

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)
 公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の
 衛生管理手法の開発のための研究
 令和元年度分担研究報告書

レジオネラ属菌検査精度の安定に向けた取り組み

研究分担者	○森本 洋	北海道立衛生研究所
	金谷 潤一	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
	中西 典子	神戸市環境保健研究所
研究協力者	磯部 順子	富山県衛生研究所
	大森恵梨子	仙台市衛生研究所
	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
	倉 文明	国立感染症研究所
	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
	吉野 修司	宮崎県衛生環境研究所
研究代表者	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精度の安定に向けた取り組みとして、1)外部精度管理、2)2018年度外部精度管理に係るアンケート調査及び検査法技術指導、3)検査研修システムについて、地方衛生研究所のレジオネラレファレンスセンター担当者を中心に検討を行った。

外部精度管理は研究班サポートのもと、2015年度以降、実施母体を日水製薬株式会社とし、2019年度は公的、民間を問わず全国161の検査機関(延べ164試料配付)に対し行われた。研究班への協力として参加した地方衛生研究所等73機関については、独自に集計・解析を実施し、過去4年間の結果とも比較した。5年連続参加した機関は50機関あった。解析の結果、これまで同様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。一方、本年度の回収率は、判定を開始した過去2年と比較し、全体的に低い傾向にあった。特に回収率0～10%未満の施設が全体の3割(30.1%)あり、過去2年(16.9%、8.5%)を大きく上回った。配付試料の確認実験において問題は認められなかったが、参加機関側、配付試料側、双方について改めて検証したいと考える。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連携が必要である。

アンケート調査からは、各検査機関の現状把握ができた一方で、検査が不安定な施設への対応が求められた。今年度技術指導を行った施設においては、結果改善が認められたことから、引き続き直接技術指導を行えるよう努めたい。

検査研修システムについては、民間企業と連携し規模を調整することで、一定の基盤が整いつつある。現在、次年度試行的に開催できるよう準備を進めている。

A. 研究目的

レジオネラ属菌検査精度の安定に向けた取り組みとして、1)外部精度管理、2)2018年度外部精度管理に係るアンケート調査及び検査法技術指導、3)研修システムについて、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2019年7月下旬に日水製薬より「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、10月18日(金)に締め切られた。その後、11月18日(月)に試料、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。回答期限は12月20日(金)17時に指定された。解析結果は、2020年2月28日(金)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161の検査機関(延べ164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73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73機関については、独自に集計・解析を実施し、過去4年間の結果とも比較した。なお報告値については、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¹⁾。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%予測区間(下限値12,877.7cfu/Ball、上限値24,546.3cfu/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2,575.54、

上限値 4,909.26 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1,000cfu/100ml と換算することから、結果は1,000cfu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2,000～5,000cfu/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600～15,000cfu/100mlとして設定することとした。

濃縮検体については、回収率により判定を行った。目標とした回収率は、これまで同様、2016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、2020年2月28日(金)、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)2018年度外部精度管理に係るアンケート調査及び検査法技術指導

2019年8月、検査精度が安定しない検査機

関に対する原因究明と安定化に向けた検討を行うため、現状の把握として地方衛生研究所レジオネラレファレンスセンターを通じ、「2018年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ」に参加した施設に対し、アンケート調査(別紙参照)を実施した。

これまでの外部精度管理において不安定な結果を複数回報告していた機関のうち、3機関に対し研究班員が訪問し検査工程の確認を行い、その場で検討会を行った。

3)検査研修システムについて

2013年8月、2019年4月に、民間機関としてレジオネラ属菌検査研修実績のある関東化学株式会社と継続的な研修会実施に係る協議を行った。

C. 研究結果及び考察

1)精度管理

研究班で集計した地方衛生研究所等73機関の報告菌数を表1に示した。また、非濃縮検体における設定良好範囲内菌数報告機関の割合(2016-19年度)を表2に示した。非濃縮検体において目標良好範囲を報告した機関は、非濃縮検体①では73機関中71機関(約97%)、非濃縮検体②では73機関中67機関(約92%)であり、ともに例年通り90%以上の機関が良好な結果を報告し、過去3年間と比較しても安定した結果が得られていた。一方、非濃縮①ではレジオネラ属菌を検出できなかった機関が1機関あった。この機関は、どの検査工程の試料に対しても検出できていなかった。今後詳細を確認する必要がある。非濃縮検体②では、レジオネラ属菌を検出できなかった機関が前述の1機関に加え、もう1機関あった。この機関は、非濃縮①では良好範囲を報

告していたことから、改めて試料作製工程の確認、コンラージ棒での塗抹状況等を確認する必要があると思われた。また、検出はされたが、下限値を下回る回答をした機関が2機関あった。そのうち、1機関は総合的に見て良好下限値付近の試料が配付されていた可能性がある。回収率は適正であったことから、特に問題はないと考えられた。もう1機関は、非濃縮①でも下限良好範囲を下回っていたこと、また選択分離培地での結果の方が、非選択分離培地の倍近い菌数を報告していたことから、改めて試料作製工程の確認、コンラージ棒での塗抹状況、使用培地等について確認する必要があると思われた。最大値においては、良好上限を大きく超える回答をした機関が2機関あった。この2機関は、非濃縮①では適切な回答をしていた。濃縮工程だけではなく、データ入力時のミスの可能性も示唆された。濃縮検体では、過去のサーベイ同様非濃縮検体と比べ報告菌数の値が低かった。またレジオネラ属菌を検出できなかった機関も4機関(1機関は、全検査工程で検出できなかった機関)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71機関中55機関(約77%)が目標良好範囲を報告していた。例年非選択分離培地での結果と比較し、割合は低くなるものの90%前後と高い値で推移していたが、本年度は約77%と過去3年間の平均値と比較し約13%低い結果となっていた。また報告菌数も、昨年度は非選択分離培地の結果と比較すると、平均値、中央値ともに約14%低い報告値であったが、本年度は平均値で64%、中央値で72%低く、大幅な報告値の低下が認められた。選択分離培地による供試菌に対する発育抑制があることはこれまでも報告している¹⁻⁴⁾が、本年度の配付試料

