

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
研究代表者	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
	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)検査法技術指導、3)検査研修システムの構築について、検討を行う予定だったが、新型コロナウイルスの影響により、予定していた技術指導及び研修会が中止となり、本年度は外部精度管理を中心に、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、2020年度は公的、民間を問わず全国171の検査機関、180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72機関については、独自に集計・解析を実施し、過去5年間の結果とも比較した。6年連続参加した機関は44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。回収率については、判定を開始した2017年度からの推移を見ると、良

好範囲を報告した機関の割合は 2018 年度に大きく上がったものの(74.3%)その他の年では本年度含め 55%前後であった。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。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、今後も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、1)外部精度管理、2)検査法技術指導、3)研修システムの構築について、以上を目的とした。

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9月上旬に日水製薬より「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 30 日(金)に締め切られた。その後の日程を、12 月 2 日(水)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)を参加者に向け発送、回答期限 2021 年1月 15 日(金)17 時、結果閲覧開始を2月下旬としていたが、コロナ禍による発送試料到着遅れが見込まれたため、日程を約1カ月変更し、試料発送等を 2021 年1月6日、回答期限を2月 19 日(金)17 時とした。結果については、3月 30 日(火)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 171 の検査機関、180 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 72 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 72 機関については、独自に集計・解析を実施し、過去5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 10210.1cfu/Ball、上限値 15133.9 cfu/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 2,050.32、上限値 3026.78 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 の位以下を切り捨て、上限値については切り上げ 2,000 ~ 4,000cfu/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 ~ 12,000cfu/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、2021年 3 月 30 日(火)、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) 検査法技術指導

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、2~3 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う予定としていた。

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い、2021年1月に試行的に研修会を行う予定としていた。

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 72 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(2016-20 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 72 機関中 69 機関(約 96%)であり、例年通り 90%以上の機関が良好な結果を報告し、過去4年間と比較しても安定した結果が得られていた。また、昨年度はレジオネラ属菌を検出できなかった機関が非濃縮①で 1 機関、②で 2 機関あったが、今年度は全ての機関から検出報告があった。一方、非濃縮①、②共に目標良好範囲外(下限良好範囲未満)の報告をした機関が 2 機関、非濃縮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機関あった。これらの機関は、試料作成工程の確認、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、昨年度は非濃縮②において良好上限を大きく超える回答をした機関が2機関あったが、今年度は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かった。またレジオネラ属菌を検出できなかった機関も3機関あった。これらの機関は、濃縮工程の見直しが急務であり、また、検査工程全体を通しての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。

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 44 機関(約 62%)が目標良好範囲を報告していた。一昨年度までは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、昨年度は約 77%、本年度はさらに割合が低く約 62%という結果となった。研究班では、選択分離培地がレジオネラ属菌に対し発育抑制があることをこれまでも報告し²⁾、本供試菌株においても同様であることを報告している^{1,3)}。元々の配付試料の菌数が毎年異なること、その他いくつかの要因が影響している可能性があり、この結果だけで判断することはできないが、昨年度の配付試料から培地の選択剤による感受性が高まっている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。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、72 機関中 39 機関(約 54%:昨年度約 58%)であった。非濃縮①を分母とした場合では、72 機関中 42 機関(約 58%:昨年度約 55%)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、72 機関中 33 機関(約 46%:昨年度約 45 %)であった。本年度の回収率は、どの分母を基準にした場合も昨年度と同程度の結果となっていた。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³⁾、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 年度から本年度(2020 年度)までの回収率の比較(分母:非濃縮②)を表4と図1に示した。2017 年度と本年度を比較すると、回収率1%未満の特殊な区分を除き、ほぼ同様の割合を示した。しかしながら、全体平均値や良好平均値等においては、2017 年度の方が明らかに高い値を示しており、これらについては昨年度と同様の結果であった。また、回収率1%未満の特殊な区分での傾向についても昨年度と同様の結果であった。一方で、回収率 20%未満だった報告値の平均では、2017 年度に近い値であった。これらのことから、本年度の傾向は、2017 年度と2019 年度の両方の要素を持つ結果であった。このような状況においては、2018 年度が特殊な結果に見えるが、昨年度の考察におい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%未満の施設割合

が2017年度では23.9%と高かったことが2018年度の良好範囲占有率の増加に繋がった可能性があったと報告した。今年度は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。

