

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-3年度総括・分担等研究報告書

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
	大屋日登美	神奈川県衛生研究所
	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
	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

研究要旨

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(2019年度)、3)検査研修システムについて(2019年度)について地方衛生研究所のレジオネラ参照センター担当者を中心に検討を行った。

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7年連続で行われてきた。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、独自に集計・解析を実施し結果の比較を行った。2021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、新たな供試菌によるスタートとなった。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、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、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、今後も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。技術指導を行った施設においては、結果改善が認められ、引き続き直接技術指導を行う予定であったがコロナ禍で中断となっている。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っ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。

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(2019 年度)、3) 研修システムについて(2019 年度)、検討を行った。

B. 研究方法

1) 外部精度管理

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。

まず日水製薬より「参加募集案内文、参加要件、指定法」(別紙(2021 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)が参加者に向け発送された。解析結果は毎年度末に、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)によりログインすることで閲覧可能となることが案内で示された。

<参加機関>

2019 年度 161 機関(延べ 164 試料配付)、2020 年度 171 機関(延べ 180 試料配付)、2021 年度 184 機関(延べ 191 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2019年度 73機関、2020年度 72 機関、2021 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。なお、2021 年度はビオメリュー社より、これまでの菌

株を変更する旨の連絡があり、2020 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(2021 年度実施分)参照)。また、2021 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。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。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、独自に集計・解析を実施し、過去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%予測区間の数値に対し、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) に換算し、下限値、上限値を計算した。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 1000 cfu/100 mL と換算することから、結果は 1000 cfu 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。

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、配付試料である BioBall の性能と参加機関の結果を鑑み 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、毎年度末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) 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 年度)

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(2019年度)

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) 外部精度管理

表1に2021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いように、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、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。

2021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、供試菌株の発育を大きく抑制することが分かっており^{1, 2)}、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2、表3に示した。まず、表2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。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3に濃縮検体に対する結果を示した。本結果は、報告菌数から見た判定を当てはめ、供試菌の発育状況から比較を行った。全体的に表2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。

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年度)

アンケート調査で収集したコメントを表 4 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 μL)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。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 機関では、技術指導直後の外部精度管理において良好な結果報告がなされていた。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、残る 1 機関は年間を通じて検査機会が少ない状況にあった。技術指導直後の外部精度管理において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、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、今後も直接現場に出向き確認作業を行いたいと考える。2020、21年度は、コロナ禍の影響により技術指導は中断となっているが、状況を見極め対応したいと考える。

3) 検査研修システムについて(2019年度)

これまで継続的な研修という意味合いでは、2014、16、18年度(21年度も開催された)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等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、講師の養成等達成すべき課題が多く、難航していた。そこで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、2020年度試行的に開催できるよう準備を進めていたところである。しかしながら、2020、21年度はコロナ禍の影響で中断となっている。直接の技術指導同様、状況を見極め対応したいと考える。

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処すること、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

- 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

研修会

- 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

- 3) 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。
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。