においては、その感受性が高かった可能性も考えられた。

表3に回収率を示した。日水製薬による外部精度管理では、非濃縮検体②が100倍濃縮のスタート検体だったことから、非濃縮②の結果を分母として回収率を算出し判定の基準としたが、本報告では、参考値として非濃縮①を分母とした場合も算出した。なお、分母となる数値が0であった場合は「-」と表記した。目標回収率20%以上100%未満を報告したのは、非濃縮②を分母とした場合、73機関中41機関(約56%:昨年度約74%)であった。非濃縮①を分母とした場合では、73機関中40機関(約55%:昨年度約79%)であった。また、どちらの試料を分母にしても目標回収率をクリアしていたのは、73機関中33機関(約45%:昨年度約73%)であった。本年度の回収率は、前述のどの分母を基準にした場合も昨年度を大きく下回る結果となっていた。これは、一昨年度に近い結果であった。研究班では、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り^{1, 5)}、昨年度は良好な回収率を報告した機関が大幅に増えていたことから、各検査機関での濃縮検査に対する意識が高まってきている状況にあると推察していた。そのような中、今回の結果となったことから、改めて過去のデータとの比較を行ってみた。

本外部精度管理において、回収率による判定が開始された2017年度から本年度(2019年度)までの回収率の比較(分母:非濃縮②)を表4に示した。2017、2019年度を比較すると、良好機関割合は若干2019年度が高かったが、大きな差はなかった。しかしながら、全体平均値では10.4%、良好平均値では8.4%、良好最大値では28.8%、良好中央値では5.8%と

いずれの値も 2017 年度の方が高かった。また、回収率 20%未満だった報告値の平均では、2019 年度の方が 4.2%低かった。つまり、2017、2019 年度では、良好機関割合では大きな差はなかったが、実際の報告値においては、2019 年度の方が明らかに低い値を示していたことが分かる。次に、回収率の範囲を7区分に分け、その占有率を図1に示した。2017、2019 年度を比較すると、少しの検査工程の見直しにより、良好範囲に入る可能性の高い回収率 10%以上 20%未満の施設割合が 2017 年度では 23.9%と高かった。このことが 2018 年度の良好範囲占有率の増加に繋がった可能性が示唆されたのに対し、2019 年度では、その範囲の施設割合が 11%と低く、逆に回収率 10%未満の施設割合が 30.1%と、過去2年(16.9%、8.5%)を大きく上回る結果となっていた。

配付試料に使用している供試菌については、試料製造メーカーが保有する *Legionella pneumophila* ACM 5197 を 2015 年の本事業開始以来使用しているが、ここまでの検証から、今回の配付試料においては、選択分離培地の選択剤に対する感受性がこれまでよりも高かった可能性、各検査機関での濃縮検査に対する意識が高まってきている状況であることを踏まえると、濃縮工程の影響による発育抑制が過去の精度管理時より高かった可能性も考えられた。また、解析結果とは別であるが、配付試料の色に違和感を覚えながら検査をした 1 機関において、低い回収率となったことから、新たな試料で再検査をしたところ良好な結果が得られたとの報告もあった。以上、本年度は、配付試料の質について気になる点が認められているところであるが、日水製薬及び北海道立衛生研究所における配付試料の確認実験においては、問題は認められていない。

表5に本年度参加機関における、2015～19 年度の結果判定一覧を示した。ここでは、過去 5 年間の比較をしやすくするために、2016 度までの報告菌数から見た判定による結果も記載した。5年連続で参加した機関は 50 機関あった。本年度は、配付試料において濃縮工程の影響による発育抑制が過去の精度管理時より高かった可能性も考えられたが、これまでと同じ方式で以下に報告する。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 32 機関あった。このうち 10 機関は連続で良好範囲外を報告しており、回収率判定を実施している 2017 年度から3年連続で良好範囲外を報告していた機関も5機関あった。一方、2016 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 32 機関あり、うち5年連続が2機関、4年連続が1機関、3年連続が4機関、2年連続が 10 機関あった。この中には、回収率は良好結果を報告していたが、常に報告菌数で低い値を報告している機関もあり、潜在的に不安定な状況である可能性がうかがえる機関も複数あった。また複数年参加している機関で、参加以来目標良好外を報告している機関も5機関あった。以上、回収率、報告菌数を総合的に見ると、5 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 37 機関あった。この中には、検査結果が安定する方向に向かっている機関もあるが、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等、それぞれの結果

に応じた認識の共有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る。なお、安定している、安定傾向にある機関として、5年連続良好な結果を報告している機関が9機関、4年連続が3機関、3年連続が3機関、2年連続が7機関あった。

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、コンラージ棒による塗抹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手技が必要である。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、塗抹の力加減、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。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。特に初参加の機関や検査担当者を変更した機関では、これまでも良好範囲外を報告する傾向が認められることから注意が必要である。引き続き研究班でも回収率の向上と安定に向け検討したいと考える。

2) 2018年度外部精度管理に係るアンケート調査及び検査法技術指導

アンケート調査で収集したコメントを表6に示した。良好範囲外の結果から改善したという機関のコメントを集約すると、

- ①濃縮をろ過濃縮法へ変更。
- ②ろ過フィルターをポリカーボネート製(ポアサイズ $0.2\mu\text{l}$)へ変更。
- ③ファネルの洗い出し工程を追加。
- ④培地への塗布方法を改善し、コンラージ棒

によるソフトタッチな塗抹を意識した。

- ⑤培地の検討(種類、乾燥度合い)
- ⑥濃縮工程全体を見直し、ミスを改善。
- ⑦報告値の記載ミスがあったため、検査チェックシートを改善。
- ⑧レジオネラ属菌検査セミナー(日水製薬主催)に派遣して、改めて検査工程を確認。

一方、上手く改善が進んでいない機関のコメントを集約すると、

- ①明確な改善ポイントが見つからず苦慮している。
- ②検査機会が少ない、検査担当者の入れ替わりが激しいなどで、技術の継承、維持に苦慮している。

という内容になると思われた。改善点が明確で上手く対応できた機関がある反面、明確な改善点が見つからず苦慮している機関もあった。後者は、今回直接技術指導を行った3機関のうち2機関も同様の状況であった。直接技術指導を行った3機関の過去の結果を表7に示す。検査機関A、Bは明確な改善ポイントが見つからず苦慮していた。現地で機材確認や検査担当者からも状況説明を受けたが、明確な問題点は見つからなかった。研究班からは、培地の取扱い、ろ過フィルターの洗い出し、培地塗布時のコンラージ棒によるソフトタッチな塗抹等を中心に、これまでの研究報告同様の説明をし、改めて検査全体を丁寧に実施することを心がけるよう求めた。これら2機関からは、本年度良好な結果報告がなされている。このことから、研究班の確認により、機材や検査工程で問題がなければ、明確な改善ポイントが不明だった場合において、検査工程全体に対し改めて注意を払い、一つ一つの作業を丁寧に対応することが、改善に繋がる要素の一つと考えられた。一方、機関Cは年間を通じて検査機

会が少ない状況にあった。今年度も良好な結果が得られなかったが、過去3年間の検査工程等に問題があったことが明確となり、本年度改善に向け対応した結果、あと少しの検査工程の見直しにより、良好範囲に入る可能性の高い回収率10%以上20%未満の範囲での報告値となっていた。今後ポイントを押さえればより改善に向かうと思われた。

