

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3年度協力研究報告書

レジオネラ属菌検査精度の安定に向けた取り組み

研究代表者	前川 純子	国立感染症研究所
研究分担者	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	○森本 洋	北海道立衛生研究所
	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
	陣内 理生	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
	吉野 修司	宮崎県衛生環境研究所

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、本年度は外部精度管理のさらなる検討を行った。

令和元年9月に「公衆浴場における衛生等管理要領等」が改正され、「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」の通知(薬生衛発0919第1号)が出されたが、この通知の中では、精度管理が必須と記載されている。研究班で進める外部精度管理は国内唯一のレジオネラ属菌検査サーベイであり、その重要性は極めて高い。本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、2021年度は公的、民間を問わず全国184の検査機関、191名に対し行われた。研究班への協力として参加した地方衛生研究所等70機関については、独自に集計・解析を実施し、過去6年間の結果とも比較した。7年連続参加した機関は43機関あった。本年度は、配付試料製造元からこれまでの菌株を変更する旨の連絡があり、新たな供試菌株によるスタートとなった。これを受け、回収率良好範囲を再設定した。また研究班から参加した機関には、サーベイ指定法に加え、日常業務で行う検査条件による結果も求めた。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。これら特定の機関は毎年又は高頻度に良好範囲から外れる傾向にあり、検査工程を見直す必要がある。供試菌株変更に伴い、熱や酸による前処理や選択分離培地による供試菌への影響を調

査したが、これまでの供試菌株同様これら夾雑菌を抑制するための検査条件は、供試菌株の発育を大きく抑制し、サーベイ指定法以外の結果からは、外部精度管理の目的を達成することは出来なかった。本外部精度管理は、サーベイ指定法により、濃縮操作や培地接種操作などの基本操作の精度確認に主眼を置いている。ここから導き出された各機関の結果における全国での位置付けも、実施母体からの報告書内で確認することが出来る。なお、今回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、より安定した配付試料となるべく引き続き検証すべきと考える。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、実施主体となる民間会社との連携が必要である。

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、継続的かつ安定した外部精度管理調査システムの構築を目指すことを目的とした。

B. 研究方法

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 2021 年 9 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、11 月 5 日(金)に締め切られた。その後、12 月 6 日(月)に試料、試料送付案内、試料取扱遵守事項、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)を参加者に向け発送、回答期限 2022 年 1 月 21 日(金)17 時、結果閲覧開始を 3 月下旬とした。結果については、3 月 30 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)によりログインすることで閲覧可能となった。

<参加機関>

全国 184 の検査機関、191 名に対し実施された。うち研究班への協力機関として地方衛生研究所等 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、例年通りバイオメリュー社の BioBall(特注品)を使用した。なお、本年度はバイオメリュー社より、これまでの菌株を変更する旨の連絡があり、昨年度まで使用されていた製造メーカーが保有する *Legionella pneumophila* ACM 5197 から、新たな供試菌株 *Legionella pneumophila* NCTC 11986 により配付試料が製造された。

<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)。また、菌株変更を受け、研究班から参加した機関には、サーベイ指定法に加え、日常業務で行う検査条件による結果も求めた。なお、日常業務で行う検査条件とは、検査対象となる実検体においては様々な夾雑菌が混入している場合もあり、それら夾雑菌の培地上での発育を抑制するために、各種選択分離培地の使用に加え熱処理、酸処理、熱処理後酸処理等の前処理を併せて実施する検査工程を指す。

〈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 70 機関については、独自に集計・解析を実施し、過去 6 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、濃縮検体は×10)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 10,748.9 cfu/Ball、上限値 21,403.1 cfu/Ball) をレジオネラ属菌検査で使用される、検体 100 mL 中の cfu (colony forming unit) に換算すると、下限値 2,149.78、上限値 4,280.62 cfu/100 mL 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 1,000 cfu/100 mL と換算することから、結果は 1,000 cfu の整数倍となる。このことを勘案し、前述の 100 mL 中の cfu を下限値については 100 の位以下を切り捨て、上限値については切り上げ 2,000 ~ 5,000 cfu/100 mL 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 ~ 15,000 cfu/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、菌株変更に伴い再設定をした。設定は以下の通り。本年度の外部精度管理で報告を求めたすべての検体(非選択分離培地による非濃縮①、②、濃縮の検査結果)において目標良好範囲を報告した機関の 94% が達成していた 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、2022 年 3 月 30 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。

C. 研究結果及び考察

本年度の配付試料について、日水製薬及び北海道立衛生研究所でサーベイ指定法による確認実験を行ったが、品質に問題は認められなかった。

研究班で集計した地方衛生研究所等 70 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(2016-21 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、②共に 70 機関中 69 機関(約 99%)であり、非常に良い結果となった。例年 90% 以上の機関が良好な結果を報告し、事業開始以来安定した外部精度管理となっているが、過去 5 年間と比較しても最も良い結果であった。また、例年であれば、非濃縮検体①、②共に目標良好範囲外の報告をする機関があったが、今年度はそのような機関は無く、非濃縮検体①または②のみ目標良好範囲外(下

