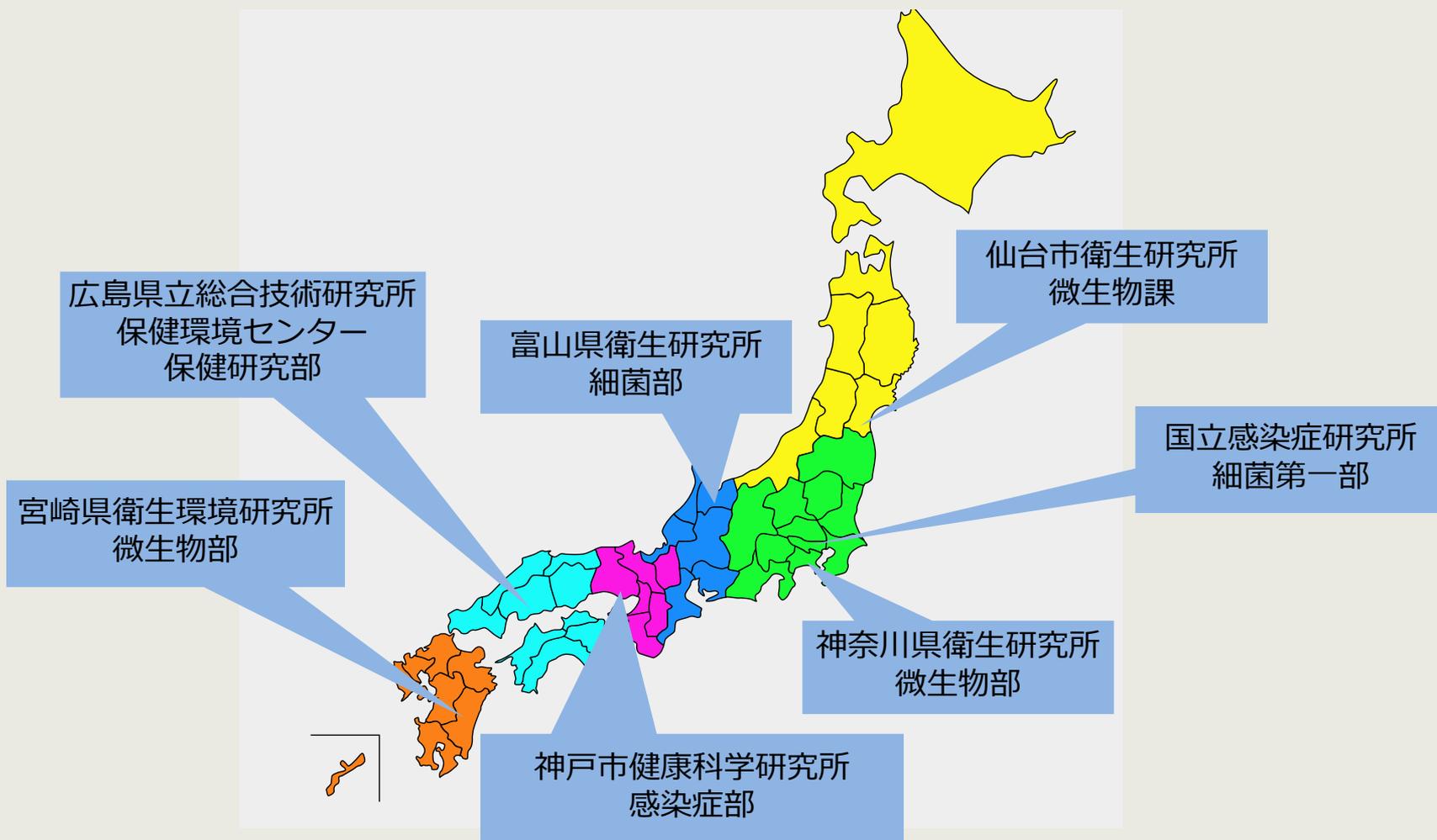