今回、直接技術指導を行った機関では、いずれも改善方向に進んでいると思われた。直接現場で検討会を行うことで、改善に向かう機関は他にもあると思われる。各検査機関で使用機材が異なること、検査の考え方や検査頻度等に違いもあるため、簡単ではない部分もあるが、次年度以降も引き続き直接現場に向き確認作業を行いたいと考える。また、現在、改善を検討中の機関もあること、本年度の報告値が全体的に低かったことなどからも、次年度もアンケート調査を実施し、情報の共有に努めたいと考える。

3) 検査研修システムについて

これまで継続的な研修という意味合いでは、2014、2016、2018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、研究班推奨法に沿った実習を伴ったレジオネラ検査研修会がある。内容的には、充実したものであったが、その反面、規模が大きく、準備、調整には大きな労力と時間を要すること、今後継続できるかは不明であること、行政機関のみを対象にした研修会であったことが問題点として挙げられていた。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が毎年開催されている。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研究班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、難航していた。そこで本年度、2013年8月、2019年4月に、民間機関として実習を伴ったレジオネラ属菌検査研修実績のある関東化学株式会社に打診し、研究班との間で継続的な研修会実施に係る協議を行った。その結果、規模を調整することで一定の基盤が整いつつあり、現在、次年度試行的に開催できるよう準備を進めている。

D. 結論

1) 精度管理

本外部精度管理事業は、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はこれまでも報告しているところである。一方、本年度の配付試料において、日水製薬及び北海道立衛生研究所における確認実験で問題は認められていないが、選択分離培地の選択剤に対する感受性がこれまでよりも高かった可能性、濃縮工程の影響による発育抑制が過去の精度管理時より高かった可能性も考えられた。また、配付試料の色に違和感を覚えながら検査をした1機関において、低い回収率となったことから、新たな試料で再検査をしたところ良好な結果が得られたとの報告もあった。これらのことから、改めて参加機関側、配付試料側、双方について検証したいと考える。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連携が必要と思われる。

2) 2018年度外部精度管理に係るアンケート調査及び検査法技術指導

アンケート調査からは、各検査機関の現状把握ができた一方で、検査が不安定な施設への対応が改めて求められた。今年度技術指導を行った施設においては、結果改善が認められたことから、引き続き直接技術指導を行えるよう努めたい。また、現在、改善を検討中の機関もあること、本年度の報告値が全体的に低かったことなどからも、次年度もアンケート調査を実施し、情報の共有に努めたいと考える。

3) 検査研修システムについて

検査研修システムについては、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、難航していた。本年度、関東化学株式会社と連携することで一定の基盤が整いつつある。現在、次年度試行的に開催できるよう準備を進めている。

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)「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.

3) 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.

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)「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

1) 森本 洋、小川恵子、三津橋和也:レジオネラ症患者の喀痰からいかにしてレジオネラ属菌を検出するか、第 68 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、2019 年 10 月、仙台

2) 森本 洋:公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について、厚生労働省令和元年度生活衛生関係技術担当者研修会、2020 年 2 月、東京都

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

レジオネラ属菌検査実施施設様 各位

2019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「2019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.「2019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ご施設様

■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	「2019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）。 2019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）
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2019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。
10月18日（金）	参加募集締切
11月18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。
11月29日（金）	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。
11月19日（火）～ 12月20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。
12月20日（金）17時	回答締切
1月24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。
2月28日（金）	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

2019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

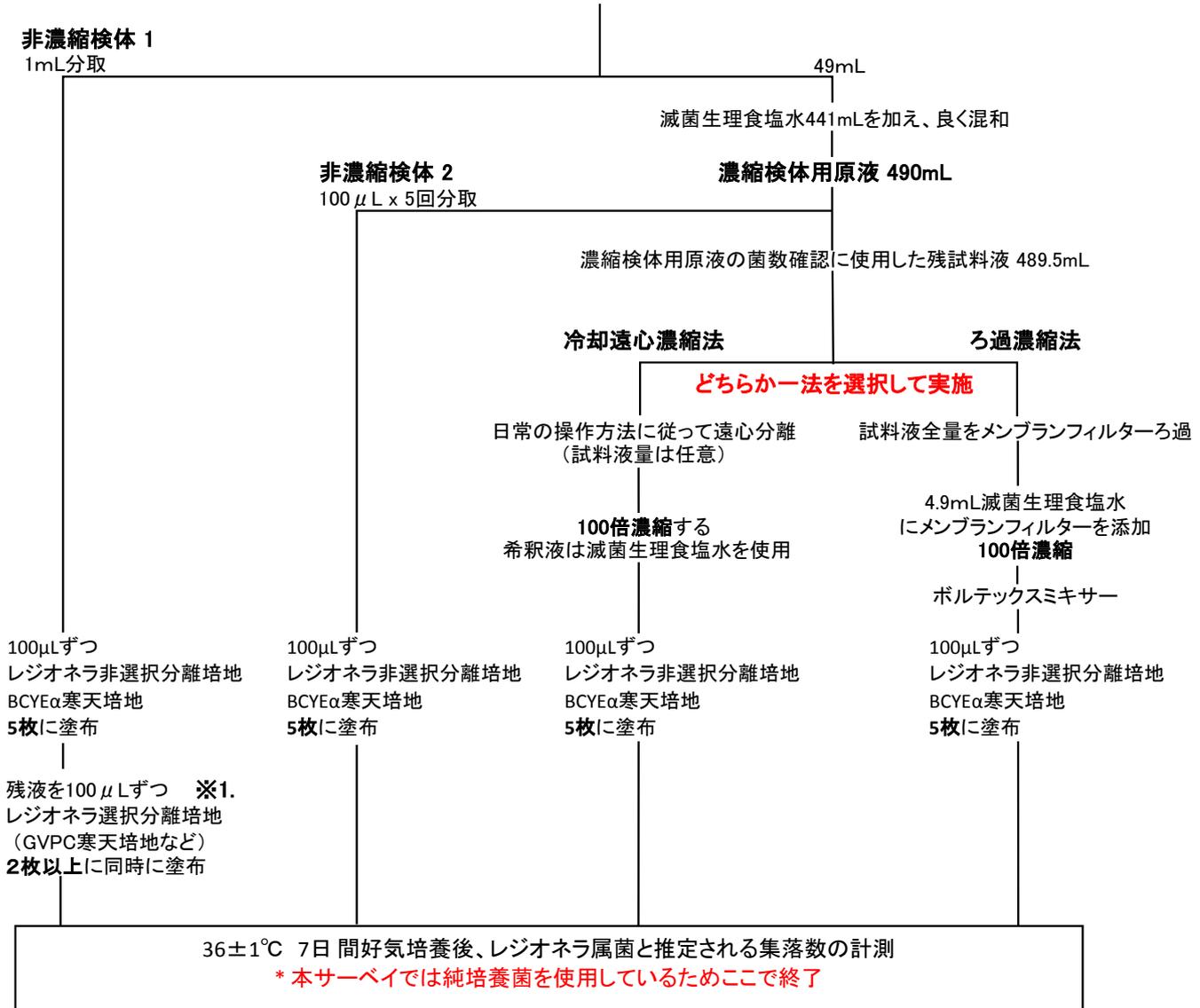
予告なく実施スケジュールが変更となることがあります。変更後のスケジュールは、メール等にてご連絡いたします。

