

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）

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所

令和6年度分担研究報告書

「国内から参加可能な英国のレジオネラ外部精度管理（UKHSA および FAPAS）への参加と検査精度に関連する国際的な現状」

- | | | |
|---------|-------|----------------|
| ○ 研究分担者 | 枝川亜希子 | 大阪健康安全基盤研究所 |
| 研究分担者 | 前川純子 | 国立感染症研究所 |
| 研究協力者 | 井上浩章 | アクアス株式会社 |
| 研究協力者 | 縣 邦雄 | アクアス株式会社 |
| 研究協力者 | 杉山順一 | 日本建築衛生管理教育センター |
| 研究協力者 | 安齋博文 | 日本建築衛生管理教育センター |
| 研究協力者 | 小池真生子 | 大阪健康安全基盤研究所 |

研究要旨

浴槽水を対象としたレジオネラ検査結果は、行政指導の根拠となることに加え、日常的な衛生管理を行う上での重要なデータであることから高い精度が求められる。一方で、レジオネラ検査は工程が多いことや、水質の影響を大きく受けるため、一般的な細菌検査と比較して複雑な検査である。そのため、検査機関は外部精度管理に参加し、各施設の検査精度の確認を行っている。本研究は、外部精度管理への参加の一般化と検査精度の安定化を目指し、地衛研の外部精度管理への参加支援を検討した。この支援により、2024年度はUKHSAのEQA Legionella isolation scheme、2023年度はFeraのFAPAS Legionella spp. in Environmental Water Proficiency Testの外部精度管理に、各年55機関が参加した。検査は各機関の標準作業手順書による方法で行い、その結果を集約した。これらの参加実績と支援を通じて、国内から参加可能な外部精度管理の情報収集や以前からの変更点の確認など、最新情報の周知に努めた。関心が高まっている国際規格認定ISO17025（試験所や校正機関の認定規格）、ISO17043（技能試験提供者の認定規格）についても確認した。参加者へのアンケート調査から、半数以上で外部精度管理への参加意向があっても、予算化が難しいことが明らかになった。

- A. はじめに
浴槽水を対象としたレジオネラ検査は、
地方衛生研究所（以下、地衛研）、保健所、
民間検査機関を含め多くの機関で実施され

ている。公衆浴場等の浴槽水のレジオネラ基準値は、厚生労働省の通知により、培養法で「検出されないこと（10 CFU/100mL 未満）」と定められている。レジオネラ培養法の検査結果は、行政指導の根拠となることに加え、日常的な衛生管理を行う上での重要なデータであることから、高い精度が求められる。そのため、検査機関は各施設で標準作業手順書（SOP）を作成し、その方法に沿って外部精度管理に参加して検査精度を確認している。外部精度管理の実際は、外部で用意された模擬試料を各施設の SOP に従って検査し、自他施設の結果を比較する。評価方法は Z スコアが用いられ、Z スコアの絶対値 2 以内が良好範囲内とされる。

令和元年に発出された「公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について」（生食発 0919 第 8 号厚生労働省大臣官房生活衛生・食品安全審議官通知）により、「公衆浴場における衛生等管理要領等について」に、「検査の依頼に当たっては、精度管理を行っている検査機関に依頼することが望ましい」の一文が記載された。関連する国際規格認定として、ISO17025（試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項）、ISO17043（技能試験提供者の能力に関する一般的要求事項）があり、これらへの関心も高まっている。日本国内では、ISO17043 の認定を受けている技能試験提供者は少ないが、英国では、技能試験提供者は基本的には ISO17043 の認定を受けている必要があり、認定された技能試験提供者は年に 1 回 ISO17043 の基準に合致しているかを確認するために第三者認定機関による審査を受けている。世界の主要国の主な技能試験提供者は ISO 17043 を持っており、これらの