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、昨年度に引き続き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があった。しかしながら、日水製薬及び北海道立衛生研究所における配付試料のサーベイ指定法上での確認実験において、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、2015～20年度の結果判定一覧を示した。ここでは、過去6年間の比較をしやすいするために、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。6年連続で参加した機関は44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39機関あった。このうち16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4年連続で良好範囲外を報告していた機関も4機関あった。一方、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36機関あり、うち6年連続が2機関、5年連続が1機関、4年連続が3機関、3年連続が5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6機関あった。

なお、今年度は初参加の機関が8機関、数年ぶりに参加した機関が2機関あり、このような機関が占める比率が例年より高かった。前者では6機関、後者では2機関ともが回収率で目標良好範囲外の結果を報告していた。これらの機関は、適切な手技が行えていなかった可能性が示唆された。

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、安定傾向にある機関として、6年連続良好な結果を報告している機関が7機関、5年連続が2機関、4年連続が2機関、3年連続が6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、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、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適切な手技が行えていなかった可能性もあり、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) 検査法技術指導

昨年度同様、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、2〜3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う予定としていたが、コロナ禍の影響により現地に出向いての技術指導を行うことができなかった。

なお、国立感染症研究所がホームページ上で発信している、病原体検出マニュアルにおいて研究班で作成した改訂版「レジオネラ症」が2020年9月に掲載され、詳細な検査法について対応している。また、関東化学株式会社のレジオネラ検査パンフレットに斜光法によるレジオネラ集落観察写真を提供し、広く本法の啓発に努めた。

3) 検査研修システム

これまでの経緯を以下に述べる。過去研究班が関わりながら行ってきた研修会として、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。そこで本年度は、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、本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ったが、コロナ禍の影響により研修会を中止せざるを得ない状況となった。

なお、関東化学株式会社主催により、研究班員である、緒方喜久代氏、佐々木麻里氏協力のもと、2021年1月27日(水)に、web研修会「レジオネラ症総論と培養法の注意点」が開催されている。

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。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。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。北海道においては、令和元年(2019年)9月19日付け生食発0919第8号別添1「公衆浴場における水質基準等に関する指針」第4の2のエの規程(検査の依頼にあたっては、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)及び令和元年(2019年)9月19日付け薬生衛発0919第1号別添「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について」3(精度管理)に基づき、「レジオネラ属菌外部精度管理実施要領」を策定し運用を開始している。同様の対応をしている自治体もあると思われるが、未対応の自治体においては検査精度を適正に保つことを目的とした対応が望まれる。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。

2) 検査法技術指導

コロナ禍の影響により現地に出向いての技術指導を行うことができなかったが、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があり、直接現場で検討会を行うことで、改善に向かう機関はあると

思われる。次年度可能であれば直接現場に向き確認作業を行いたいと考える。なお、今年度病原体検出マニュアルに掲載された、改訂版「レジオネラ症」において詳細な検査法を確認することが可能である。

3) 検査研修システム

実技を伴った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、実現のハードルが高い中、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。今年度はコロナ禍の影響により研修会が中止となったが、改めて次年度試行的に開催できるよう準備を進めたい。

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:検査法の検討: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)「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」平成19～平成21年度総合研究報告書 pp.88-126.
- 3) 森本 洋 他:レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み:厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」平成26年度総括・分担研究報告書 pp.77-101.

F. 研究発表

なし

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

2020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「2020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.「2020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お施設様

■実施概要

検査試料	レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ試料（凍結乾燥品、-18~-33℃保存） 同封書類：①試料送付のご案内、②試料の使用方法・操作手順、③結果記入用メモ、④試料受領書兼承諾書
実施方法について	「2020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）。 ■ 2020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 35,000 円（消費税別）
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）

9月上旬	参加募集開始 ● 弊社コスモ会ホームページ(https://cosmokai.com)の2020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30日（金）	参加募集締切
12月2日（水）	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14日（月）	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。
12月3日（木）～ 1月15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。
1月15日（金）17時	回答締切
2月26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 : 03-5846-5729 FAX:03-5846-5629