限良好範囲未満)の報告をした機関がそれぞれ1機関であった(非濃縮検体①:機関No.5、非濃縮検体②:機関No.58)。このうち機関No.58では、唯一報告菌数が0となっており、レジオネラ属菌不検出となっていた。これら2機関は、試料作製工程の確認、特に試料の混ぜ方について改めて確認する必要があると思われた。また、コンラージ棒での塗抹状況、特にその力加減、使用培地表面の乾燥加減等についても確認する必要があると思われた。最大値については、昨年度同様に良好上限を超える報告はなかった。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く、非濃縮検体②の平均値と比較し、ろ過濃縮、遠心濃縮検体の平均値はそれぞれ約59%、約85%低い結果となった。遠心濃縮を実施したのは3機関と少なかったが、その平均値は例年同様ろ過濃縮検体の結果を大きく下回る結果となっていた。一方、例年では濃縮結果でレジオネラ属菌不検出を報告する機関も散見されていたが、本年度は全ての機関で検出されていた。

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、過去のサーベイ同様非選択分離培地と比べ報告菌数の値が低く、非選択分離培地の平均値と比較し約47%低い結果となった。一方で、検査を実施した70機関中64機関(約91%)が目標良好範囲の菌数を報告していた。良好範囲を報告した機関数は、2016~18年度までは90%前後と高い値で推移していたが、2019年度は約77%、2020年度は約62%と減少傾向にあった。この要因の一つとして、2019、20年度は、供試菌株に対する培地の選択剤への感受性が高まっている可能性も考えられていた^{2, 3)}。しかしながら、本年度より新たな供試菌株となったことからこの影響

が解消され2016~18年度同様の結果になったと考えられた。

表3に回収率を示した。本外部精度管理では、非濃縮検体②が100倍濃縮のスタート検体であることから、非濃縮検体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検体①を分母とした場合も算出した。目標回収率20%以上100%未満を報告したのは、非濃縮検体②を分母とした場合、70機関中55機関(約78.6%)であった。非濃縮検体①を分母とした場合では、70機関中57機関(約81.4%)であった。どちらも80%前後の参加機関が目標回収率を達成する報告をしており、良好な結果だったと思われる。また、どちらの試料を分母にしても目標回収率を達成していたのは、70機関中54機関(約77.1%)であった。これは非濃縮検体②を分母とした場合に目標回収率を達成していた55機関のうち1機関を除く機関が該当しており、一連の基本検査工程が安定している機関であると思われた。一方、どちらの試料を分母にしても目標回収率を達成できなかったのは、70機関中12機関(約17.1%)であった。これは非濃縮検体①を分母とした場合に目標回収率を達成できなかった13機関のうち1機関を除く機関に該当し、基本の濃縮検査工程が不安定な機関であると思われた。

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るが⁴⁾、改めて過去のデータとの比較を行った。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2021年度までの回収率の比較(分母:非濃縮検体②)を表4と図1に示した。過去4年間を見ると、2018年度は良好機関が

74.3%、その他の年度は 50%台と、2018 年度が特別な状況に見えていた。しかしながら、今年度の結果は全体的に 2018 年度に近い傾向となり、良好な結果だと考えられた。今年度は、菌株変更に伴い良好範囲設定の定義を見直しているが、より多くの参加機関で良好な報告が多かったと言えるだろう。2018年度の良好範囲占有率の増加に繋がった背景として、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%未満の機関割合が前年度(2017 年度)では 23.9%と高かったことが一因と考えられていた。昨年度報告書においては、2020 年度は 2017 年度同様にこの区分での割合(20.8%)が高かったことから、この区分の機関が来年度も参加することで、良好範囲の機関が増えることを期待したい、と報告していた。今回 2018 年度と同様の傾向があったのではないかと考えられた。

表 5 に本年度参加機関における、2015～21 年度の結果判定一覧を示した。ここでは、過去 7 年間の比較をしやすくするために、2016 年度までの報告菌数から見た判定による結果も記載した。7 年連続で参加した機関は 43 機関あった。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 15 機関あった。このうち回収率判定を実施している 2017 年度から 5 年連続で良好範囲外を報告していた機関が 1 機関(機関No.5)、3 年連続が 4 機関(機関No.4、10、11、28)、2 年連続が 1 機関(機関No.63)あった。一方、濃縮検体についても 2016 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 11 機関あった。このうち本サーベイ開始以来 7 年連続で良好範囲外を報告していた機関が 1 機関(機関No.58)、6 年連続が 1 機関(機関No.5)、4 年連続が 1 機関(機関No.30)、3 年

連続が 3 機関(機関No.2、23、28)あった。この中には、回収率は良好結果を報告していたが、過去の参加において高頻度に少ない菌数を報告している機関もあった(機関No.23)。また、今年度は良好菌数を報告していたがこれまでに高頻度に少ない菌数を報告している機関、菌数は良好範囲内であったが、回収率では良好範囲外を報告した機関もあった。このように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ると思われる、注意が必要である。これまでも報告してきたが、菌数、回収率ともに良好範囲外を報告している機関は、特定の機関に偏る傾向があり、該当機関は十分に検査工程の見直しが必要である。特に、非濃縮①で唯一良好範囲外の菌数を報告した機関No.5 は、回収率では 5 年連続、菌数では濃縮検体で 6 年連続良好範囲外を報告している。また、非濃縮②で唯一供試菌の発育が認められなかった機関No.58 は、本サーベイ開始以来 7 年連続で菌数に対し良好範囲外を報告している。これら両機関を含め、本サーベイで気になる結果が認められた機関は、改めて自機関の検査工程、検査体制を見直し、例えば担当者が変わっても安定した基本操作ができるよう研鑽が必要である。