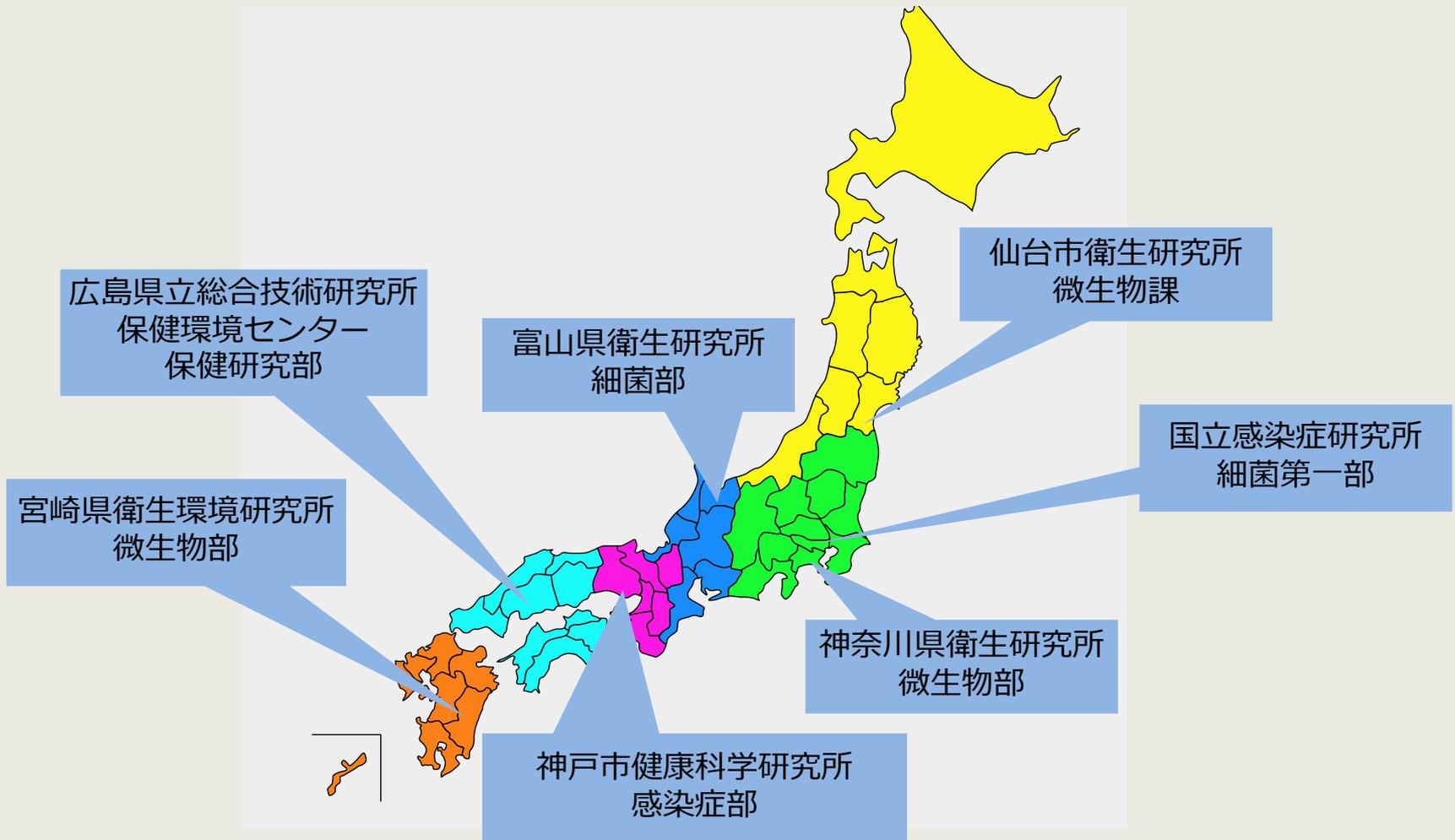