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



日水製薬株式会社

参加要件

2020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

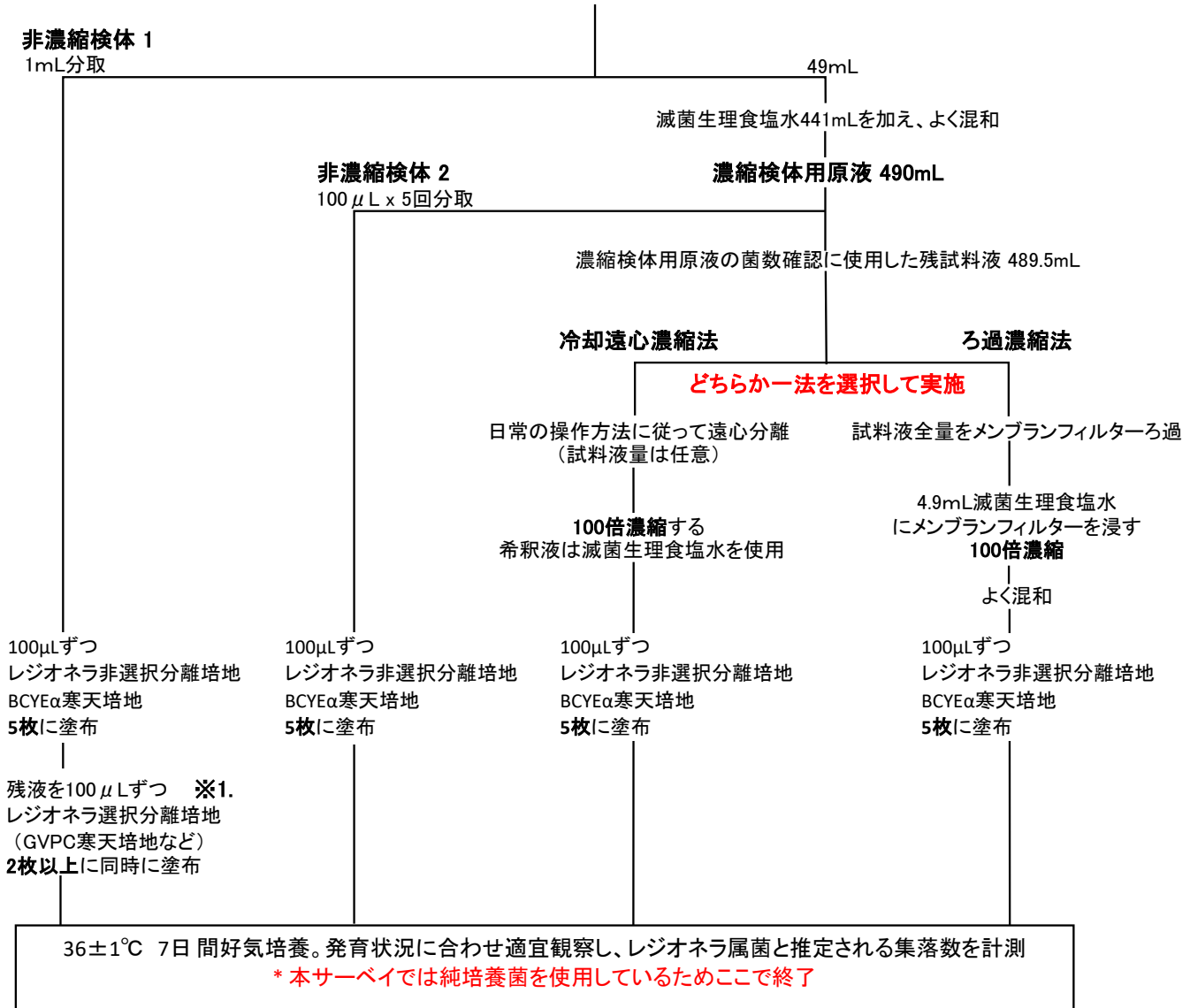
予告なく実施スケジュールが変更となることがあります。変更後のスケジュールは、メール等にてご連絡いたします。

以上

2020 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)

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バイアルを加えよく混和



■ 2020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。

■ 2020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。

2020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、2020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
2021年1月7日(木) ～1月8日(金)	■ 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。
2021年2月19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2/19 (金) 17時とさせていただきます。
2021年3月29日(月)	■ 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 : 03-5846-5729 FAX : 03-5846-5629 E-mail : legi-srvy@nissui-pharm.jp

2020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	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（2020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。