外部精度管理を受けることによって、参加者側は国際規格に適合した質の高い外部精度管理を受けていることを検査依頼者に示すことができる。

今年度 2024 年度は、英国健康安全保障庁（UKHSA：UK Health Security Agency）の EQA Legionella isolation scheme（以下、UKHSA）、2023 年度は英国食料環境研究庁（Fera：The Food and Environment Research Agency）の FAPAS Legionella spp. in Environmental Water Proficiency Test（以下、FAPAS）に地方衛生研究所が参加した。本研究では、これらのデータを収集して解析し、合わせて外部精度管理に関するアンケート調査を行ったので報告する。また、本研究班では日本国内から参加可能な外部精度管理の情報を収集しており、最新の情報をアップデートした。さらには、国際規格の認定など、検査精度に関連する国際的な現状について情報収集を行った。

B. 方法

1) 地衛研の外部精度管理への参加

2024 年度は UKHSA の G136（2024 年 10 月実施）、2023 年度は FAPAS の LG0124（2024 年 2 月実施）に、地衛研 55 機関が参加した。参加地衛研の募集は、国立感染症研究所と地衛研で構成される「衛生微生物技術協議会レジオネラ・レファレンスセンター」を通じて行った。本研究班およびレジオネラ・レファレンスセンターでは、レジオネラ外部精度管理への地衛研の参加の支援およびとりまとめを行っている¹⁾。検査は、UKHSA および FAPAS に指示された方法に加えて、研究班が指定する方法で並行して行われた。すなわち、UKHSA に指示され

た方法は、各機関の SOP による環境水の標準的な方法の「前処理あり、選択培地」、研究班が指定する方法として「前処理なし、非選択培地」が行われた。レジオネラ検査では、前処理、選択培地への接種から、手技にかかわらず一定数の菌数が減少するため、これらの影響を受けない場合の菌数を見る目的で、上記の研究班が指定する方法を追加した。一方、FAPAS に指示された方法は、「前処理なし、非選択培地」、その他の手順は各機関の SOP 通りで行う。研究班が指定する方法として、環境水の標準的な方法である「前処理あり、選択培地」を追加した。地衛研から収集したデータと、UKHSA および FAPAS から提供を受けたデータを合わせて解析や課題の抽出を行った。

2) 国内から参加可能な外部精度管理の情報収集

本研究班では、外部精度管理の選択肢を示すことを目指し、日本国内から参加可能な外部精度管理の情報収集を行っている。これらについては昨年度の報告書などにまとめているが^{2,3)}、昨年度からの変更点を確認し、情報をアップデートした。

3) 外部精度管理に関する国外での現状

検査精度に関連する国外の現状について、WHO や ESGLI (ESCMID Study Group for Legionella Infections) が策定したガイドライン等の情報を収集した。

C. 結果及び考察

1) 外部精度管理参加結果

1. UKHSA

G136 の全参加者数は 258 名であった。Z

スコアは、参加者個別にレポートに記載されて返却される。配布試料 2 サンプルの G136-A と G136-B の参加者の菌数分布について、図 1 に示す。G136-A は 200/244 名(82%)、G136-B は 239/242 名(99%)が検出と回答している(回答なし・試験未実施は除く)。

UKHSA では、報告期限後に参加者宛に Intended results が送付される(図 2)。UKHSA の Intended results は、いわゆる正解値で、配付試料に含まれるレジオネラ菌数および菌種、レジオネラ以外の菌種が記載されている。この Intended results は、UKHSA の研究所で試験された 6 つの配布試料サンプルの中央値に基づいており、6 つのうち 3 つは発送前に UKHSA の研究所内で試験され、残りの 3 つは別の研究所から試験的に輸送され、輸送後にテストされたものである(UKHSA 提供情報)。参加者は、Intended results の値を使って、各自で回収率を算出することができる。今回の配布試料にはレジオネラ以外の細菌として、*Microbacterium* sp.、*Citrobacter braakii* および *Pseudomonas fluorescens* が含まれていた。これらは GVPC ではコロニーを形成しないことがレポートに記されている。