レジオネラ・レファレンスセンター会議



衛生微生物技術協議会第44回研究会
Zoom Meeting 2024.6.26. 10:00-

レジオネラ・レファレンスセンター会議報告会



衛生微生物技術協議会第44回研究会
2024.7.10. 11:00-

本日の議題

✓ 臨床分離株の収集状況・型別

✓ 各支部報告

- ・（MLVA、SBTが過去の事例と一致した場合の）行政検査の試験成績書
- ・ PFGE、SBT解析に用いる代表株のスクリーニング方法

✓ トピックス

- ・ 外部精度管理
- ・ 冷却塔に起因したレジオネラ症集団感染事例

年別レジオネラ症報告数

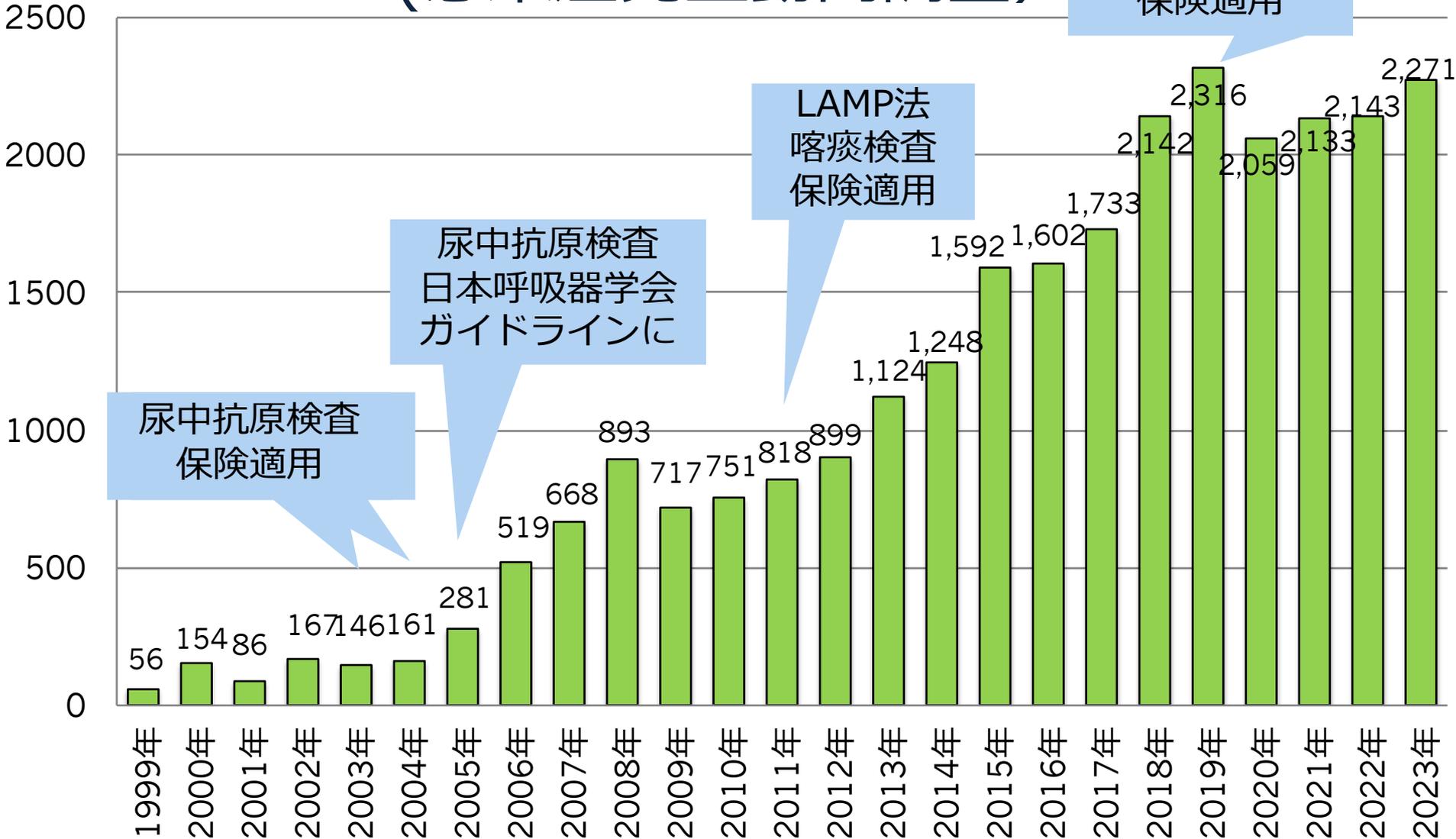
(感染症発生動向調査)

リボテスト
保険適用

LAMP法
喀痰検査
保険適用

尿中抗原検査
日本呼吸器学会
ガイドラインに

尿中抗原検査
保険適用



※1999年の報告数は4～12月までの数値である。

お知らせ

IASR 病原微生物検出情報

2024年7月号

〈特集〉レジオネラ症

特集関連記事14報

2023年度活動実績

- 市販されていないレジオネラ免疫血清の受注生産品（デンカ）の配布
 - レジオネラ・ニューモフィラ混合血清（混合1, 2, 3, 2-15群）
 - ロングビーチ1群、2群、
 - フィーレイ1群、2群、アニサ、ジオルダニス
 - ロンデニエンシス1群、2群、ボゼマニイ2群
 - セントヘレンシ1群、2群、ハックリー（1,2群混合）
- *L. pneumophila*血清型別M-PCR用プライマーセット・コントロールDNAの配布
- レジオネラ属菌検査外部精度管理

2024年度活動予定

- 市販されていないレジオネラ免疫血清の受注生産品（デンカ）の配布
 - レジオネラ・ニューモフィラ混合血清（混合1, 2, 3, 2-15群）
 - ロングビーチ1群、2群、
 - フィーレイ1群、2群、アニサ、ジオルダニス
 - ロンデニエンシス1群、2群、ボゼマニイ2群
 - セントヘレンシ1群、2群、ハックリー（1,2群混合）
- *L. pneumophila*血清型別M-PCR用プライマーセット・コントロールDNAの配布
- レジオネラ属菌検査外部精度管理