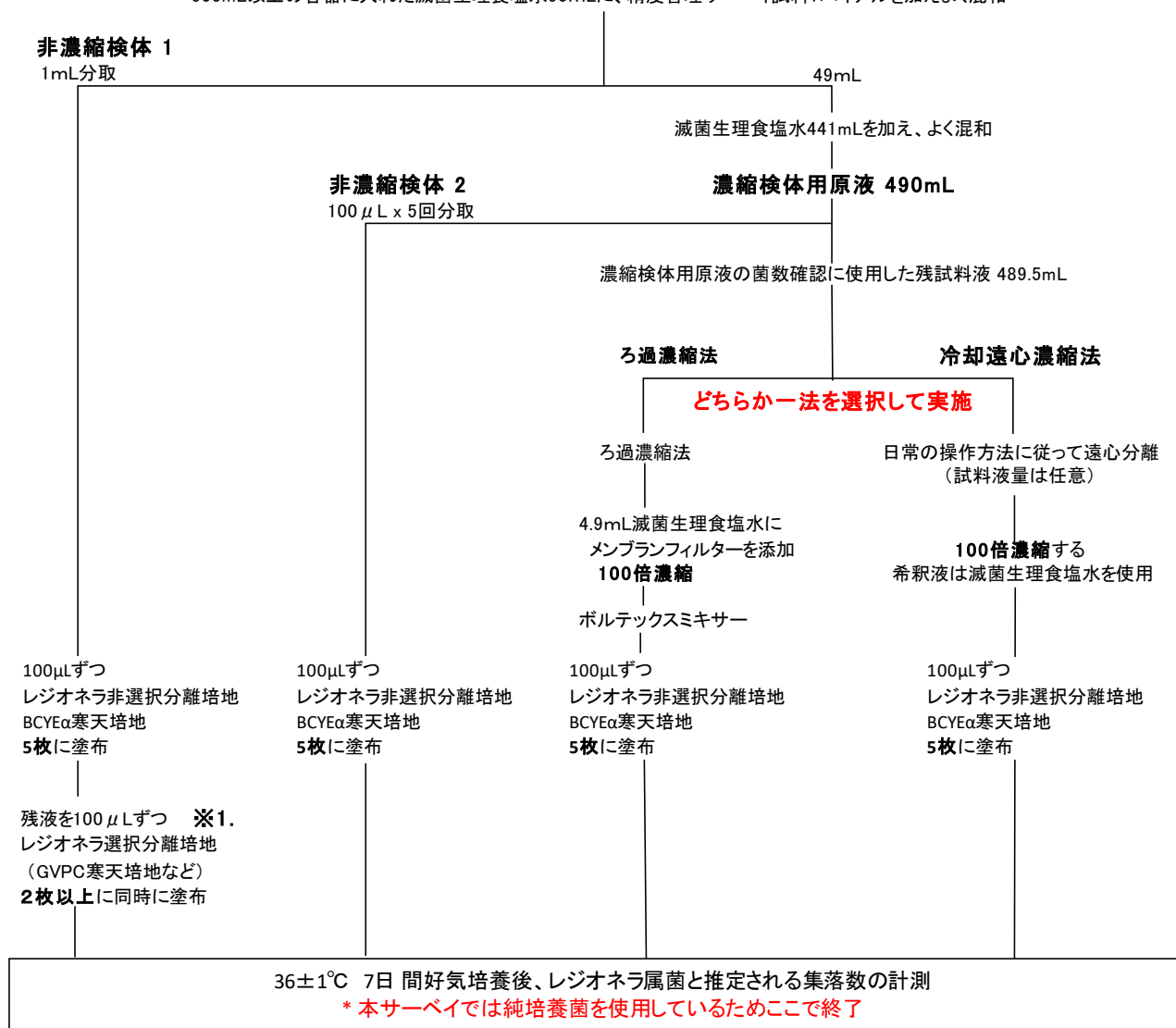
注 15：同じ PC で複数の方が入力・確認を行う際には、ユーザー毎に作業完了後、一度ブラウザを全て閉じ、再度結果入力画面にアクセスし、ログインしてください。表示されている内容が試験担当者ご本人のものであるかご確認ください。



2020年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法

(参考：厚生科研費レジオネラ属菌検査推奨法 / 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バイアルを加えよく混和



■ 2020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。2020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。

2020 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)