以上、回収率、報告菌数を総合的に見ると、検査結果が安定する方向に向かっている機関もあるが、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、その結果を次に活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た。その際、必ず複数人で検証することが肝要である。なお、安定している、または安定傾向にある機関として、表5にある全項目に対し7年連続良好な結果を報告している機関が6機関、6年連続が3機関、5年連続が2機関、4年連続が4機関、3年連続が4機関、2年連続が6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、培地への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機関の実態把握に努めることが肝要である。

研究班では、これまでに日水製薬の実施するセミナーで検査の基本的な考え方を伝え、また検査に不安を抱えている機関に出向き指導を行ってきたが、コロナ禍の影響を受け2年以上実施できていない。また、検査技術研修会の構築も進めてきていたが、コロナ禍の影響で中断となっている。今後は状況を見極め、検査技術の安定に向け対応したいと考える。

さて、本年度は菌株変更を受け、研究班から参加した機関には、サーベイ指定法に加え、日常業務で行う検査条件による結果も求めた。改めて記載するが、日常検査で行う条件とは、検査対象となる実検体においては様々な夾雑菌が混入している場合もあり、それら夾雑菌の培地上での発育を抑制するために、各種選択

分離培地の使用に加え熱処理、酸処理、熱処理後酸処理等の前処理を併せて実施する検査工程を指す。本サーベイでは、配付試料はレジオネラ属菌のみで夾雑菌は含まれていないこと、過去の検証で昨年度まで使用していた供試菌株に対する選択分離培地の使用さらに前処理との併用は、供試菌の発育を大きく抑制することが分かっており^{1, 4)}、外部精度管理の目的を達成することが出来ないためサーベイ指定法として位置づけていなかった経緯がある。

本年度の新たな供試菌株に対する異なる条件下での検査結果の比較を、表6、表7に示した。まず、表6に非濃縮検体②に対する結果を示した。ここでは1平板当たり数コロニーのレジオネラ属菌を発育させ、かつそこから求められる菌数が目標良好範囲内に入る技術を持ち合わせる必要がある。先にも記載したが、サーベイ指定法では非常に良い結果となり、適切な評価を行うことが出来た。一方、選択分離培地の使用は、例え前処理を行わなかった(未処理)としても確認される菌数がほぼ半減し、良好回答数の減少、不検出回答数の増加が認められた。さらに各前処理を併用した場合には、例え非選択分離培地であるBCYE α の使用であっても確認される菌数が大幅に減少し、良好回答数の大幅な減少、不検出回答数の大幅な増加が認められた。選択分離培地と各前処理の併用ではさらに影響が大きく、ほとんどの条件下で供試菌の発育が認められず、不検出回答数がほぼ100%であった。

表7に濃縮検体に対する結果を示した。本結果は、回収率ではなく表5でも評価した2016年度までの報告菌数から見た判定を当てはめ、表6同様に供試菌の発育状況から比較を行った。全体的に表6同様の結果であった。

サーベイ指定法では過去のサーベイ同様に適切な評価を行うことができる回答が得られていた一方、選択分離培地の使用、各前処理の実施、それらの併用は、供試菌の発育を大きく抑制し、良好な回答がほぼ得られなかった。これらの結果、本年度から採用された供試菌株においても、昨年度まで使用していた供試菌株同様に選択分離培地の使用さらに前処理との併用は、その発育を大きく抑制することが確認された。

これらのことから、現状の BioBall を配付試料とした外部精度管理においてサーベイ指定法以外の方法で検査をした場合には、適切な検査技術を持つ機関が、選択分離培地と前処理の影響で良好外機関と判定されることに繋がる懸念された。そもそも供試菌の発育が大幅に抑制され、条件によってはほぼ発育が認められない検査方法による外部精度管理は成り立たない。これまでにも報告してきたが、外部精度管理を実施する際には、配付試料の性能を熟知し、その性能が十分に担保される展開で、検査法のどの部分に重点を置いたものにするかを検討し対応すべきと思われた。もしサーベイ指定法と比べ選択分離培地の使用や前処理によって供試菌の発育が 10%程度しか抑制されなかったとしても、その結果はサーベイ指定法より評価を難しくすることに他ならない。今後、新たに外部精度管理の幅を広げるべくその方法を模索する場合は、十分な予備実験を踏まえ、実施母体である民間企業がスムーズに対応出来るよう検討が必要である。

なお、現在実施している外部精度管理は、様々な検証のもと、研究班のワーキンググループ内で協議され実現したことを申し添える。

D. 結論

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。回収率、報告菌数を総合的に見ると、検査結果が安定している、もしくは安定する方向に向かっている機関もあるが、いくつかの特定の機関については不安定、もしくは高頻度に良好範囲外となる報告をしている。これら注意を要する機関は、特に検査手技の再確認が必要である。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、その結果を次に活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。良好範囲報告機関割合を上げるためには、各機関においてレジオネラ属菌の性質を理解し、それに適した検査手技について適切に理解すること、検査担当者間差を無くすこと、検査担当者の異動等に伴う変更に対応すること、などが挙げられる。現在研究班で進める外部精度管理は国内唯一のレジオネラ属菌検査サーベイであり、その重要性は極めて高い。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考える。また、特に検査結果が不安定な機関や高頻度に良好範囲外を報告する機関に対し、適切なフォローアップができるよう、コロナ禍で中断している検査技術研修会の構築や研究班が直接検査工程を確認する機会を作る必要があると考える。