以上

2019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



■ 2019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。2019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。

2019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、2019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
11/19(火)～20(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。
12/20(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12/20(金) 17時とさせていただきます。
2/28(金)	■ 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

2019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
		濃縮検体		
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)	非選択分離培地 (5枚)	
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（2019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 別添 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法(薬生衛発 0919 第 1 号)より抜粋 ■参考情報 別添 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法(薬生衛発 0919 第 1 号)より抜粋

・遠心加速度 $6,000g$ で 10 分又は $3,000g$ で 30 分、 $15\sim 25^\circ\text{C}$ で遠心する。遠心はブレーキ設定せず、自然に停止するのを待つ。

・使用機器で遠心加速度設定ができない場合は、以下の式で計算する。

遠心加速度(g)= $1,118\times$ 回転半径(cm) \times 回転速度²(rpm) $\times 10^{-8}$

- (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 別添 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法(薬生衛発 0919 第 1 号)

- ・メンブランフィルター：ポリカーボネート製で、ポアサイズ 0.20 μ m 又は 0.22 μ m と記載されている

■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

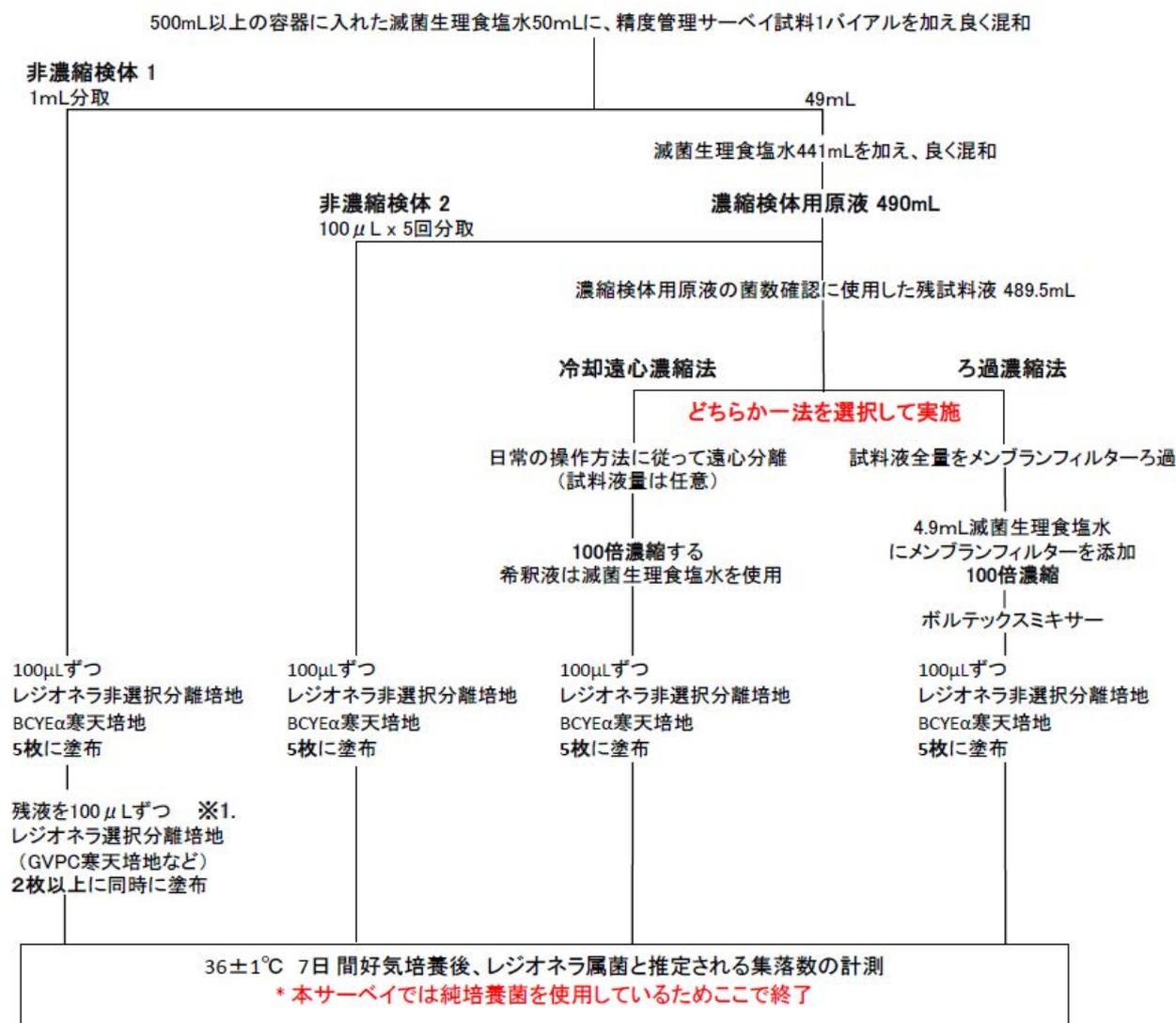
3. 結果入力方法

- (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。

2019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 / IS011731:1998 / IS011731:2017)



■ 2019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。2019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。

2019 年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

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。

- 別添 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法(薬生衛発 0919 第 1 号)
IS011731 : 2017 IS011731 : 1998 新版レジオネラ症防止指針 1999
第 4 版レジオネラ症防止指針 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

■2019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

■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) 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。

GVPC 寒天培地

WY0 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

(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

■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 = 平均値 × 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

--

□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。

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
バイオメリュー・ジャパン 極東製薬工業 メルク その他

(5) 遠心加速度は何 g ですか。 g

(6) 遠心時間は何分間ですか。 分

(7) 設定温度は何℃ですか。 °C

■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
バイオメリュー・ジャパン 極東製薬工業 メルク その他

(5) フィルターの材質は何ですか。

ポリカーボネート その他

(6) フィルターのポアサイズは何 μm ですか。

μm

(7) ボルテックスミキサーは何分かけていますか。

分

以上

2019年11月18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、11月21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： 2019年 11月 日