地衛研から G136 に 55 名が参加し、参加者すべてが検査結果を報告した。UKHSA では、Z スコアの絶対値 2 以内および参加者中央値 $\pm 0.75\text{Log}$ 以内が良好範囲内とされる。今回、Z スコアが算出された参加者のうち良好範囲内であったのは、G136-A は 32/38 名(84.2%)、G136-B は 46/54 名(85.2%)であった。UKHSA では、Z スコアは各参加者へ個別に返却され、参加者全体の表示はない。そのため、地衛研参加者デー

タについて UKHSA から提供を受け、Z スコアのグラフを作成した (図 3)。

今回、地衛研参加者は、UKHSA の指示書通りである各施設の SOP 通り (通常は、「前処理あり、選択培地」) に行う方法に加えて、「前処理なし、非選択培地」を用いる方法を並行して行った。G136-A は、38 名 (69.0%) が検出と回答していたが、これには「前処理なし、非選択培地」の菌数を報告している参加者も含まれていた。通常、環境水試料を対象とした検査では、「前処理あり、選択培地」で行うため、この方法での結果を集計すると、検出は 28 名 (50.9%)、不検出は 27 名 (49.1%) で、検出と不検出がほぼ同数であった。Intended results より、G136-A の菌数は 9.3×10^2 CFU/L、環境水の標準的な方法である 100 倍濃縮法で行った場合⁴⁾、培地 1 枚当たりの検出菌数は 9 CFU となる。レジオネラ検査の場合、試料水の濃縮、夾雑菌抑制の前処理、選択培地への接種の工程から、菌数が減少することを考慮すると、検出限界 (1CFU/plate) 付近の菌数設定であったため、参加者の半数程度が不検出となったと考えられる。

今回、G136-A が不検出であった複数の施設 (民間検査機関を含む) から、結果の見方や検査方法の見直し方について問合せがあった。上述の通り、G136-A は菌数設定が検出限界付近の難しいサンプルであったことから、G136-B の結果と合わせて、検査手法の課題を抽出して各施設で改善していくように助言した。

G136-A が不検出であった 27 名の G136-B の Z スコアは、22 名が良好範囲内であった。G136-A、G136-B いずれも Z スコア良好範囲外 (又は不検出) であったのは 6 名

で、これら参加者は十分な検査手順の見直しや改善が必須である。

WHO の外部精度管理の概説には、外部精度管理は懲罰的であってはならないこと、教育的なものにとらえ、検査室の改善努力を方向づけるためのツールとして使用すべきとの記載がある⁵⁾。外部精度管理の結果を活用して、検査技術向上に繋げることが重要である。

良好範囲外であった参加者のデータを確認したところ、入力ミスや計算の単位間違いと思われるものがあつた。そのため、参加者への注意点として、正しい計算と入力時の確認を十分に行うように、代理店を通じて周知することとした。

2. FAPAS

LG0124 の全参加者数は、71 名であった。配布試料 2 サンプルのうち、LG0124-A はブランク試料で、70 名が不検出と回答している。

LG0124-B の報告結果と Z スコアの分布を表 1 および図 4 に示す。全参加者 71 名のうち、レジオネラを検出したのは 69 名、Z スコアが算出された 67 名のうち、良好範囲内であったのは 62 名 (93%) であった。FAPAS の報告書に示された Intended results は Z スコア 0 の値であり、 1.4×10^5 (5.15 Log_{10}) CFU/L であった。

地衛研から FAPAS の LG0124 に参加した 55 名のうち、LG0124-A は全 55 名が不検出と回答した。LG0124-B の結果を報告したのは 54 名、このうち Z スコアが算出されたのは 53 名で、絶対値 2 以内の良好範囲内が 52 名 (98.1%)、良好範囲外は 1 名 (1.9%) であった。Z スコアが算出されな