お知らせ

国立感染症研究所「人を対象とする生命科学・医学系研究倫理審査」において、

「レジオネラ臨床分離株のサーベイランス」が、6月20日に承認されました。

収集した*Legionella pneumophila*臨床分離株について、遺伝子型別、全ゲノム解析を行い、感染源解明のためのデータベース構築の基礎資料とします。

お願い

厚労科研レジオネラ研究班・分子疫学グループ

(感染研、神戸市、富山県、神奈川県、川崎市)

で、疫学調査のための*L. pneumophila***ゲノム解析**
マニュアル化検討にあたり、送付いただいた菌株
の全ゲノム解析を行わせて下さい。

使用不可の場合、ご連絡下さい。

ゲノムデータを公表する際には、改めて、お願い
を致します。

参加したい方は、ご連絡下さい

臨床分離株の収集状況・型別

国立感染症研究所細菌第一部

レジオネラ臨床分離株、2013–2023年

菌種	株数
<i>Legionella pneumophila</i>	702
<i>Legionella longbeachae</i>	6
<i>Legionella bozemanai</i>	1
<i>Legionella dumoffii</i>	1
<i>Legionella feeleii</i>	1
<i>Legionella anisa</i>	1
合計	712

IASR7月号掲載予定

Legionella pneumophila の血清群、2013—2023年

血清群	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	合計
2013年	40	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	45
2014年	38	0	2	1	0	0	0	1	1	0	1	1	45
2015年	79	1	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	84
2016年	61	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	64
2017年	92	2	3	1	3	0	0	0	1	0	0	0	102
2018年	68	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	72
2019年	81	2	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	88
2020年	42	1	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	46
2021年	54	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	59
2022年	34	4	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	42
2023年	41	1	4	0	1	6	0	1	0	1	0	0	55
合計	630	19	12	2	8	11	2	3	7	5	2	1	702