貴施設名
ご所属部署
ご担当者名 ⑩
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

表1 全参加機関報告菌数 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	5020	1300	4200	1538		42	2420	800	2400	626	
2	660	130	1000	68		43	1400	150	2000	410	
3	8300	2070	7200	12		44	980		1600	28	
4	4800	760	4600	590		45	4000	1300	4400	12	
5	5180	950	5600	1134		46	3860	1330	6000	1540	
6	3580	1130	1600	680		47	6100	2380	6600	2066	
7	1520	500	1200	182		48	2740	650	2600	892	
8	4480	900	3600	1804		49	660	120	400	92	
9	2040	3080	2800	224		50	4900	1100	6600	1518	
10	6400	1150	7600		584	51	1580	500	1200	70	
11	7300	3370	4200	1936		52	2320	200	2400	846	
12	4540	3100	5000	36		53	4460	1180	2800	1062	
13	2400	950	2000	472		54	3880	1050	3000	138	
14	2820	830	2800	774		55	4920	1630	5400	1640	
15	2700	575	5800		248	56	7240	1480	4200	2822	
16	2720	950	3200	586		57	5200	1900	93200		976
17	500	950	200	28		58	6240	3000	6200	2442	
18	4700	550	3600	1696		59	4700	3630	6000	1400	
19	5280	1930	5000	1042		60	3400	300	4200	516	
20	5240	1950	5000	2052		61	2600	240	2000	0	
21	2420	1400	1800	644		62	3340	1130	4200	4	
22	5320	2330	3600	734		63	2500	760	3800	506	
23	5980	1770	6600	1620		64	3940	600	2400	202	
24	1120	140	0	224		65	5800	3900	4800	2504	
25	4800	1250	6200	1196		66	4300	1900	2400	576	
26	4100	3780	37000	2180		67	3300		2200	980	
27	4200	2080	4000	1272		68	5180	2240	6800	1462	
28	7080	2840	6200	1286		69	1680	880	2000	870	
29	5240	1270	7000	476		70	3100	980	2200	894	
30	5260	1450	5200	1748		71	10540	5000	13400	4888	
31	5900	2570	8200	2796		72	1460	230	2800	328	
32	3300	550	3600	1358		73	0	0	0	0	
33	3820	500	4800	0							
34	2120	800	2400	95							
35	3920	600	3600	1006							
36	4180	2750	6400		390						
37	3700	1200	2400	72							
38	7960	1950	10200	916							
39	4020	1000	7200	0							
40	5500	2300	4800	1714							
41	1980	270	1800	1008							
						平均値	3984	1415	5745	964	550
						最大値	10540	5000	93200	4888	976
						最小値	0	0	0	0	248
						中央値	4000	1130	4000	846	487
						対象機関	73	71	73	69	4
						良好機関	71(97%)	55(77%)	67(92%)		

* 選択分離培地による結果

表2 設定良好範囲内菌数報告施設数の割合(2016-19年度)

年度	参加施設数*	非濃縮①	非濃縮①選択分離	非濃縮②
2016	71	97%	87%	94%
2017	71	99%	91%	93%
2018	70	97%	93%	97%
2019	73	97%	77%	92%

* 各項目で非回答の施設有り

表3 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	30.6	36.6	28	18.2	20.7	55	33.3	30.4
2	10.3	6.8	29	9.1	6.8	56	39	67.2
3	0.1	0.2	30	33.2	33.6	57	18.8	1
4	12.3	12.8	31	47.4	34.1	58	39.1	39.4
5	21.9	20.3	32	41.2	37.7	59	29.8	23.3
6	19	42.5	33	0	0	60	15.2	12.3
7	12	15.2	34	4.5	4	61	0	0
8	40.3	50.1	35	25.7	27.9	62	0.1	0.1
9	11	8	36	9.3	6.1	63	20.2	13.3
10	9.1	7.7	37	1.9	3	64	5.1	8.4
11	26.5	46.1	38	11.5	9	65	43.2	52.2
12	0.8	0.7	39	0	0	66	13.4	24
13	19.7	23.6	40	31.2	35.7	67	29.7	44.5
14	27.4	27.6	41	50.9	56	68	28.2	21.5
15	9.2	4.3	42	25.9	26.1	69	51.8	43.5
16	21.5	18.3	43	29.3	20.5	70	28.8	40.6
17	5.6	14	44	2.9	1.8	71	46.4	36.5
18	36.1	47.1	45	0.3	0.3	72	22.5	11.7
19	19.7	20.8	46	39.9	25.7	73	-**	-**
20	39.2	41	47	33.9	31.3			
21	26.6	35.8	48	32.6	34.3	平均値	22.2	22.5
22	13.8	20.4	49	13.9	23	最大値	53.2	67.2
23	27.1	24.5	50	31	23	最小値	0	0
24	20	-**	51	4.4	5.8	中央値	22.2	21.5
25	24.9	19.3	52	36.5	35.3	対象機関	73	73
26	53.2	5.9	53	23.8	37.9	良好機関	40(55%)	41(56%)
27	30.3	31.8	54	3.6	4.6			

* 参考

** 分母となる数値が0

表4 回収率の比較(分母:非濃縮②、2017-19年度) (%)

年度	良好機関割合	全体平均値	良好平均値	良好最大値	良好最小値	良好中央値	<20%平均値
2017	52	32.9	42.4	96	20	39.9	10.9
2018	74	47.8	47.6	94.5	20.2	43.1	12.1
2019	56	22.5	34	67.2	20.3	34.1	6.7

図1 回収率の比較(分母:非濃縮②)