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精度の安定に向けた取り組み: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」令和元年度総合研究報告書 p.118.
- 3) 森本 洋 他:レジオネラ属菌検査精度の安定に向けた取り組み: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 2 年度総合研究報告書 p.87.
- 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 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:レジオネラ属菌培養検査について、令和 3 年度 短期研修 新興再興感染症技術研修、2021 年 9 月、Web 対応

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

2021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「2021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、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.「2021年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法」（参考：「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 令和元年9月19日厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知）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	「2021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）。 2021年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法は、「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 令和元年9月19日厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知）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 38,500 円（消費税込）
参加募集数	200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）

10月1日(金)	参加募集開始 ● 弊社コスモ会ホームページ(https://cosmokai.com)の2021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。
11月5日(金)	参加募集締切 ● 〆切日前でも募集数に達し次第、参加申込を締め切らせていただきます。
12月6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。
12月7日(火)~	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21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。
1月21日(金)17時	回答締切
1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でお願い致します。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。
3月下旬	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 : 03-5846-5534 FAX:03-5846-5629

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



日水製薬株式会社

参加要件

2021 年 9 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する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。

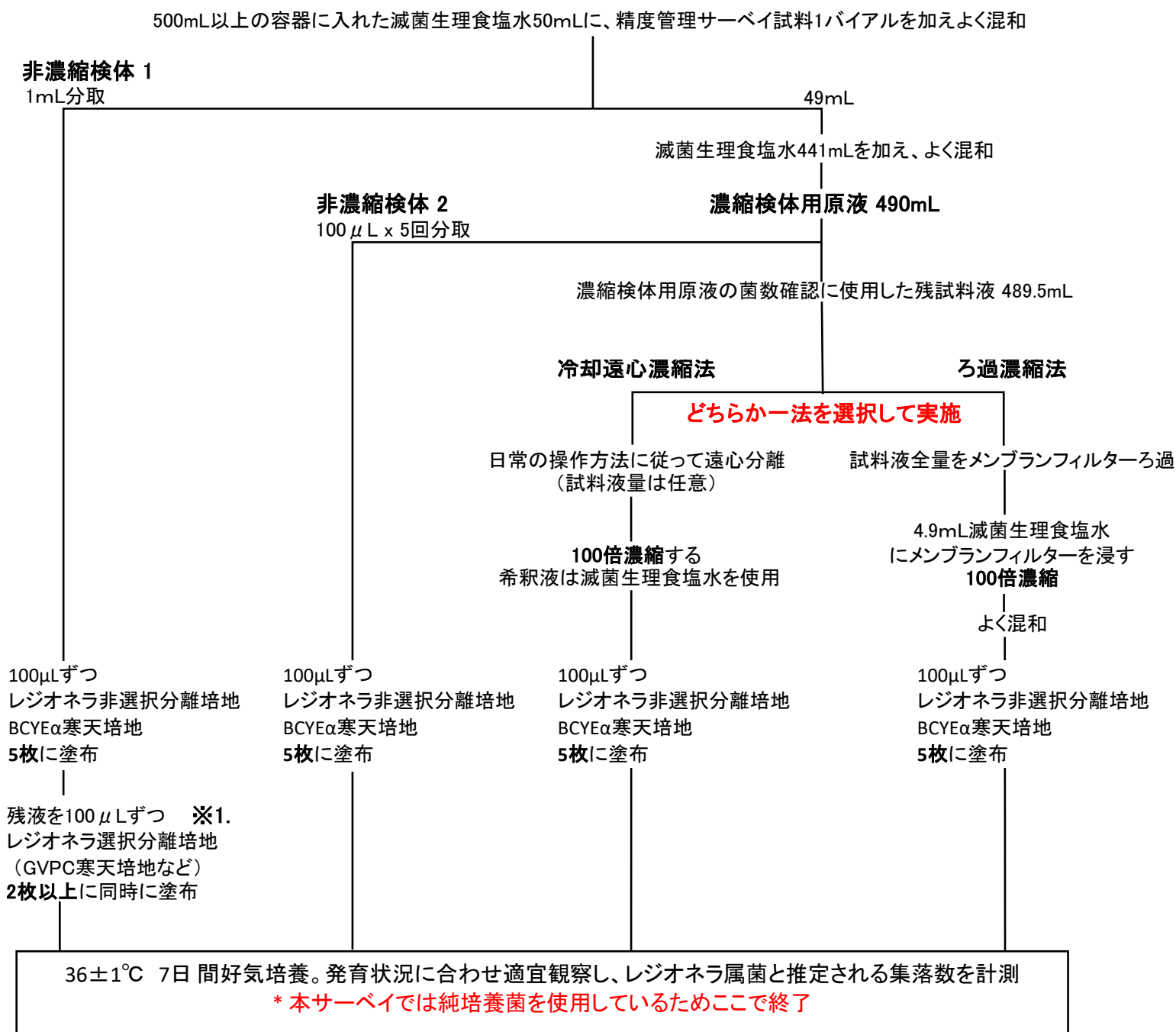
3. 注意事項

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

2021 年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法

参考:「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 令和元年9月19日厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知)



■ 2021年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法は、「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 令和元年9月19日厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知)を参考に、本精度管理サーベイ用に変化したものです。