かった1名は、定量上限より多いと回答した。

FAPASの検査手順は次の通りである。配付試料にレジオネラ以外の細菌は含まれないため、前処理(酸または熱処理)は行わず、培地は選択培地の代わりに非選択培地を用いる。その他は各機関のSOP通りに行う。今回、地衛研参加者は、今回、地衛研参加者は、FAPAS指定の方法に加えて、標準的な環境水の検査法(前処理あり、選択培地)を用いた方法を並行して行った。各方法における検出菌数について表2に示す。FAPAS指定の方法(前処理なし、非選択培地)と比べて、標準的な方法(前処理あり、選択培地)での菌数の平均値は、酸処理、熱処理、いずれも一桁程度減少した。

3. UKHSA と FAPAS について

英国2種の外部精度管理は、いずれも25年以上の歴史があり、英国だけではなく全世界を対象としている。

この2種の相違点は、UKHSAの配付試料にレジオネラ以外の細菌も含まれているのに対し、FAPASにレジオネラ以外の夾雑菌が含まれない点である。そのため、FAPASでは前処理(酸または熱処理)を行わず、培地は非選択培地を用いて検査を行うが、操作自体は、各施設のSOPに沿って行う。そのため、UKHSAはより実際的な試験結果としての回収率を各自で算出することが可能である。

実際の環境水試料には夾雑菌が多く含まれていることから、配付試料にレジオネラ以外の細菌が含まれているUKHSAの方が環境水試料に似た非常に実践的な内容であると言える。しかしながら、UKHSA、FAPAS

いずれもISO 17043の認定を受けた外部精度管理提供者であり、信頼性が保証された世界標準に沿った内容になっている。それぞれの内容をよく確認し、各参加者の希望で選択されたい。これら外部精度管理の概要について後述(表4)で示した。

なお、これら2種いずれもIntended resultsが示されるが、UKHSAは配付試料に添加した菌数であるのに対し、FAPASはZスコア0の値であり、FAPASは配布試料の添加菌数を公開していない。

2) 地衛研へのアンケート

地衛研のレジオネラ外部精度管理に関する現状を把握するため、外部精度管理に参加した地衛研にアンケート調査を行った。設問①次年度以降も、リファレンスセンターが募集する外部精度管理に参加を希望されますか？

設問②リファレンスセンターから外部精度管理の募集がない場合、所属で参加費を負担して、いずれかの外部精度管理に参加されますか？

アンケート集計結果を表3に示す。アンケート回答数は、2024年は55機関、2023年は54機関であった。設問①に対し、2024年、2023年共に参加希望は50機関を超えており、参加しないは0機関であった。設問②に対し、参加すると回答したのは10機関程度、参加したいが予算がないと回答したのは、2024年は32機関(58.2%)、2023年は27機関(50.0%)であった。半数以上の地衛研で外部精度管理に参加したい意向はあるものの、予算化が難しいことが明らかになった。

3) 外部精度管理の情報収集

日本国内から参加可能なレジオネラ検査外部精度管理について、表4に示す。

昨年からの大きな変更点は、UKHSAの国内代理店として、アイデックスラボラトリーズを通じた参加が可能となった。日本語での申込が可能となったことから事務的負担が大きく軽減された。操作手順についても日本語のサポートがある。

島津ダイアグノスティクスのサーベイは検査法が指定されており、各施設のSOPに沿った方法で参加ができないことから(参考)と記載した。本サーベイは、工程の一部、濃縮と培地接種操作などの手技の精度確認に主眼を置いた内部精度管理に近い内容となっていることに留意する。

ISO 17043の認定の有無について追記した。

4) UKHSAの参加者数の推移

UKHSAより提供された直近6年間の参加者数のデータを表5に示す。示された数値は、その年度に参加した検査機関の数(複数回参加した場合は1と計算)である。UKHSAは年に4回実施されており(2020/2021はCOVID-19の影響により3回実施)、2019年以降の5年間は、1年間に全世界で243-283機関、日本からは12-14機関の参加があった。国内代理店の申し込みが始まった2024年の日本からの参加機関は117であった。そのうち2024年以前からUKHSAに参加している日本の検査機関は十数、2024年に本研究班の支援で参加した地衛研は55であるため、残り約50機関が本研究班の支援とは関係なく新規でUKHSAに参加した計算になる。新規の約

