薬 栄研化学 関東化学 (OXOID) 日本 BD 日研生物医学
バイオメリュー・ジャパン 極東製薬工業 メルク その他

(6) どのような方法で試料を混和しましたか。

- 手 ミキサー その他

(7) 培地は市販の生培地を使用していますか。自家調製を使用していますか。

- 市販の生培地 自家調製

(8) 自家調製の場合、培地はいつ調製しましたか。

- 検査当日 前日以前

■非濃縮検体 2

(1) 100mL あたりの菌数をご記入ください。

--

CFU/100mL (本サーベイ用計算式 = $\frac{\text{平均値}}{10000} \times 10000$)

(2) 培地 1 枚あたりの菌数をご記入ください。

培地	1 枚目	2 枚目	3 枚目	4 枚目	5 枚目	平均
菌数 (CFU/培地)						

(3) 使用した培地は何ですか。

BCYE α 寒天培地

その他

--

(4) 培地メーカーはどちらですか。

日水製薬

栄研化学

関東化学 (OXOID)

日本 BD

日研生物医学

ビオメリュー・ジャパン

極東製薬工業

メルク

その他

--

(5) どのような方法で試料を混和しましたか。

手

ミキサー

その他

--

(6) 培地は市販の生培地を使用していますか。自家調製を使用していますか。

市販の生培地

自家調製

(7) 自家調製の場合、培地はいつ調製しましたか。

検査当日

前日以前

□濃縮検体

【冷却遠心濃縮法】、もしくは【ろ過濃縮法】どちらか一方を実施してください。

■冷却遠心濃縮法

(1) 100mLあたりの菌数をご記入ください。

[Blank box for CFU/100mL]

CFU/100mL (本サーベイ用計算式 = 平均値 × 100)

(2) 培地 1 枚あたりの菌数をご記入ください。

培地	1 枚目	2 枚目	3 枚目	4 枚目	5 枚目	平均
菌数 (CFU/培地)						

(3) 使用した培地は何ですか。 □BCYE α 寒天培地 □その他 [Blank box]

(4) 培地メーカーはどちらですか。
 日水製薬 栄研化学 関東化学 (OXOID 製品) 日本 BD 日研生物医学
 ビオメリュー・ジャパン 極東製薬工業 メルク その他 [Blank box]

(5) 培地は市販の生培地を使用していますか。自家調製を使用していますか。
 市販の生培地 自家調製

(6) 自家調製の場合、培地はいつ調製しましたか。 □検査当日 □前日以前

(7) どのような方法で試料を混和しましたか。
 手 ミキサー その他 [Blank box]

(8) 遠心加速度は何 g ですか。 [Blank box] g

(9) 回転数は何 rpm ですか。 [Blank box] rpm

(10) 遠心時間は何分間ですか。 [Blank box] 分

(11) ブレーキをかけていますか。 □かけている □かけていない

(12) 設定温度は何℃ですか。 [Blank box] °C

(13) 冷却遠心機のローターは何ですか。
 固定角ローター (アングルローター)
 水平ローター (スウィングローター)
 その他 [Blank box]

(14) 上清除去の方法は何ですか。
 デカンテーション ピペット等による吸引
 その他 [Blank box]

(15) 上清は全量除去しますか。 □全量除去 □一部残す [Blank box] mL

■ろ過濃縮法

(1) 100mL あたりの菌数をご記入ください。

CFU/100mL (本サーベイ用計算式 = $\frac{\text{平均値}}{100} \times 100$)

(2) 培地 1 枚あたりの菌数をご記入ください。

培地	1 枚目	2 枚目	3 枚目	4 枚目	5 枚目	平均
菌数 (CFU/培地)						

(3) 使用した培地は何ですか。

BCYE α 寒天培地

その他

(4) 培地メーカーはどちらですか。

日水製薬

栄研化学

関東化学 (OXOID 製品)

日本 BD

日研生物医学

ビオメリュー・ジャパン

極東製薬工業

メルク

その他

(5) 培地は市販の生培地を使用していますか。自家調製を使用していますか。

市販の生培地

自家調製

(6) 自家調製の場合、培地はいつ調製しましたか。

検査当日

前日以前

(7) フィルターメーカーはどちらですか。

ミリポア

アドバンテック

その他

(8) フィルター表裏は、包装製品のラベル側を捕集面にして使用しましたか。

した

しない

(9) フィルターの材質は何ですか。

ポリカーボネート

ナイロン

セルロースアセテート

セルロース混合エステル

ポリエーテルスルホン

その他

(10) フィルターの直径は何 mm ですか。

 mm

(11) フィルターのポアサイズは何 μm ですか。

 μm

(12) ボルテックスミキサーは何分かけていますか。

 分

以上

2018年10月15日

日水製薬株式会社

2018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18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： 2018年 10月 日

貴施設名
ご所属部署
ご担当者名 (印)
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

2018年度 レジオネラ属菌検査セミナー 開催のご案内

主催：日水製薬株式会社

平素は格別なるお引き立てを賜り、厚く御礼申し上げます。
この度、弊社では下記の内容にてレジオネラ属菌検査に関するセミナーを開催致します。
ご多用中とは存じますが、是非ご参加頂きますようご案内申し上げます。

記

- 開催日時 **2019年3月12日(火) 13:30～17:00** (受付開始 13:00)
- 開催場所 **文京シビックホール スカイホール (26階)**
〒112-0003 東京都文京区春日1-16-21
※東京メトロ後楽園駅徒歩1分、都営地下鉄春日駅徒歩1分、JR総武線水道橋駅徒歩9分
- 定員 **96名**
※会場の都合により、定員に達し次第受講をお断りさせていただきますのでご了承くださいようお願いいたします。なお、お申込みは1施設あたり2名様までとさせていただきます。
- 内容
 - 13:00～ 受付開始
 - 13:30～14:30 講演 1. 「レジオネラ検査法の現状と今後の展望」
国立感染症研究所 細菌第一部 前川純子先生
 - 14:30～15:00 報告 「2018年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ結果報告」
日水製薬株式会社
 - 15:00～15:15 休憩
 - 15:15～16:25 講演 2. 「レジオネラ属菌培養検査について」
北海道立衛生研究所 感染症センター 感染症部 細菌グループ 森本洋先生
 - 16:25～17:00 事前質問回答・質疑応答
- 参加費 **無料**
- 申込方法 **E-mailにてお願いします。**
下記内容を【E-mail：legi-srvy@nissui-pharm.jp】までお送りください。

《参加申込》

お名前：
貴社名：
ご所属：
ご住所： 〒
TEL：
E-mail：
ご質問事項：

※受付返信につきましては受付1週間を目安に受付番号と共にメールにてご連絡させていただきます。

- 締切り **2019年2月28日(木)**
※2019年2月15日(金)までに受付た質問につきましては、セミナー当日に分野別に分類して回答させていただきます。

以上

お問合せ先 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 E-mail：legi-srvy@nissui-pharm.jp