■ 2021年度サーベイにおいては、濃縮操作や培地接種操作などの手技の精度確認に主眼を置いています。レジオネラ属菌以外の夾雑菌は入っていないため、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。

2021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、2021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（Web入力する際にご活用ください）・・・・・・・・・・・・ 5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
2022年1月21日(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1/21（金）17時とさせていただきます。
2022年3月下旬	■ 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：03-5846-5534 FAX：03-5846-5629 E-mail：legi-srvy@nissui-pharm.jp

以上

外部精度管理用試料使用に際しての取扱遵守事項

日水製薬株式会社
診断薬営業部

外部精度管理用試料（以下試料）の使用に際しては、バイオハザード防止のために以下の遵守事項に従って使用してください。

1. バイオセーフティ

「バイオセーフティ biosafety」とは、生物を表す接頭語 bio と safety（安全）を組み合わせた言葉で、「生物または生物由来の材料の取扱いがヒトに病気を引き起こす危険すなわち‘バイオハザード’がある場合にとられる安全対策」を意味します。精度管理用に提供される試料は非病原性菌ですが、試料の取扱いに際しては、公衆衛生の観点からバイオセーフティを考え、実行してください。

2. 使用目的

試料の使用目的は、細菌検査の精度管理のみに限定し、それ以外の目的には使用しないでください。

3. 試料の受取

配達された試料は直ちにフリーザー（-20℃以下）に保管してください。外装に破損等が認められた場合は、直ちに日水製薬㈱担当者に連絡の上で試料は開梱することなく滅菌して廃棄してください。

4. 取扱い施設

以下の環境が整った施設で使用してください。

- ①独立した試験室を有し、部屋の入口は施錠できる構造であること。
- ②バイオセーフティについて教育を受け、取扱い菌株について一定の知識を有する監督者（検査員）が管理・監督すること。
- ③試験室への昆虫やネズミ等の侵入阻止に万全を期し、必要に応じて駆除を行うこと。
- ④滅菌のためのオートクレーブが同一室内に設置されていること。
- ⑤適切な消毒薬を常備し、いつでも使用できる状態を維持すること。
- ⑥保管のためのフリーザー（-20℃以下）が同一室内に設置されていること。

5. 取扱い方法

以下の使用方法に従って使用してください。

- ①試験室外へは持ち出さないこと。
- ②試験室内専用の作業着を着用して検査を行い、作業着着用のまま室外へ出ないこと。
- ③第三者への分与は絶対に行わないこと。
- ④試料を用いたデータを学会、雑誌等で公表する場合は、事前に日水製薬㈱に連絡し協議すること。
- ⑤保管・使用記録を必ず残し、紛失、盗難のないよう管理すること。
- ⑥その他、バイオハザード防止に必要な一般的な事項を遵守すること。

6. 使用後の廃棄

使用後の空容器および試料に触れたすべてのものと培養後の菌（培地）は直ちに滅菌してから廃棄し、放置、保存はしないでください。

7. 試料の保管

試料を使用するまでの間は、フリーザーに保管してください。

以上

2021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の使用方法・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の使用方法・操作手順

非濃縮検体 1		非濃縮検体 2	ろ過濃縮法	冷却遠心濃縮法
			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	ろ過濃縮法、冷却遠心濃縮法 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、【ろ過濃縮法】または、【冷却遠心濃縮法】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（2021年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法）は、本制度管理サーベイ用のみの検査方法であり、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よく混和します。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 を加えよく混和します。これを【非濃縮検体 2】、【濃縮検体 ろ過濃縮法】または【濃縮検体 冷却遠心濃縮法】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

※【ろ過濃縮法】または【冷却遠心濃縮法】どちらか一方を実施してください。

■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 $500\mu\text{L}$ 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 11 : 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 $0.3\sim 0.9\times 2\sim 20\mu\text{m}$ 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 $0.45\mu\text{m}$ 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 $0.2\mu\text{m}$ と規定されている。

■参考情報 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 令和元年 9 月 19 日 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知)より抜粋

- ・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 $0.20\mu\text{m}$ 又は $0.22\mu\text{m}$ 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) 各施設の方法で洗浄・混和し、100 倍濃縮液とします。

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。

- (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

■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 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 令和元年 9 月 19 日 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知)より抜粋

- ・遠心加速度 $6,000\text{g}$ で 10 分又は $3,000\text{g}$ 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 13：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 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。

■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 μL ずつ塗布します。

(4) 36±1℃ 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 × 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。