50機関の内訳は、民間検査機関、都道府県や市の保健所や検査センターなどの行政機関であった(アイデックスラボラトリーズ提供情報)。本研究班では、外部精度管理の周知を行うと共に、参加することの重要性を示してきたところで、その波及効果が感じられた。今後も外部精度管理への参加者が増加し、レジオネラ検査技術の向上に繋がるように、引き続き本課題の継続に努める予定である。

4) 外部精度管理に関する国外での現状

1. 検査精度に関連する欧米の現状

ESGLI (ESCMID Study Group for *Legionella* Infections)が策定したガイドライン⁶⁾には、水試料のレジオネラの検査は、認定範囲にレジオネラの培養検査を含み、外部精度管理で評価を受けているISO 17025の認定検査機関に依頼するべきであると記述がある。また、CDCの*Legionella* Control Toolkit⁷⁾にはレジオネラ検査を検査機関に依頼する際に考慮すべきこととして、ISO 17025のような認定を受けていることを挙げている。このように欧米では検査機関がISO 17025のような認定をレジオネラの培養検査で受けていることが重視されている。

2. ISO 17025の認定

ISO 17025とは、試験所や校正機関が正確な測定/校正結果を生み出す能力があるかどうかを、第三者認定機関が認定する規格で、試験所認定と呼ばれている。ISO 17025の認定を取得するためには、ISO 17025の要求事項に沿ったマネジメントシステムの構築と技術的要求事項への対応が

必要となる。技術的要求事項としては、検査工程の不確かさの算出や手法等の妥当性の確認等が求められ、内部精度管理の実施や外部精度管理への参加も必須となる。参加する外部精度管理は、ISO 17043 の認定を受けていることが望ましいとされている。現在、日本国内で ISO 17025 の認定をレジオネラの培養検査で受けている検査機関は少ないが、今後広がることが期待される。

D. まとめ

本研究は、レジオネラ検査における外部精度管理の整備と検討を進めてきた。今現在、ISO 17043 の認定を受けている英国 2 種の外部精度管理に日本国内から問題なく参加可能となった。外部精度管理に参加することの重要性を示すとともに、引き続き、外部精度管理の課題の抽出を行い改善に努める。

E. 引用文献

- 1) 佐伯歩、前川純子ら、レジオネラ・レファレンスセンターの活動、IASR、45、125-126、2024
- 2) 枝川亜希子ら、外部精度管理の選択肢整備へ向けた検討と英国 UKHSA の EQA Legionella isolation scheme への参加、厚生労働科学研究費補助金（公衆浴場の衛生管理の推進のための研究）令和 5 年度分担研究報告、研究代表者：泉山信司、158-166、2023
- 3) 枝川亜希子ら、レジオネラ外部精度管理の現状、IASR、45、120-122、2024
- 4) 館田一博ら、第 5 版レジオネラ症防止指針、公益財団法人日本建築衛生管理教育センター、2024

5) WHO : Overview of External Quality Assessment (EQA), 2009

<https://www.who.int/publications/m/item/overview-of-external-quality-assessment-eqa>

6) ESGLI : European Technical Guidelines for the Prevention, Control and Investigation, of Infections Caused by *Legionella* species, 2017

7) CDC : Toolkit for Controlling *Legionella* in Common Sources of Exposure (*Legionella* Control Toolkit), 2021

F. 研究発表

- 1) 枝川亜希子、地方衛生研究所全国協議会 レジオネラ・レファレンスセンター会議、「レジオネラ属菌検査精度管理について」、2024 年 6 月 26 日、オンライン会議