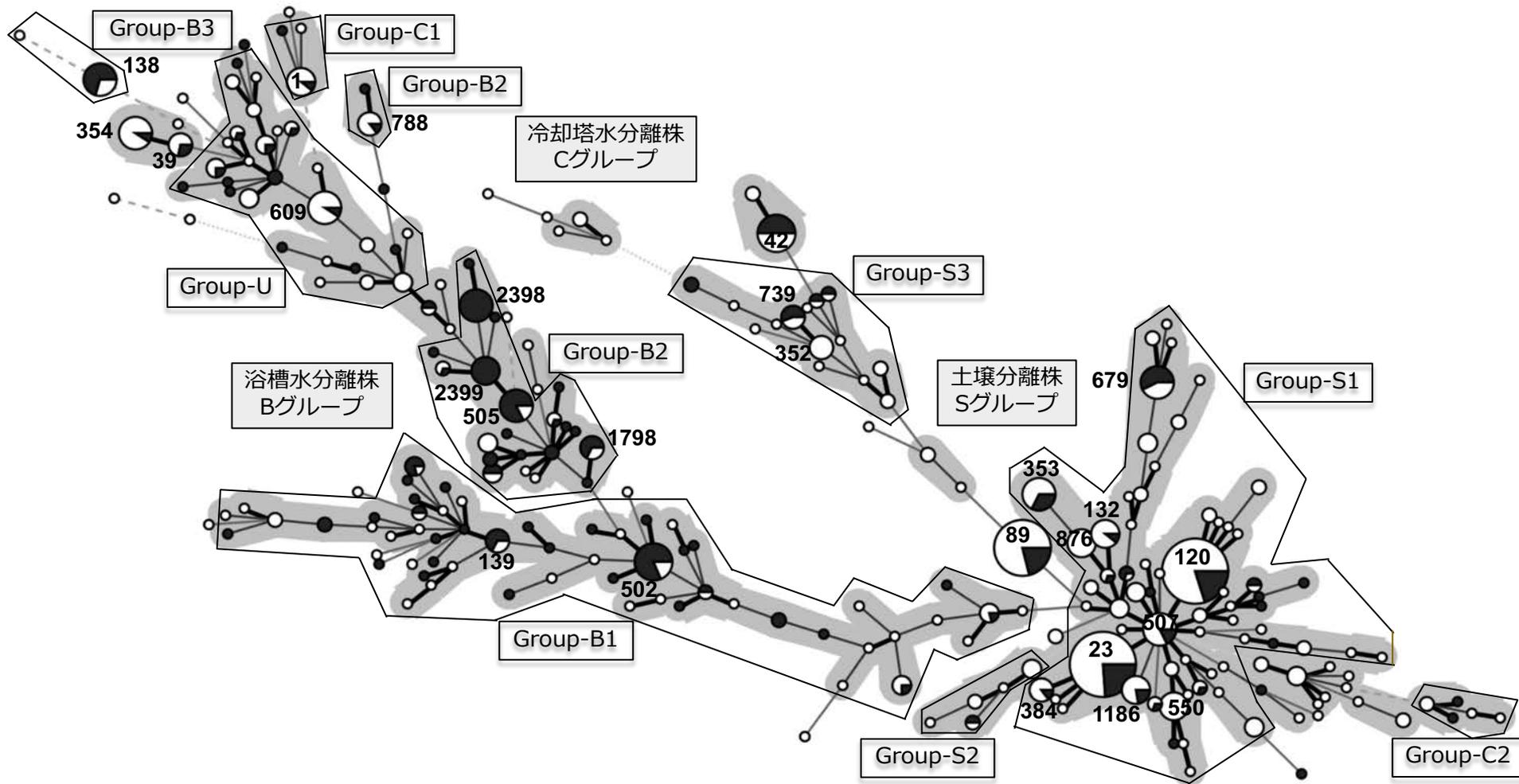
IASR7月号掲載予定

株数	ST (カッコ内はグループまたはSG)†
51	ST23
49	ST120(S1)
38	ST89 ([S1])
18	ST42 (N)
16	ST502 (B1)
14	ST138 (B3), ST679 (S1), ST2398 (B2)
12	ST353 (S1),
11	ST354 (SG2), ST505 (B2), ST507 (S1), ST609 (U)
10	ST1 (C1)
9	ST132 (S1), ST876 (S1), ST1186 (S1), ST2399 (B2)
8	ST550 (S1)
7	ST39 (SG2), ST384 (S1), ST739 (S3)
6	ST139 (B1), ST352 (S3), ST788 (B2), ST1798 (B2)
5	ST591 (S2), ST642 (B1), ST701 (N), ST973(S1), ST1346 (B2), ST2114 (B1)
4	ST68 (SG6), ST92 ([S1]), ST93 (SG3), ST114 (U), ST127(U), ST142 (B1), ST905 (S1), ST1187 (S1), ST2372 (B2)
3	19種類のST
2	26種類のST
1	157種類のST
1	neuA増幅せずST未決

†血清群(SG)1の国内分離株をSTでグループ分けすると、浴槽水分離株が多く含まれるB1, B2, B3、冷却塔水分離株が多く含まれるC1, C2、土壌分離株が多く含まれるS1, S2, S3、感染源不明の臨床分離株が多いUグループに分かれる。各グループに属する遺伝子型と3遺伝子座が異なる場合、[カッコ]付きのグループで示す。N:いずれのグループにも属さない。

L. pneumophila 国内臨床分離株のminimum spanning tree (MST) 図、 2013–2023年

IASR7月号掲載予定



数字は分離株数の多いSTを示す。円の大きさはそれぞれのSTの株数に比例し、確定または推定感染源が浴槽水のものを黒色で示す。SG1の国内分離株をSTでグループ分けすると、浴槽水分離株が多く含まれるB1, B2, B3、冷却塔水分離株が多く含まれるC1, C2、土壌分離株が多く含まれるS1, S2, S3、感染源不明の臨床分離株が多いUグループに分かれる。

レジオネラレファレンスセンターR5年度活動報告

<北海道・東北・新潟ブロック>

1) レジオネラ属菌外部精度管理サーベイについて

令和6年2月に希望する8地研(北海道・青森県・岩手県・宮城県・仙台市・福島県・新潟県・新潟市)が参加した。

2) 班会議等への出席及び血清等配布について

令和5年6月・12月にweb開催された、厚生労働科学研究「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」の研究班班会議への出席及びWGへの参加協力を行った。また、厚労科研費にて購入の免疫血清及び*L.pneumophila*の血清型別M-PCRプライマーセット及び試薬・器材をブロック内で希望する地研あてに配布した。

3) ブロック内レジオネラ患者発生状況及び感染研あて菌株送付について(表1・表2)

表1 感染症法による届出数(R5年)

	R5年
北海道(札幌市・函館市除く)	28
札幌市	14
函館市	13
青森県	13
秋田県	18
岩手県	33
宮城県(仙台市除く)	45
仙台市	24
山形県	20
福島県	47
新潟県	45
新潟市	7
合計	307

表2 感染研への菌株送付状況(R5年)