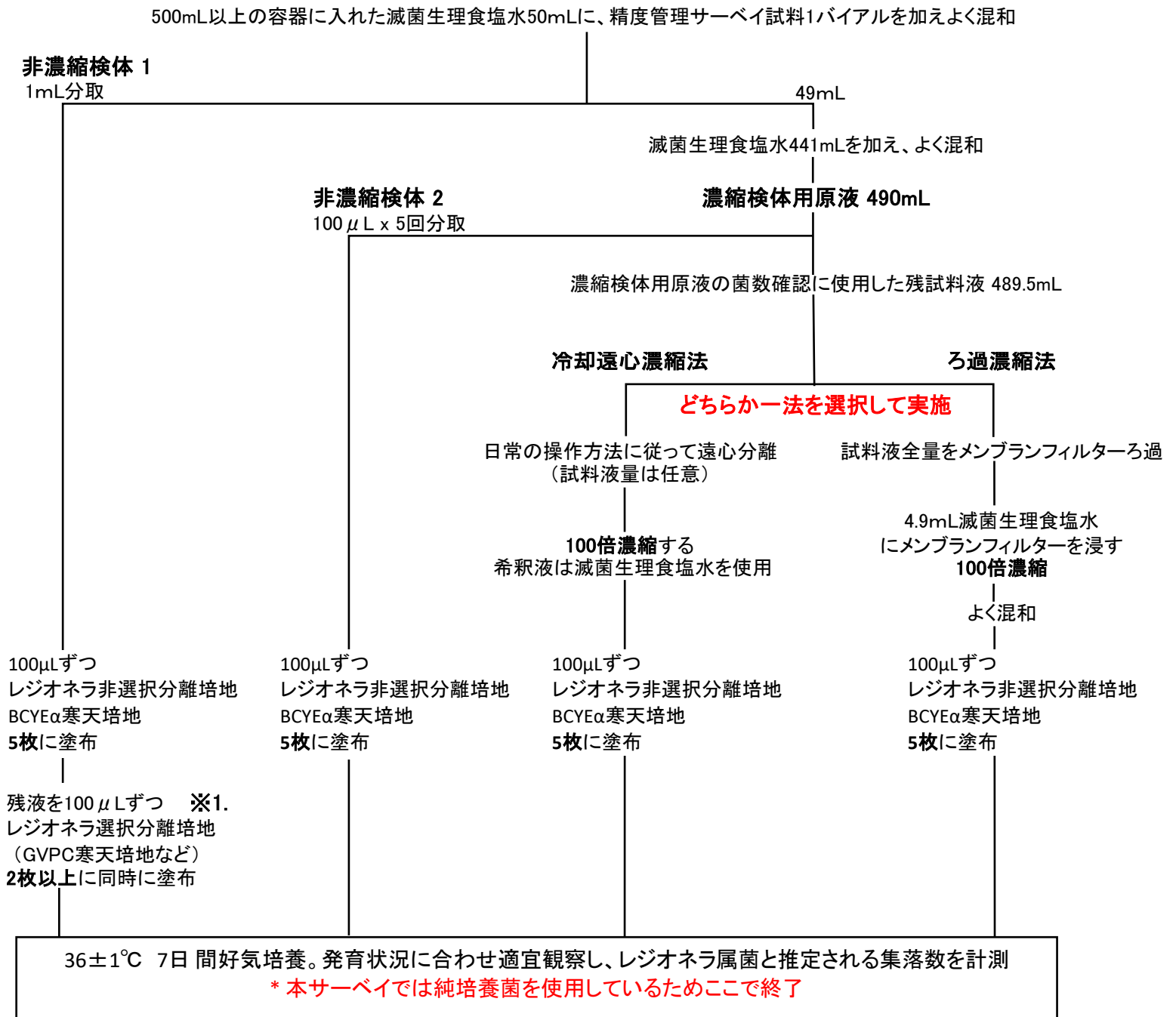
3. 注意事項

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あげます。

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頂きま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）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 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
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	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は考えられる。(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。