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

H. 謝辞

UKHSA はアイデックスラボラトリーズ、FAPAS はセントラル科学貿易を通じて、地衛研参加者のデータ等の提供を受けた。

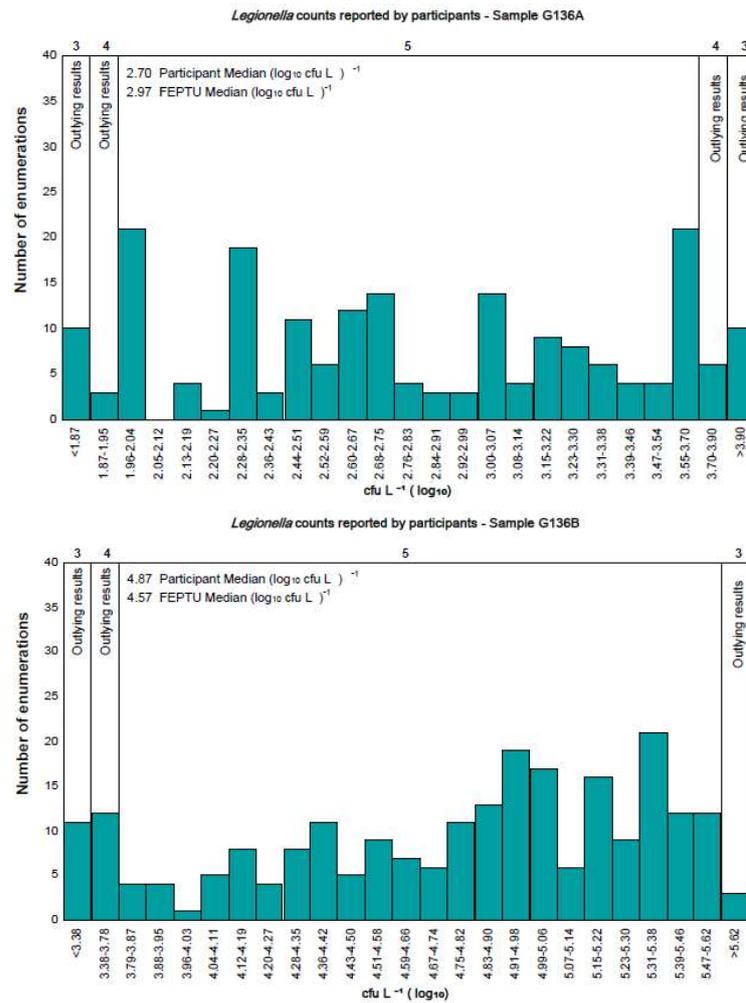


図 1. UKHSA G136 参加者から報告されたレジオネラ菌数 (G136-A、G136-B)

UK Health Security Agency

**Legionella Isolation Scheme
Preliminary Intended Results Notification**

These results are provided for guidance and are determined from the examinations undertaken during quality control testing of the samples. The enumeration results may show minor variations from the final results, which are calculated from the participants' consensus results, and included in the distribution report.

Distribution: **G136** Samples: **G136A and G136B**

Intended results:

	G136A	G136B
*cfu L ⁻¹	9.3x10 ²	3.8x10 ⁴
Species	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Serogroup	1	6

* colony forming units per litre

Sample contents:

G136A	<i>L. pneumophila</i> and <i>Microbacterium</i> sp.
G136B	<i>L. pneumophila</i> , <i>Citrobacter braakii</i> and <i>Pseudomonas fluorescens</i>