No	患者年齢	性別	菌種	血清群	その他
1	69歳	男	<i>L. pneumophila</i>	5	
2	63歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
3	68歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
4	67歳	男	<i>L. pneumophila</i>	2	
5	71歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
6	48歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
7	76歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
8	74歳	女	<i>L. pneumophila</i>	6	
合計8株(No.1~3山形県、No.4新潟県、No.5~8新潟市)					

※No.5~7はいずれも令和5年3月に感染研へ送付した菌株で、前年度のレファレンスセンターへの活動報告において報告対象期間外であったものの既に報告してしまったため重複しているが、今年度も改めて掲載。

4) 各地研における検査状況について(詳細は、表3「R5年度 検査状況」参照)

5) 要望及び質問事項等について

(1) 要望

(岩手県)浴槽水以外の感染例についてレファレンス会議で取り上げてほしい。

(2) 質問事項

(北海道)当所では現在、感染源特定や集団感染事例対応時の菌株の遺伝子型別法をPFGEからMLVAとSBTへ切り替えるため、保存株を用いた予備実験を実施中です。

既に行政検査としてMLVA、SBTを導入済みの地衛研に以下の2点についてご教示いただけると幸いです。

- ① MLVAやSBTの型が(当該事例以外の)過去の事例株と一致するようになりますか。
- ② ①のように過去の事例株とMLVA、SBTの型が一致した場合、どのように試験成績書で報告してますか。

表3 R5年度 検査状況

	検査数	内訳 (陽性検体数/検体数)														検出菌・血清群等	検査方法						
		浴槽水	シャワー水	ふきとり	上がり湯	冷却塔水	給湯水	修景水	プール	貯水槽	その他	喀痰	咽頭拭い液	気管支洗浄液	血液		菌株	ろ過濃縮法	冷却過心濃縮法				
北海道	5											3/5 (培養検査陽性)						喀痰から 培養検査でLp SG1検出(3名分3検体) 遺伝子検査陽性・培養陰性(1名分1検体) (培養前のスクリーニングとしてCycleavePCR Legionella (16S rRNA) Detection Kit (タカラバイオ)を用いた遺伝子検査を全検体に実施)	○ (検水濃縮)	○ (検水量が少ない時、拭き取り、臨床検体)			
札幌市	9	0/6	1/1 シャワー・ カラン水						0/2									シャワー・カラン水から Lp SG 3		○			
函館市	1	0/1																	○				
青森県	0																		○				
秋田県	79	16/71				0/2												0/3	0/2	0/1	浴槽水から Lp SG1,5,6、L.londiniensis	○	
岩手県	60	11/48		5/6														0/6			浴槽水から Lp SG1,6,8,10、L.micdadei、Legionella spp. ホースふき取りから レジオネラ属菌(迅速法)	○	
宮城県	177	41/147				4/6												13/24			浴槽水から Lp SG1,3,4,5,6,8,9,10,12,15,UT 冷却塔水から Lp SG1,3,5 喀痰から Lp SG1,2	○	
仙台市	12	5/6				3/5		0/1 噴水													浴槽水から Lp SGg4/10、 Lp SG1,6,12,15、L.micdadei、Legionella sp. 冷却塔水から Lp SGg1、Legionella sp.	○	
山形県	15																	8/15			喀痰から レジオネラ属特異LAMP法陽性8件、 L.p特異的PCR陽性7件、培養陽性3件	なし	なし
福島県	100	7/100																			浴槽水から Lp SG 1,3,5,6	○	
新潟県	11						5/11														給湯水から Lp UT	○	
新潟市	99	7/53				3/5	3/20	2/12										4/9			浴槽水から Lp SG1,5,6、L.Dumoffii、Legionella sp. 冷却塔水から Lp SG6 給湯水他から Lp SG1,6 修景水・池水から Lp SG5、Legionella sp. 喀痰から Lp SG1,2,6	○ (浴槽水・冷却塔水・給湯水他)	○ (修景水・池水)
合計	568	87/432	1/1	5/6		10/18	8/31	2/13		0/2								28/62	0/2	0/1			

R5(2023)年度の関東甲信静支部活動状況

関東甲信静支部所属機関数:27

- 外部精度管理事業に18機関が参加
- 22機関にレジオネラ血清等試薬を配布
- 5機関にレジオネラ血清型別PCRプライマーセットを配布

質問事項への回答(北海道)(神奈川衛研の場合)

- ① MLVAやSBTの型が(当該事例以外の)過去の事例株と一致するようなことはありますか。
- ② ①のように過去の事例株とMLVA、SBTの型が一致した場合、どのように試験成績書で報告していますか。