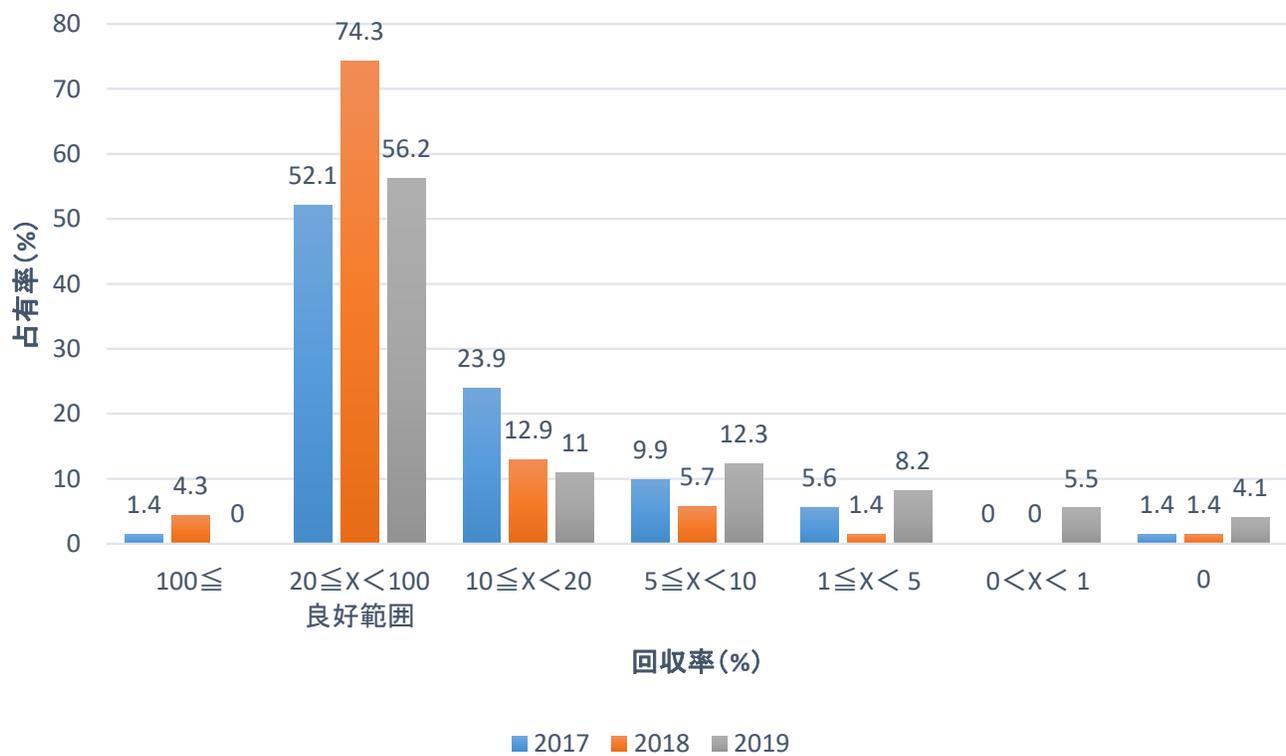


表5 2015~2019年度結果概略(2015/2016/2017/2018/2019、良好範囲(菌数○、回収率(分母非濃縮② 2017~)黒字)、範囲外(菌数*、回収率(2017~)赤字、検査項目外又は不参加: -)

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	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○		38	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/*/○/○/○	
2	-/-/○/○/○	-/-/*/○/○	-/-/*/○/*		39	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/○/*/*	
3	-/-/-/○/○	-/-/-/○/○	-/-/-/○/*		40	○/○/○/○/○	-/*/○/○/○	○/*/○/○/○	
4	-/○/○/○/○	-/○/○/○/○	-/-/*/*/*	-/*/-/-/-	41	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/○/○/○	
5	-/○/○/*/○	-/○/○/*/○	-/-/-/-/○	-/*/○/*/-	42	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○	
6	○/○/-/○/○	-/○/-/○/○	*/*/-/*/○		43	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/*/*/*	
7	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/*/*		44	*/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/*/○/*	
8	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○		45	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/*/*	
9	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/*/*		46	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○	
10	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○		*/○/*/*/*	47	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/○/○/○	
11	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/*/*/○		48	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	-/-/○/*/○	*/*/-/-/-
12	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/*/*/*/*		49	○/○/○/○/○	-/○/○/○/*	○/○/○/○/*	
13	*/○/○/○/○	-/*/○/○/○	*/*/*/*/○*		50	-/-/○/○/○	-/-/○/○/○		-/-/○/○/○
14	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/*/*/○/○		51	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○	-/-/-/-/*	
15	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	-/-/○/-/-	*/○/-/○/*	52	○/-/○/○/○	-/-/○/○/○	○/-/○/○/○	
16	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/*/*/○/○*		53	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/*/*/*	
17	-/-/○/○/*	-/-/○/○*	-/-/○/○/*		54	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/*/○/○/*	
18	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/○/○/○		55	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○	
19	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/○/*/*		56	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○	
20	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/*/*/○/○		57	-/○/○/○/○	-/○/*/*/*		-/*/○/○/○
21	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○		58	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○	
22	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○		59	○/○/-/○/○	-/○/-/○/○	○/○/-/*/*	
23	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○		60	○/○/○/○/○	-/○/*/*/*	*/*/*/*/*	
24	-/-/*/○/○	-/-/*/○/*	-/-/*/*/*		61	-/-/-/-/○	-/-/-/-/○	-/-/-/-/*	
25	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/*/*/○		62	-/-/○/○/○	-/-/○/○/○	-/-/○/○/*	
26	-/○/○/○/○	-/○/○/○*	-/○/○/○/○		63	*/○/○/○/○	-/○/*/*/*	*/○/*/*/*	
27	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○		64	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/*/*/*	
28	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○		65	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/○/○/○	
29	-/-/-/○/○	-/-/-/○/○	-/-/-/*/*		66	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	*/○/○/*/*	
30	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/*/*		67	○/-/○/○/○	-/-/○/○/○	-/-/○/○/○	
31	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○		68	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	-/*/*/*/*	*/-/-/-/-
32	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○		69	○/○/○/*/*	-/○/○/*/*	○/*/*/*/*	
33	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/*/*		70	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	-/○/○/*/*	*/-/-/-/-
34	○/*/-/○/○	-/*/-/○/○	*/*/*/*/○*	-/○/-/-/-	71	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	-/○/○/○/○	
35	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/○/○/○/○		72	○/○/○/○/○	-/○/○/○/*	○/*/*/*/*	
36	○/○/○/○/○	-/○/○/○/○	○/-/-/-/-	○/○/○/○/*	73	○/-/-/○/*	-/-/-/○/*	○/-/-/*/*	
37	○/○/○/○/○	-/*/*/○/○	*/*/*/*/*						