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

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

■2020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

WYO α 寒天培地

MWY 寒天培地

CCVC 寒天培地

PAC (BMPA α) 寒天培地

PAV 寒天培地

その他

(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

【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 = $\frac{\text{平均値}}{\text{CFU/培地}} \times 100$)

(2) 培地 1 枚あたりの菌数をご記入ください。

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

(3) 使用した培地は何ですか。

BCYE α 寒天培地 その他

(4) 培地メーカーはどちらですか。

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

(5) 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°Cですか。 °C

以上

2020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14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： 2021年 1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/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	2620	740	2800	1512		41	2360	500	2500	472	
2	1660	480	2800	454		42	3000	1050	2800	138	
3	4120	1150	3600	590		43	2500	650	1800	1258	
4	520	450	1400	192		44	4120	1250	5000	1944	
5	5900	1733	6600	2444		45	3020	700	1600	406	
6	2880	575	2200	604		46	3640	500	4600	1104	
7	1100	333	800	32		47	3740	1300	4600	72	
8	1960	750	1800	252		48	3320	600	1600	830	
9	1500	540	2000	422		49	1860	375	1800	838	
10	3360	1540	2400	96		50	3740	1633	5800	838	
11	2660	275	3800	0		51	3440	1100	3200	1632	
12	3100	950	3400	476		52	2580	300	2200	788	
13	1440	200	1600	440		53	3380	1575	3600	1164	
14	2500	67	2400	958		54	3960	600	4800	492	
15	4400	600	5600	1708		55	2800	500	1800	94	
16	2280	100	1200		4	56	3780	650	3200	1008	
17	1460	300	1800	134		57	2480	600	2800	650	
18	2620	1800	2200		410	58	3080	2750	600	0	
19	3300	1150	4000	246		59	2660	700	4600	752	
20	1180	500	200	0		60	2680	1000	2200	782	
21	2060	650	1600	376		61	2560	825	2400	496	
22	3360	575	5200		234	62	3180	1275	4000	1674	
23	580	75	200	58		63	3560	1600	3600		1354
24	720	150	600	4		64	2800	700	1200	318	
25	4020	1400	3800	766		65	1560	433	2600	1212	
26	3220	450	2400	1246		66	5180	733	4400	844	
27	2920	600	3000	544		67	2520		1200	1342	
28	2620	525	1400	734		68	4340	1467	6600	1383	
29	2980	767	2600	1216		69	5620	900	3800	2264	
30	1500	100	2000	376		70	2680	433	3600	928	
31	3800	1850	6000	1092		71	2860	367	3000	20	
32	3300	880	2800	230		72	360	50	200	12	
33	4040	1500	3000	1330							
34	3300	1375	4200	1230		平均値	2816	805	2904	735	500
35	2200	850	3600	1062		最大値	5900	2750	6600	2444	1354
36	3500	1433	5200	870		最小値	360	50	200	0	4
37	2460	250	4400	1166		中央値	2800	650	2700	692	322
38	1660	1150	2200	484		対象機関	72	71	72	68	4
39	2480	600	2600	136		良好機関	69(96%)	44(62%)	69(96%)		
40	2080	600	2000	734							

* 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(2016-20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%

* 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	57.7	54	27	18.6	18.1	53	34.4	32.3
2	27.3	16.2	28	28	52.4	54	12.4	10.3
3	14.3	16.4	29	40.8	46.8	55	3.4	5.2
4	36.9	13.7	30	25.1	18.8	56	26.7	31.5
5	41.4	37	31	28.7	18.2	57	26.2	23.2
6	21	27.5	32	7	8.2	58	0	0
7	2.9	4	33	32.9	44.3	59	28.3	16.3
8	12.9	14	34	37.3	29.3	60	29.2	35.5
9	28.1	21.1	35	48.3	29.5	61	19.4	20.7
10	2.9	4	36	24.9	16.7	62	52.6	41.9
11	0	0	37	47.4	26.5	63	38	37.6
12	15.4	14	38	29.2	22	64	11.4	26.5
13	30.6	27.5	39	5.5	5.2	65	77.7	46.6
14	38.3	39.9	40	35.3	36.7	66	16.3	19.2
15	38.8	30.5	41	20	18.9	67	53.3	111.8
16	0.2	0.3	42	4.6	4.9	68	31.9	20.9
17	9.2	7.4	43	50.3	69.9	69	40.3	59.6
18	15.6	18.6	44	47.2	38.9	70	34.6	25.8
19	7.5	6.2	45	13.4	25.4	71	0.7	0.7
20	0	0	46	30.3	24	72	3.3	6
21	18.3	23.5	47	1.9	1.6	平均値	24.7	25.1
22	7	4.5	48	25	51.9	最大値	77.7	111.8
23	10	29	49	45.1	46.6	最小値	0	0
24	0.6	0.7	50	22.4	14.4	中央値	25.7	21.6
25	19.1	20.2	51	47.4	51	有効機関	72	72
26	38.7	51.9	52	30.5	35.8	良好機関	42(58.%)	39(54.%)