図 2. UKHSA G136 の Intended results

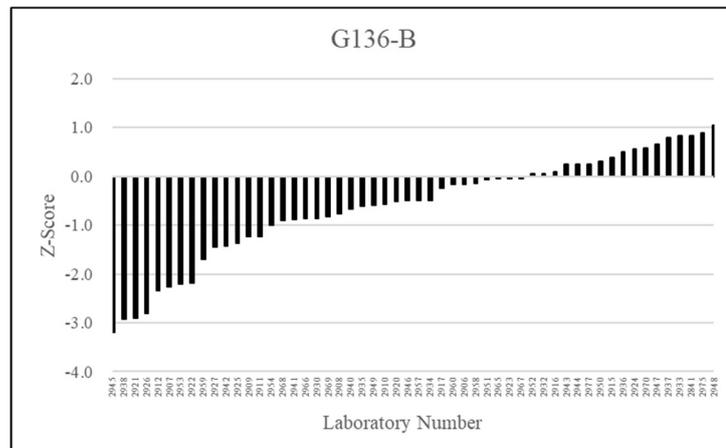
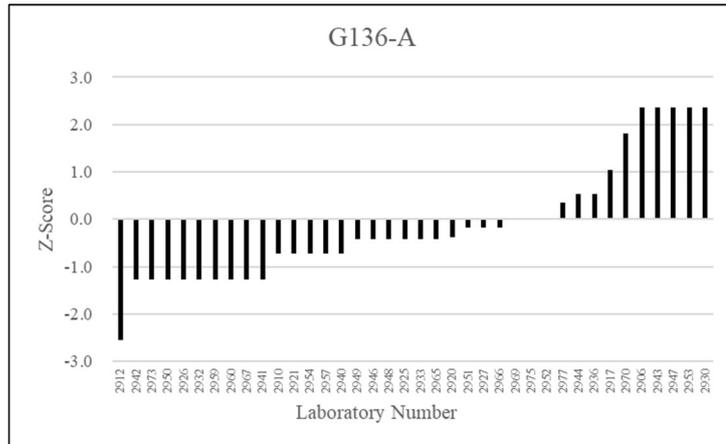


図 3. UKHSA G136-A 地衛研参加者の Z スコア (G136-A、G136-B)

表 1. FAPAS LG0124-B の結果 *
(Fapas -Water and Environmental Proficiency Test Report より)

Test Material B				
test	intended results / assigned value, x _a	number of satisfactory results	total number of results	% satisfactory
<i>Legionella</i> spp.	detected	69	71	97
<i>Legionella</i> spp. (Identification, species)	<i>L. pneumophila</i>	64	64	100
<i>Legionella</i> spp. (Identification, serogroup)	serogroup 1	65	65	100
<i>Legionella</i> spp. (Quantitative)	5.15 log ₁₀ cfu/l	62	67	93

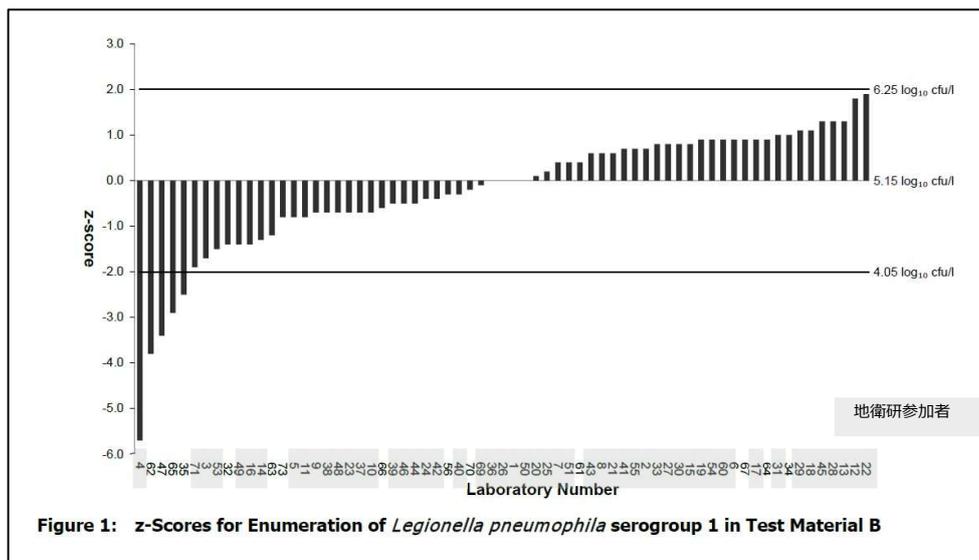


図 4. FAPAS LG0124-B 全参加者の Z スコアと分布
(Fapas-Water and Environmental Proficiency Test Report より)