表6 アンケート調査コメント一覧

* 本調査は、白水製薬が主催した「2018年度 レジオネラ属菌精度管理サーベイ」に参加した施設を対象にしております。

設問		全国集計	
1: 機関名			
2: 担当者名			
3: メールアドレス			
	選択番号	詳細コメント	
4: 昨年度(2018年度)の自施設の外部精度管理の結果について			
1. 良好範囲 2. 良好範囲外 (1. の場合は8へ)	1:52, 2:17		
* 4: で 2と回答した施設にお尋ねします。(5.6)			
5: 良好範囲外だったのは以下のどの結果でしたか?			
1. 菌数 2. 回収率 3. 両方	1:0, 2:15, 3:2	A:濃縮検体について下限良好範囲外	
6: 良好範囲外の結果を受け、何か改善を試みましたか?			
1. 試みた(その内容を記載下さい) 2. 試みなかった(理由等記載下さい)	1:13, 2:4	<p>1</p> <p>A:原因を推測し、改善措置および再発防止策として、以下の2点を行った。・ポルテックス操作の改善 ・検査担当者をレジオネラ属菌検査セミナーに派遣。 B:ろ過濃縮の手順を確認した。 C:検査法を冷却過心法からろ過濃縮法に変更した。 D:保存菌株を用いて同様に試験を実施したが、菌数・回収率ともに問題はなかったため、原因がわからず苦慮している。 E:フィルターホルダーの洗い方を変えた。 F:ろ過濃縮の工程で、ろ過した後にホルダーをよく洗うこととした。 G:ポルテックスをかける時間を長くした。他自治体から情報収集を行っている。 H:塗抹法の改善(濃縮検体の回収率が低かった。濃縮検体についてソフトタッチの塗抹を実施、培地辺縁に菌集落ができたが、単独コロニーでないため菌数算定から除外したことが原因と考えられた) I:内部精度管理を実施し、全検査工程を確認した。その際に、フィルターや培地等の検討も行った。 J:非濃縮検体の菌数は、良好範囲内なので、ろ過濃縮時に問題があると思われる。そのため、ろ過の工程を確認したが、不明な点等が多く苦慮している。 K:全行程の振り返し検証を行ったが、改善箇所は判明しなかった。 L:全検査工程の確認(試薬、フィルター等の器具機材、ワークシート)の確認を実施した。 M:培地塗布数日後に生えたコロニーについて、遺伝子検査の結果、レジオネラ属菌陰性と判定した。さらに数日後に生えたコロニーについても同様の形態で陰性で見做したため、下限良好範囲外となった可能性があった。別日に生えたコロニーについても遺伝子検査するようにした。</p> <p>2</p> <p>N:ろ過濃縮したフィルターからの再浮遊に問題があったと思われるが、今回の方法と日常検査では工程が若干異なるため、改善するに至らなかった。 O:濃縮工程において何処が適切でないのかは不明で改善には至っていないが、フィルターの取扱い、ポルテックスによる回収、接種等については細心の注意を払っている。 P:検査方法を確認した結果、試料をろ過した後、試料の溶解に用いた容器の内部を洗った滅菌生理食塩水もろ過する必要があるのではと考えたが、試料の作成等ができず検討することができなかった。 Q:検査工程を確認してみたが、原因となる箇所がわからなかった。</p>	
* 6: で 1と回答した施設にお尋ねします。(7)			
7: 改善を試みた結果			
1. 改善箇所が判明した(具体的な改善策を記載下さい) 2. 改善箇所が判明しなかった(理由等記載下さい)	1:4, 2:9	<p>1</p> <p>B:ろ過濃縮に使用したフィルターホルダーの使用方法を誤っていたことが分かった。 C:ろ過濃縮法に変更し、回収率が改善した。 H:塗抹法の改善(菌液がある程度、培地に浸透するまで、ソフトタッチで塗布を行うこととした) I:BCYE α 培地の培地メーカーによる回収率に差があった。回収率がよく、コロニー形態も見やすい関東化学社のBCYE α 培地を用いることとした。また、ろ過濃縮後に壁面を200mLで洗い出したことで、回収率が良くなった。</p> <p>2</p> <p>A:検証方法がないため。 F:業務としては、略痰検査は実施しているが、浴槽水検査を実施していないため。 G:検査工程を確認してみたが、改善箇所を見つけることができていない。 J:ろ過工程のどこ段階で菌数が減少しているか、見つかることができていない。 L:工程に特に大きな改善点は見当たらなかった。今後添加回収試験を実施し、詳細な検討したい。 M:再検査は実施していないため、不明である。 N:非濃縮法を併用するなどして、濃縮法による結果をチェックしている。</p>	
8: 過去のサーベイの結果について			
1. 良好範囲外があった 2. 良好範囲外は無かった 3. 参加していない	1:28, 2:36, 3:4, その他:不明1	<p>1</p> <p>A:H29不参加、H28濃縮検体下限良好範囲外。 M:2017及び2015年度は良好範囲外は無かった。2016年度は濃縮検体ろ過濃縮法が「下限良好範囲外」であった。 R:2015.2016年度のろ過濃縮法のみ下限良好範囲外。 その他 N:不明。</p>	
* 8: で 1と回答した施設にお尋ねします。(9)			
9: 良好範囲外の結果を受け、何か改善を試みましたか?			