MLVAは実施していないが、研究レベルの検討においてSBTが過去の事例において検出されたものと一致することはある。

このため、当所の行政検査においては、疫学的関連性のある場合のみSBTによる株間比較を実施している。加えて、分子疫学はあくまで、実施疫学の補助と考えている。

令和 6 年度レファレンスセンター報告 東海北陸支部

富山県衛生研究所

人口10万人あたり報告数(2023年)

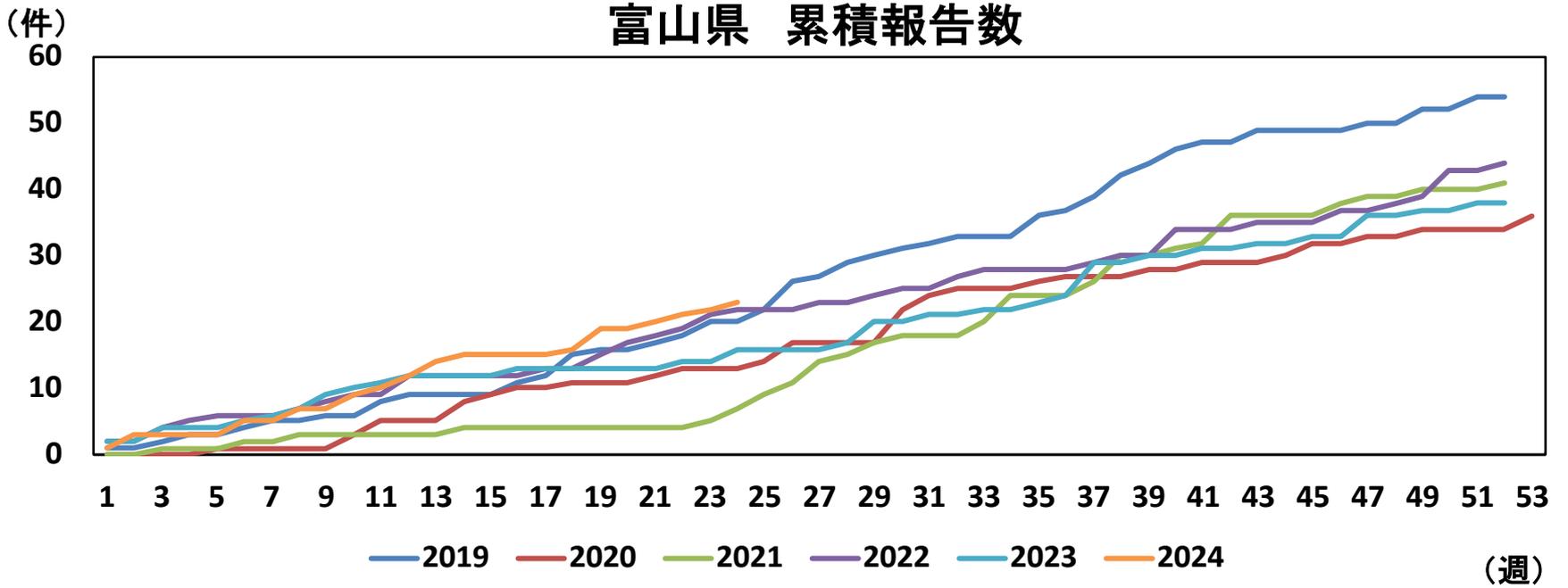
県	報告数	順位
富山	3.77	1
石川	2.91	7
福井	2.87	9
岐阜	3.23	4
愛知	1.92	20
三重	1.58	33