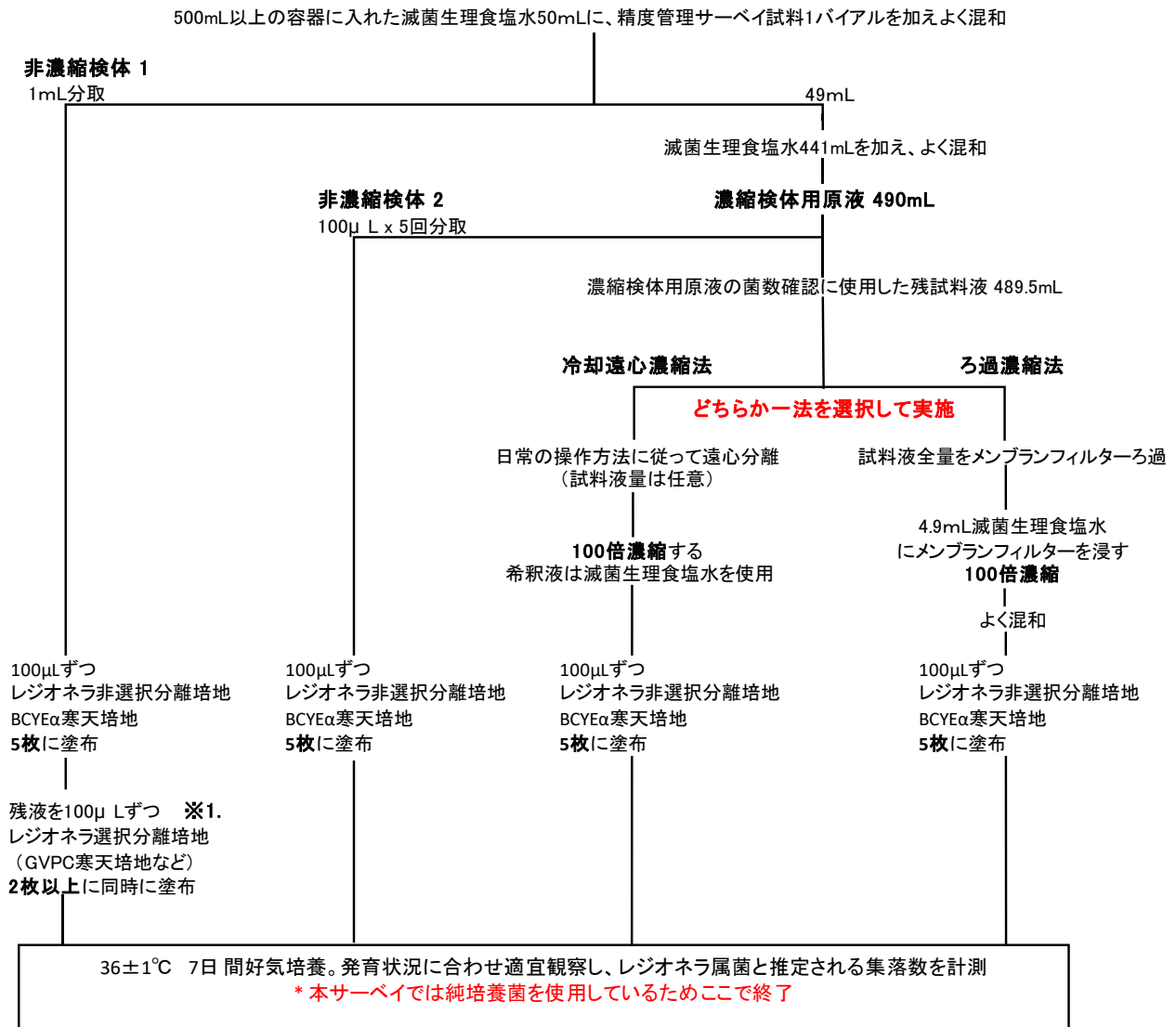
(3) データ入力画面に進み結果の入力が完了したら、ページの下にあります【入力内容を確認】をクリックし入力内容を確認してください。入力に間違いがなければ、ページの下にあります【送信】をクリックしてください。

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 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2 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3 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

表4 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		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: 検査法を冷却遠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: 全行程の振り返り検証を行ったが、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>	
* 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>フィルターホルダーの使用方を誤っていたことが分かった。 B: ろ過濃縮に使用した 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200m L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、喀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、見つけることができていない。</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>参加、H28濃縮検体下限良好範囲外。 A: H29不 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: その他 N: 不明。</p>	

表4 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		
* 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?		
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)	1:20, 2:8	<p>1</p> <p>A: 原因工程および操作 B: 初回のサーベイで D: 保存菌株を用いて同様に H: 培地 K: 全行程の振り返り検証 S: 操作上の問題ではなく検体希釈倍率 T: 全検査工程を確認してみたが、どこ</p> <p>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)。 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。 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ンラージするようにした。 メーカー毎の比較、塗布方法の検討。 を行ったが、改善箇所は判明しなかった。 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。 が適切なでないか苦慮している。 U: 濃縮濃縮後、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際ソフトタッチの徹底、フィルターを50mL遺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。</p> <p>2</p> <p>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。</p>
* 9: で1と回答した施設にお尋ねします。(10)		
10: 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	1:11, 2:9	<p>1</p> <p>B: 初回のサーベイ結果 E: 非濃縮検体の S: 操作上の問題</p> <p>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。 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ンラージする)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、ろ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、回収率が高まった。 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。 A: 検証方法がないため。</p> <p>2</p>
—* その他 *— 自由に記載下さい。		
		<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 M: 適切な追加回収試験の方法があれば知りたい。 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は思いますが、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。 I: 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衛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。