表 2. FAPAS の方法「前処理なし、非選択培地」と環境水の標準的検査法「前処理あり、
選択培地」のレジオネラ検出結果 G0124-B

	FAPAS指定の方法 前処理なし 非選択培地	前処理あり（酸処理） 選択培地	前処理あり（熱処理） 選択培地
報告数	53	47	37
最大値 (CFU/L)	1.5×10^6	2.4×10^5	2.2×10^5
最小値 (CFU/L)	100	< 100	< 100
平均値 (CFU/L)	2.8×10^5	3.5×10^4	3.5×10^4

表 3. 地衛研アンケート（回答数：2024 年 55 機関、2023 年 54 機関）

設問①	年度	希望する	希望しない	わからない
次年度以降も、リファレンスセンターが募集する外部精度管理に参加を希望されますか？	2024	52	0	3
	2023	50	0	4

設問②	年度	参加する	参加しない	参加したいが 予算がない	わからない
リファレンスセンターから外部精度管理の募集がない場合、所属で参加費を負担して、いずれかの外部精度管理に参加されますか？	2024	9	2	32	12
	2023	11	0	27	16

表4. 日本国内から参加可能なレジオネラ検査外部精度管理*

名称	EQA	FAPAS	(参考) レジオネラ属菌検査精度管理 サーベイ
実施者	UKHSA (UK Health Security Agency) 英国健康安全保障庁	Fera (The Food and Environment Research Agency) 独立行政法人英国食料環境研究 庁(英国環境食料農村地域省傘下)	島津ダイアグノスティクス
国	英国	英国	日本
日本からの参加実績	あり	あり	あり
参加費 (1回あたり)	60,500円(消費税込) (年4回参加の場合は、1回あ たり55,000円(消費税込み))	56,000円(消費税込)	45,100円(消費税込)
年間実施回数	4	4	1
参加者数	100~250程度(1回あたり)	20程度(1回あたり)	100程度
国内代理店の有無	あり (2024年度からアイデックスラ ボラトリーズ)	あり (セントラル科学貿易)	—
日本語サポート	あり	あり	—
配付試料の輸送	常温	常温	冷凍
検査実施までの保管	冷凍	冷蔵	冷凍
1回あたりの 配付試料数	2	2	1
配布試料中のレジオネ ラ以外の細菌の混合	あり	なし	なし
いずれかの配布試料中 にレジオネラが含まれ ない可能性	あり	あり	なし
配布試料中に含まれる レジオネラの菌種	複数種	複数種	<i>Legionella pneumophila</i> のみ
配布試料中に含まれる レジオネラの菌種数	1~2種	1~2種	1種
配布試料の形状	Lenticule Disc ゼラチン状のディスク	Lyophilized sample フリーズドライ様	BioBall フリーズドライ
検査方法	各施設の方法	各施設の方法 非選択培地を用いる (選択培地で参加も可)	指定法
検査結果の報告	菌数 菌種(血清群)	菌数 菌種(血清群)	菌数
解析方法	Zスコア	Zスコア	回収率、Zスコア
ISO 17043の認定	あり	あり	なし

*1) 昨年度²⁾からの変更点を確認し、情報をアップデートした。

表 5. UKHSA の参加機関数推移 (UKHSA より提供)

年	参加機関数	参加機関数 (日本国内)
2019/2020	283	12
2020/2021*	248	13
2021/2022	253	12
2022/2023	255	13
2023/2024	243	14
2024/2025	346	117

*COVID-19 の流行のため年 3 回実施、他は年 4 回実施