表6 アンケート調査コメント一覧

* 本調査は、日水製薬が主催した「2018年度 レジオネラ属菌精度管理サーベイ」に参加した施設を対象にしております。

設問		
<p>1. 試みた(その内容を記載下さい) 2. 試みなかった(理由を記載下さい)</p>	<p>1: 20、2: 8</p>	<p>1 A: 原因工程および操作について推測・検討し、自家調整検体を用いて内部精度管理を実施することとした(実施できず)。 B: 初回のサーベイでは、濃縮方法を見直した。2回目のサーベイでは、培養手順を確認した。 D: 保存菌株を用いて同様に試験を実施したが、菌数・回収率ともに問題はなかったため、原因がわからず苦慮している。 E: 培地への塗布の際、力を入れずやさしくそっとコーンラージするようにした。 H: 培地メーカー毎の比較、塗布方法の検討。 K: 全行程の振り返り検証を行ったが、改善箇所は判明しなかった。 S: 操作上の問題ではなく検体希釈倍率の計算上の誤りがあったため、記録シートを改良し計算式を記録することとした。 T: 全検査工程を確認してみたが、どこが適切でないのか苦慮している。 U: 濾過濃縮後、フィルターからポルテックスにて菌を回収する方法の検討を実施した。具体的には、容器の種類、フィルターの捕集面の向き、ポルテックス以外の回収方法(超音波処理)などの検討を実施した。 V: 2015年に冷却遠心法で良好範囲外の結果だったため、ろ過法へ切り替えた。翌年、ろ過法で良好範囲外となった。そのときは全工程を再度確認したが、不明な点も多く苦慮した。 W: 再度、精度管理の検体を購入し検査した。 X: フィルターをポルテックスにかける時間を延長する等の変更を加えたが、それが適切なかは不明で、苦慮している。 Y: 日水製薬株式会社主催のレジオネラ属菌検査セミナーに参加し、手技を確認。コンラージにて塗りのばす際のソフトタッチの徹底、フィルターを50mL遠沈管に入れる際の注意の周知をした。 Z: 濃縮検体だけでなく非濃縮検体も菌数が少ない傾向があったため、検体塗布以降の検査工程に改善可能な点がないか検討した。 a: 濃縮工程を冷却遠心濃縮法からろ過濃縮法に変更した。 b: 濃縮後の結果が範囲外であったため、ろ過後に容器内をPBSで洗浄する、フィルターを乾燥状態にしない、ポルテックス中はフィルターがPBSに触れていることを確認する等、菌が弱らないよう注意を払うようにした。 c: レジオネラ属菌検査セミナーへの参加。 d: 冷却遠心濃縮法からろ過濃縮法(ポリカーボネート製フィルター使用)へ変更した。 e: 濃縮水からの回収率に問題があったので、当時使用していたフィルターでの回収率を確認し、フィルターに問題があることが判明した。 2 C: 精度管理サーベイの方法と通常の検査の方法は異なるため。 M: 良好範囲内の対数値は3.48~4.89に対し、報告値(対数)は3.44であり、僅かに外れてしまった可能性があり、参加施設全体も下限側に分布していた。 P: 検査方法を確認した結果、試料をろ過した後、試料の溶解に用いた容器の内部を洗った滅菌生理食塩水もろ過する必要があるのではと考えたが、試料の作成等ができず検討することができなかった。 R: 2015,2016年度のろ過濃縮法のみ下限良好範囲外であったため。また、2017,2018年度では、実施した全ての項目で良好範囲内であったため。 f: 原因が培地の調整ミスと明らかであったため。 g: 記録がなく、理由は不明です。 h: Bioballを溶解しただけなのに添加菌量の10分の1であり、当センターに問題がないと判断した(回収率に問題はなかった)。 i: 原因不明のため、特に改善を試みなかった。</p>
<p>* 9: で1と回答した施設にお尋ねします。(10)</p>		
<p>10: 改善を試みた結果</p>		
<p>1. 改善箇所が判明した(具体的な改善策を記載下さい) 2. 改善箇所が判明しなかった</p>	<p>1: 11、2: 9</p>	<p>1 B: 初回のサーベイ結果を受け、濃縮法を冷却遠心濃縮法からろ過濃縮法に変更した。2年目のサーベイ結果を受け、培養時はシャーレのふたを上にするようにした。 E: 非濃縮検体の菌数について、改善が見られた。(培地への塗布の際、力を入れずやさしくそっとコーンラージする) S: 操作上の問題ではなく検体希釈倍率の計算上の誤りがあったため、記録シートを改良し計算式を記録することとした。 U: フィルターの捕集面の向きを容器の底面に対して上向きから下向きに変更した。また、回収方法をポルテックス1分間から超音波処理24秒に変更した(精度管理では指定通りポルテックスにて実施)。 V: 冷却遠心法からろ過法への切り替えを行った。ろ過法でも良好範囲外の結果報告があり、過時の吸引が強すぎるのかと考え、吸引を弱めに行うように心がけたところ2017年からは良好範囲内である。 Y: その後上記を徹底し実施したところ、良好範囲外と出た翌年より良好範囲となった。 Z: 培地塗布時におけるコンラージ棒の力加減が発育集落数に影響する可能性を検証し、ターンテーブルを導入のうえソフトタッチを意識して塗布するようにした。 a: 濃縮工程を冷却遠心濃縮法からろ過濃縮法に変更すると良好範囲内になった。 d: 検査法の変更により、回収率が上がった。 e: 濃縮に使用するフィルターをセルロース混合エステル素材、ポアサイズ0.45µmのフィルター(37mmモニターユニットシステム)からポリカーボネート素材、ポアサイズ0.2µmのフィルターに変更した。 j: 2015年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイにおいて、ろ過濃縮法で、良好範囲外があったが、回収率は低くなかった。よって、濃縮工程以外の試料の混ぜ方、培地への接種量、コンラージの力加減などを中心に改善を試みた。 2 A: 検証方法がないため。 T: 当所では、冷却遠心濃縮法で実施している。良好範囲内および良好範囲外でも、結果は下限値に近く改善箇所が判明しない。 W: 精度管理と同じように検査をしたが、再検査では良好な結果となったため、問題点がわからなかった。 X: 2018年度については良好な結果であったが、それが、ポルテックス時間の延長によるものなのか判明していない。 b: 改善以降、範囲外となったことはないが、具体的にどの対応が良かったのかは不明。 c: 改善箇所は判明しなかったが、翌年以降は良好な結果が得られている。</p>
<p>—* その他 *— 自由に記載下さい。</p>		
		<p>A: 外部精度管理以外に改善措置について検証の手段・機会がなく、精度管理に苦慮している。また、業務経験の浅い職員が入れ替わって参加していることも、連続して良好範囲外の結果が出ている要因の一つとして考えられる。B: 当センターでは、本サーベイ以外でレジオネラ属菌を扱う機会が非常に少なく、技術の維持に苦慮している。 E: 検査工程の改善箇所を見つけるべく、2018年度レジオネラ属菌検査セミナーを受講する等したが、改善箇所が見つからず苦慮している。研究班から直接アドバイスを頂きたい。 G: 当所では、回収率が低い原因が見つからず苦慮している。 L: 当所では、検査員の入れ替わりが激しく、また、レジオネラの検査も年に数件しかないため、技術の維持が課題である。レジオネラの実技研修会があれば参加したい。また、このような精度管理で良好範囲外の場合の適切な対処法や適切な添加回収試験の方法があれば知りたい。 M: 2019年度に入って、レジオネラ症患者発生に伴う検査が例年より多いが、全国的にも多いのでしょうか。何か要因はあるのでしょうか。 O: 研究班から直接アドバイスを頂くことは可能でしょうか。 V: 本アンケートの主旨とは異なると思いますが、研究班でレジオネラの外部精度に参加した自治体間の結果をフィードバックしていただけたらとありがたいです。 Z: サーベイ結果入力時のアンケート集計で、サーベイ成績と有意に連動する項目があるようなら、ぜひ情報還元をお願いしたい。 l: 2018年度は冷却遠心法での精度管理の参加でしたが、今年度からろ過濃縮法へ切り替えました。今年度の精度管理にも参加予定ですが、その際に良好範囲外になれば他所にアドバイスをもらうことになると思います。 k: 検査者の技量等の確認の意味でも地衡研として精度管理の継続をお願いしたい。 m: 当センターは良好範囲内ではありますが、回収率が高いわけではありません。ワーキンググループの方法をしっかりと見ながら行っているつもりですが本当に出来ているのかわかりません。</p>

ご協力ありがとうございました。

表7 直接技術指導を行った3機関の過去4年間の結果

機関	非濃縮①	非濃縮②	ろ過濃縮	遠心濃縮
A	○/○/-/○	-/○/-/○	*/*/-/*	
B	○/○/○/○	-/○/○/○	○/○/*/*	
C	-/○/○/○	-/○/○/○	-/-/*/*	-/*/-/-

(2015/2016/2017/2018、判定は表5に準じる)