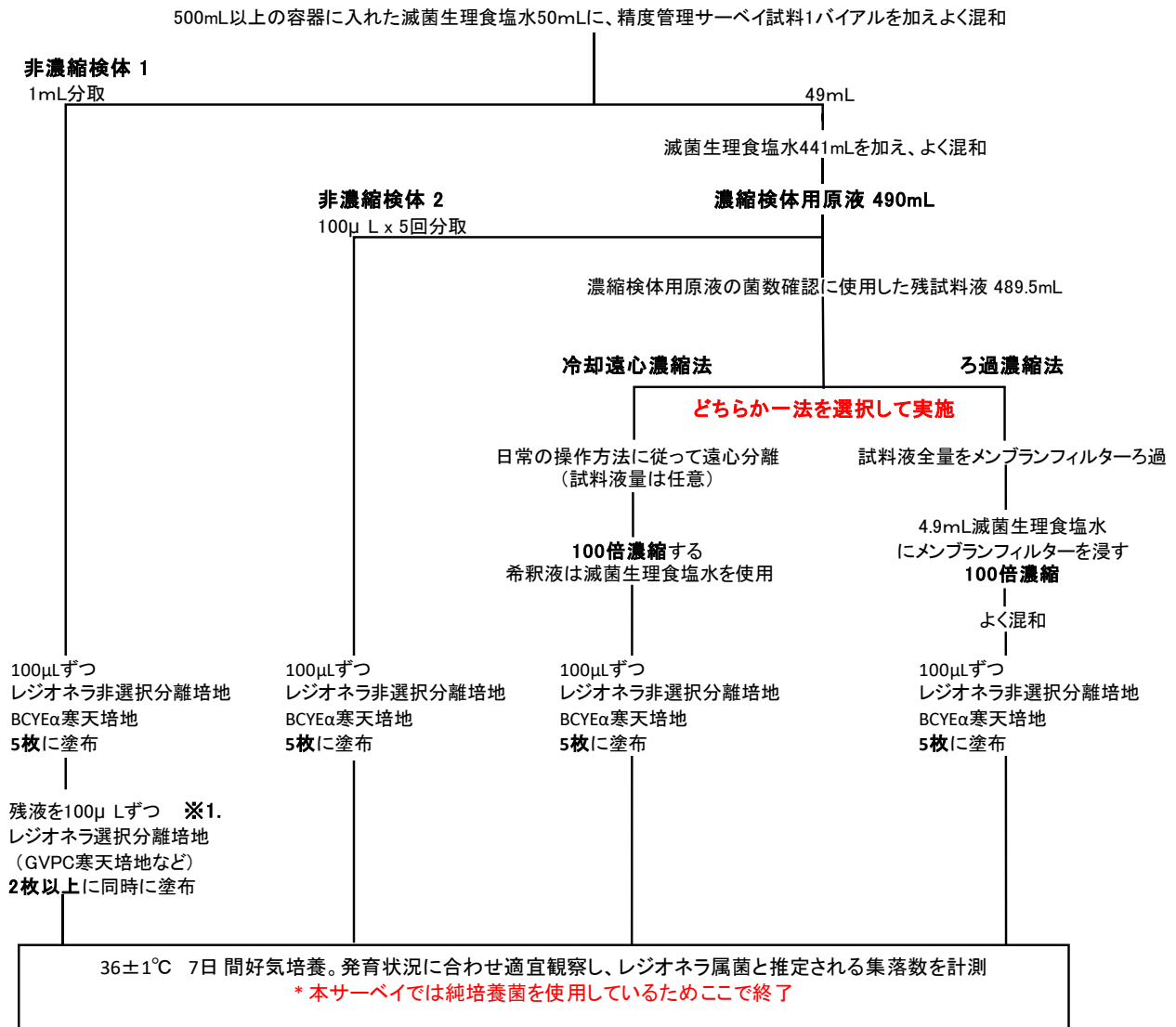
(3) データ入力画面に進み結果の入力が完了したら、ページの下にあります【入力内容を確認】をクリックし入力内容を確認してください。入力に間違いがなければ、ページの下にあります【送信】をクリックしてください。

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。



2021 年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法

参考:「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 令和元年9月19日厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知)



■ 2021年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法は、「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 令和元年9月19日厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知)を参考に、本精度管理サーベイ用に変化したものです。

■ 2021年度サーベイにおいては、濃縮操作や培地接種操作などの手技の精度確認に主眼を置いています。レジオネラ属菌以外の夾雑菌は入っていないため、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。

2021 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。

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 令和元年 9 月 19 日 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知)

ISO11731 : 2017 ISO11731 : 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

病原体検出マニュアル 2020 (国立感染症研究所) その他

(2) 日常の検査法は何を採用していますか。

非濃縮 ろ過濃縮法 冷却遠心濃縮法

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

■ 2021 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 = $\frac{\text{平均値}}{1000}$)

(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 = $\frac{\text{平均値}}{1000}$)

(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 = $\frac{\text{平均値}}{10000}$)

(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。

日本製薬 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

【ろ過濃縮法】もしくは【冷却遠心濃縮法】どちらか一方を実施してください。

■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 = $\frac{\text{平均値}}{100}$)

(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。

日本製薬 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) 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) 混和方法は何をされましたか。

手で混和 ボルテックスミキサー等の攪拌機器 (機器名)

(8) 混和時間は何分行いましたか。 分

■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。

- 日本製薬 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) 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

以上

2021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、**1月21日(金)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： 年 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