* 参考

表4 回収率の比較(分母:非濃縮②、2017-20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
2020	54	25.1	35.8	69.9	20.2	32.3	9.5

図1 回収率の比較(分母:非濃縮②)

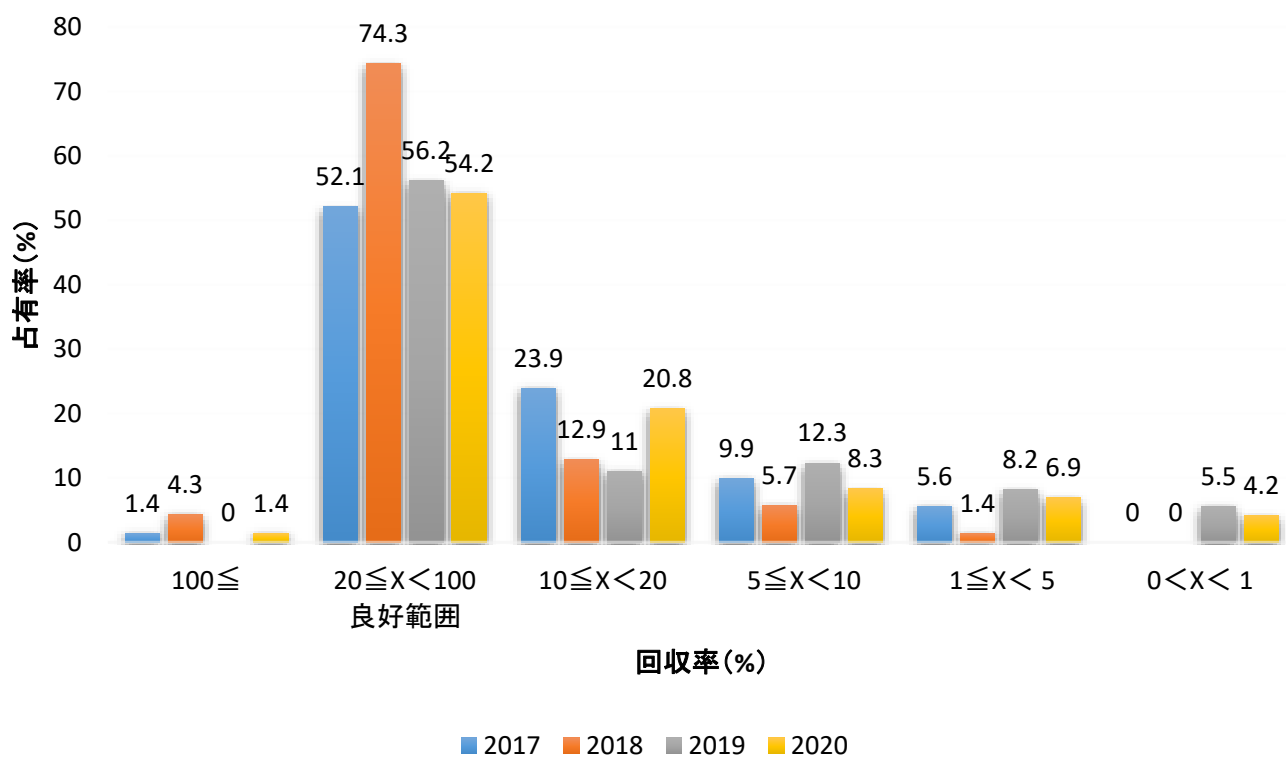


表5 2015~2020年度結果概略(2015/16/17/18/19/20、良好範囲(菌数○、回収率(分母非濃縮② 2017~)黒字)、範囲外(菌数*、回収率(2017~)赤字、検査項目外又は不参加一))