表1 全参加機関報告菌数 cfu/100 mL

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	2780	1300	3400	1672		39	2220	300	2000	1250	
2	2640	1140	2800	504		40	3620	1080	4800	1386	
3	4950	2350	5400		674	41	2820	1360	5800	1646	
4	5580	2450	5200	682		42	4260	1200	2800	436	
5	400	0	11000	20		43	8060	4430	9000	4736	
6	6660	3500	4800	2916		44	4040	1650	2600	894	
7	4940	2080	4800	1866		45	2540	1230	1800	650	
8	4180	1630	3800	1054		46	7460	3000	8200	346	
9	2900	2570	1600	1984		47	3860	2330	5400	2008	
10	3160	4350	6800	1122		48	3120	870	2600	1888	
11	3740	3350	5400		646	49	4260	2050	5200	2008	
12	6900	3250	5200	3828		50	3260	1250	2600	1950	
13	3500	1330	3000	1028		51	2800	1600	3600	2382	
14	6760	3780	6800	4720		52	5060	3350	3400	2436	
15	2740	2450	4200	1646		53	2480	1300	2400	1972	
16	5600	1930	4800	2340		54	6400	4850	6600	1868	
17	3580	2000	3000	2322		55	4900	2900	5400	1640	
18	4580	3850	5000	3106		56	2020	250	3600	484	
19	3320	1800	2200	1584		57	4500	3300	4800	3116	
20	3320	1900	4000	1420		58	3080	500	0	424	
21	4000	1200	2000	1108		59	6100	2840	5600	1680	
22	3260	2400	3400	1694		60	3660	950	3000		592
23	680	300	600	204		61	4760	1820	4200	2884	
24	4120	2070	4000	2548		62	3520	1500	6000	1610	
25	6100	4130	5600	3382		63	740	260	600	100	
26	3980	2000	3200	1324		64	1720	1100	2600	1358	
27	4500	1650	7200	1834		65	4360	2240	5600	1288	
28	2460	1200	2000	318		66	4940	3450	4800	2508	
29	7240	4700	7400	3372		67	3420	1300	3200	2278	
30	7420	5180	4600	88		68	4200	850	4400	2228	
31	3240	3125	3000	794		69	6460	7130	7600	1976	
32	6080	2000	6800	2786		70	5740	3380	6200	3136	
33	6460	2600	3000	692		平均値	4206	2242	4320	1790	637
34	6300	4600	6400	2216		最大値	8060	7130	11000	4736	674
35	3380	1550	2800	2358		最小値	400	0	0	20	592
36	5700	2080	3800	3342		中央値	4000	2000	4100	1694	646
37	2880	1400	3000	1102		対象機関	70	70	70	67	3
38	4000	2150	4000	2414		良好機関	69(99%)	64(91%)	69(99%)		

* 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比較(2016-21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%
2020	72	96%	62%	96%
2021**	70	99%	91%	99%

* 各項目で非回答の施設有り

** 2016～2020年度と菌株が異なる

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	60.1	49.2	27	40.8	25.5	53	79.5	82.2
2	19.1	18	28	12.9	15.9	54	29.2	28.3
3	13.6	12.5	29	46.6	45.6	55	33.5	30.4
4	12.2	13.1	30	1.2	1.9	56	24	13.4
5	5	0.2	31	24.5	26.5	57	69.2	64.9
6	43.8	60.8	32	45.8	41	58	13.8	-**
7	37.8	38.9	33	10.7	23.1	59	27.5	30
8	25.2	27.7	34	35.2	34.6	60	16.2	19.7
9	68.4	124	35	69.8	84.2	61	60.6	68.7
10	35.5	16.5	36	58.6	87.9	62	45.7	26.8
11	17.3	12	37	38.3	36.7	63	13.5	16.7
12	55.5	73.6	38	60.4	60.4	64	79	52.2
13	29.4	34.3	39	56.3	62.5	65	29.5	23
14	69.8	69.4	40	38.3	28.9	66	50.8	52.3
15	60.1	39.2	41	58.4	28.4	67	66.6	71.2
16	41.8	48.8	42	10.2	15.6	68	53	50.6
17	64.9	77.4	43	58.8	52.6	69	30.6	26
18	67.8	62.1	44	22.1	34.4	70	54.6	50.6
19	47.7	72	45	25.6	36.1			
20	42.8	35.5	46	4.6	4.2			
21	27.7	55.4	47	52	37.2	平均値	41.8	43.5
22	52	49.8	48	60.5	72.6	最大値	85.1	124
23	30	34	49	47.1	38.6	最小値	1.2	0.2
24	61.8	63.7	50	59.8	75	中央値	43.3	38.9
25	55.4	60.4	51	85.1	66.2	良好機関	57(81.4%)	55(78.6%)
26	33.3	41.4	52	48.1	71.6			

* 参考

** 分母が0

表4 回収率の比較(分母:非濃縮②、2017-21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	52.1	32.9	42.4	96	20	39.9	10.9
2018	74.3	47.8	47.6	94.5	20.2	43.1	12.1
2019	56.2	22.5	34	67.2	20.3	34.1	6.7
2020	54.2	25.1	35.8	69.9	20.2	32.3	9.5
2021*	78.6	43.5	49.5	87.9	23	49.2	12.3

** 2017～2020年度と菌株が異なる

図1 回収率の比較(分母:非濃縮②)