No.	非濃縮①	非濃縮②	ろ過濃縮	遠心濃縮	No.	非濃縮①	非濃縮②	ろ過濃縮	遠心濃縮
1	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/○		37	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/○	
2	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/*		38	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/*/*/*	
3	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/*		39	○/*/-/○/○/○	-/*/-/○/○/○	*/*/-/○/*/*	-/○/-/-/-/-
4	-/-/-/-/-/-/*	-/-/-/-/-/-/*	-/-/-/-/-/-/*		40	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○/○/○/○/○	
5	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/○		41	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/*○/○/○/*	
6	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/○		42	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○○/*/*/*	
7	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/*		43	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/*/*/*/○	
8	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/-/*		44	○/○/○/○/○/○	-/*/○/○/○/○	○/*○/○/○/○	
9	-/-/○/○/○/○	-/-/*/○/○/○	-/-/*/○/*/*		45	○/○/○/○/○/○	-/*/○/○/○/○	*/*/○/*/*/*	
10	-/-/-/○/○/○	-/-/-/○/○/○	-/-/-/○/*/*		46	*/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○/*/○/*/○	
11	-/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	-/-/*/*/*/*	-/*/-/-/-/-	47	-/○/-/-/-/-/○	-/○/-/-/-/-/○	-/○/-/-/-/-/*	
12	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/*/*/○/*		48	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/*/*/○	
13	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/*/*/*		49	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/*/○	○/○/○/○/*/○	
14	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/○		50	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	-/-/○/*/○/○	*/*/-/-/-/-
15	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/*/*/○		51	-/-/○/○/○/○	-/-/○/○/○/○	-/-/-/-/-/○	-/-/○/○/○
16	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○		*/○/*/*/*/*/*	52	○/-/○/○/○/○	-/-/○/○/○/○	○/-/○/○/○/○	
17	○/○/-/○/○/○	-/○/-/○/○/○	*/*/-/*/○/*		53	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○/*/*/*/○	
18	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/-/-/-/-/-	○/○/○/○/*/*	54	-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/○	-/-/-/-/-/*	
19	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/*/*/*/*/*/*		55	-/-/-/-/○/○	-/-/-/-/○/○	-/-/-/-/*/*	
20	*/○/○/○/○/○	-/*/○/○/○/*	*/*/*/*/*/*/*		56	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○/○/○/○/○	
21	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/*/*/○/*		57	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/*/○/○/*/○	
22	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	-/-/○/-/-	*/○/-/○/*/*	58	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/*	
23	○/○/○/○/○/*	-/○/○/○/○/*	*/*/*/*/*/*/*		59	-/-/-/-/○/○	-/-/-/-/○/○	-/-/-/-/*/*	
24	-/-/○/○/*/○	-/-/○/○/*/○	-/-/○/○/*/*		60	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/○	
25	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○/○/*/*/○		61	○/○/○/○/○/○	-/○/*/○/○/○	*/*/*/*/*/*	
26	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/*/*/○/○/○		62	○/○/-/○/○/○	-/○/-/○/○/○	○/○/-/*/*/○	
27	-/-/-/-/○/○	-/-/-/-/○/○	-/-/-/-/○/*		63	-/○/○/○/○/○	-/○/*/○/*/○		-/*/○/○/○/○
28	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/○		64	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○/*/*/*/*	
29	-/-/-/-/○/○	-/-/-/-/○/○	-/-/-/-/○/○		65	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○/○/○/○/○	
30	-/-/*/*/○/○	-/-/*/*/○/*/○	-/-/*/*/*/*		66	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	*/○/○/*/*/*	
31	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/*/*/○/○		67	○/-/○/○/○/○	-/-/○/○/○/○	-/-/○/○/○/○	
32	-/○/○/○/○/○	-/○/○/○/*/○	-/○/○/○/○/*		68	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	-/*/○/○/○/○	*/-/-/-/-/-
33	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/○		69	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	
34	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/○		70	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/*/○	○/*/○/*/*/*	
35	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/*/*/○/○		71	-/○/-/-/-/○	-/○/-/-/-/○	-/○/-/-/-/*	
36	○/○/○/○/○/○	-/○/○/○/○/○	○/○/○/○/○/○		72	○/-/-/○/*/*	-/-/-/○/*/*	○/-/-/*/*/*	