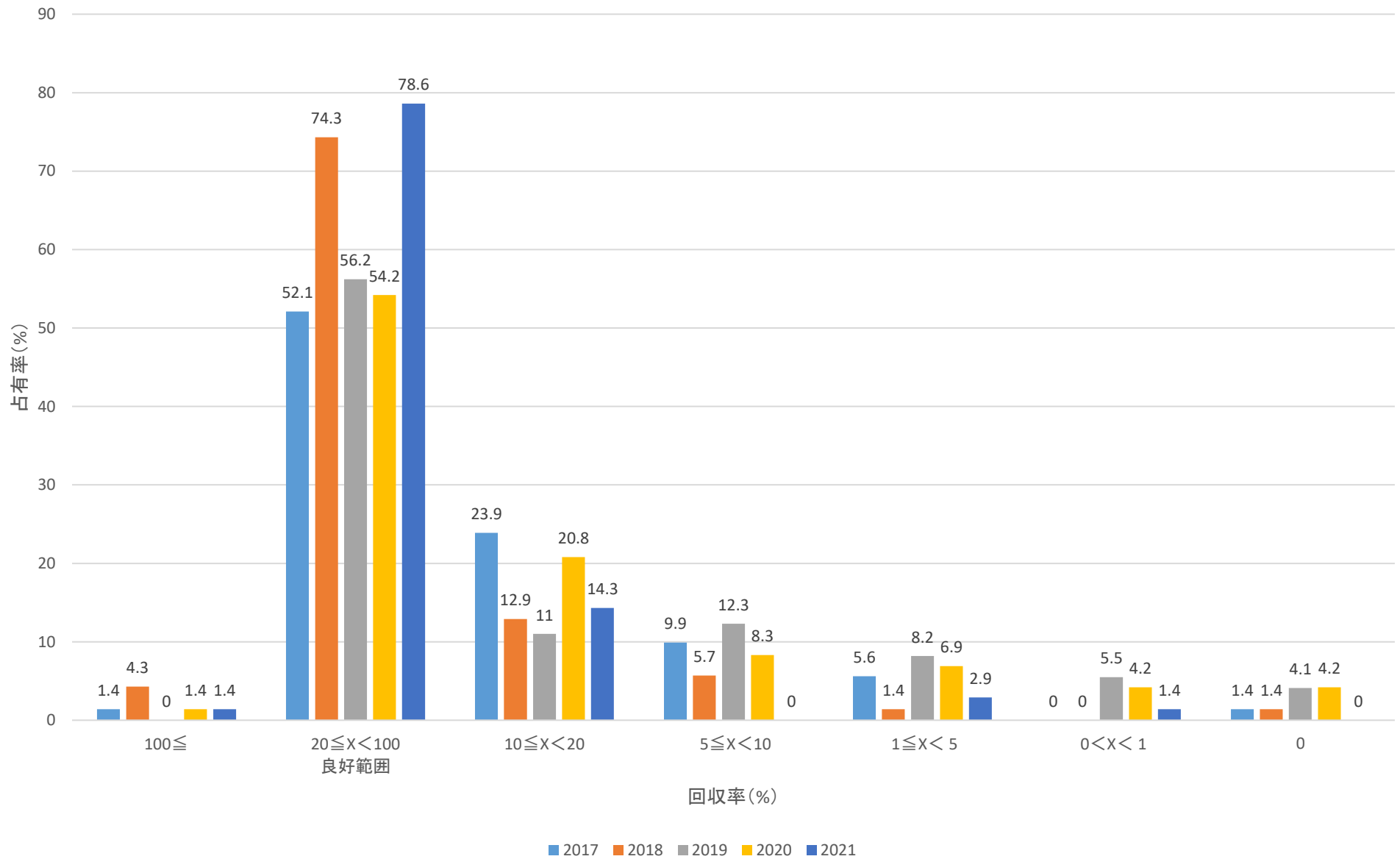


表5 2015~2021年度結果概略(2015/16/17/18/19/20/21、良好範囲(菌数○、回収率(分母非濃縮② 2017~)黒字)、範囲外(菌数*、回収率(2017~)赤字、検査項目外又は不参加)

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

表6 非濃縮検体2における異なる条件下での検査結果の比較 (値:cfu/100 mL)

	未処理		熱処理		酸処理		熱処理後酸処理	
	BCYE α	選択分離培地	BCYE α	選択分離培地	BCYE α	選択分離培地	BCYE α	選択分離培地
平均値	4320	2158	125	38	429	0	0	0
最大値	11000	5000	1000	500	1000	0	0	0
最小値	0	0	0	0	0	0	0	0
中央値	4100	2000	0	0	0	0	0	0
最頻値	4800	1000	0	0	0	0	0	0
回答機関数	70	31	8	10	7	9	3	2
総回答数	70	38	8	13	7	13	3	3
良好回答数	69(98.6%)	33(86.8%)	1(12.5%)	0(0%)	3(42.9%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
不検出回答数	1(1.4%)	5(13.2%)	7(87.5%)	12(92.3%)	4(57.1%)	13(100%)	3(100%)	3(100%)

BCYE α :非選択分離培地

:サーベイ指定法

表7 濃縮検体における異なる条件下での検査結果の比較 (値: cfu/100 mL)

	未処理		熱処理		酸処理		熱処理後酸処理	
	BCYE α	選択分離培地	BCYE α	選択分離培地	BCYE α	選択分離培地	BCYE α	選択分離培地
平均値	1741	940	29	22	254	172	20	4
最大値	4736	2480	160	110	780	1240	50	10
最小値	20	0	0	0	5	0	0	0
中央値	1676	797	15	10	215	115	15	0
最頻値	1646	530	0	0	10	0	0	0
回答機関数	70	25	12	36	13	44	4	4
総回答数	70	32	12	46	13	57	4	5
良好回答数	59 (84.3%)	20 (62.5%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (15.4%)	2 (3.5%)	0 (0%)	0 (0%)
不検出回答数	0 (0%)	1 (3.1%)	5 (41.7%)	13 (28.3%)	0 (0%)	4 (7.0%)	2 (50.0%)	3 (60.0%)

BCYE α : 非選択分離培地

: サーベイ指定法