全国平均 1.81

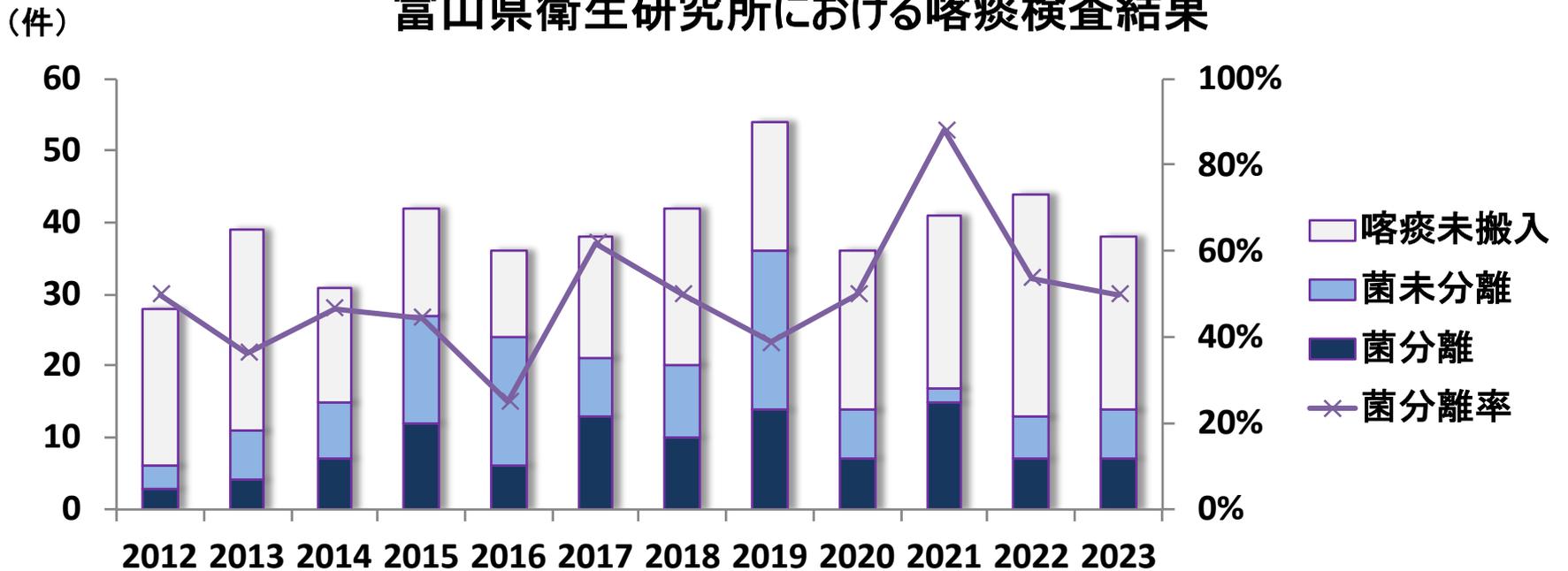
人口10万人あたり報告数(過去5年間)

年	1位	2位	3位	全国平均
2019	富山	群馬	長野	1.81
	4.97	3.78	3.03	
2020	岡山	富山	栃木	1.61
	4.12	3.32	3.14	
2021	石川	富山	山形	1.66
	3.88	3.78	3.42	
2022	富山	石川	茨城	1.70
	4.25	4.15	3.24	
2023	富山	群馬	栃木	1.81
	3.77	3.30	3.26	

富山県 累積報告数



富山県衛生研究所における喀痰検査結果



感染研への菌株送付(富山県)

2023年 10株

No.	Strain	SG	Year	Month	flaA	pile	asd	mip	mompS	proA	neuA	ST	Group
1	LG3156	SG1	2022	Dec	3	13	1	14	29	9	11	3175	U
2	LG3158	SG1	2023	Feb	3	13	1	10	14	9	11	127	U
3	LG3159	SG1	2023	Jul	27	3	9	15	56	5	6	679	S1
4	LG3163	SG1	2023	Jul	27	3	9	15	5	5	6	2128	S1
5	LG3167	SG1	2023	Sep	6	10	19	3	19	4	6	502	B1
6	LG3168	SG1	2023	Sep	7	6	17	3	11	11	9	505	B2
7	LG3171	SG1	2023	Sep	7	6	17	3	11	11	9	505	B2
8	LG3173	SG1	2023	Sep	4	17	11	23	5	12	19	143	
9	LG3183	SG3	2023	Nov	3	10	1	28	14	9	11	196	
10	LG3184	SG1	2024	Jan	6	10	15	28	17	14	6	2350	B1

レジオネラ・レファレンスセンター会議

近畿ブロックからの報告

神戸市健康科学研究所 感染症部

近畿ブロックの活動報告

1、レジオネラ属菌外部精度管理について

- ・令和6年2月に希望する7地研（尼崎市、京都市、姫路市、滋賀県、奈良県、大安健、京都府）が参加した。
- ・神戸市では、島津ダイアグノスティクス（旧 日水製薬）が実施する外部精度管理への継続的な参加のために、外部精度管理参加費を管理事務事業として計上できるようにした。

日常の検査法の中の最もシンプルな方法で行われ、回収率を評価対象としている唯一の外部精度管理

2、レジオネラ免疫血清・血清型別Mutiplex-PCR用プライマーキットの11地研に配布

免疫血清：6地研

Mutiplex-PCRキット：5地研

3、当所のMLVAプロトコルの提供：3地研

4、検査状況（神戸市） 2023年

届出数	26
喀痰等臨床検体または菌株の検査数	13
臨床検体からの分離数、()は菌株数	3 (2)
関連調査としての検査等	0

5、感染研への菌株送付（神戸市）

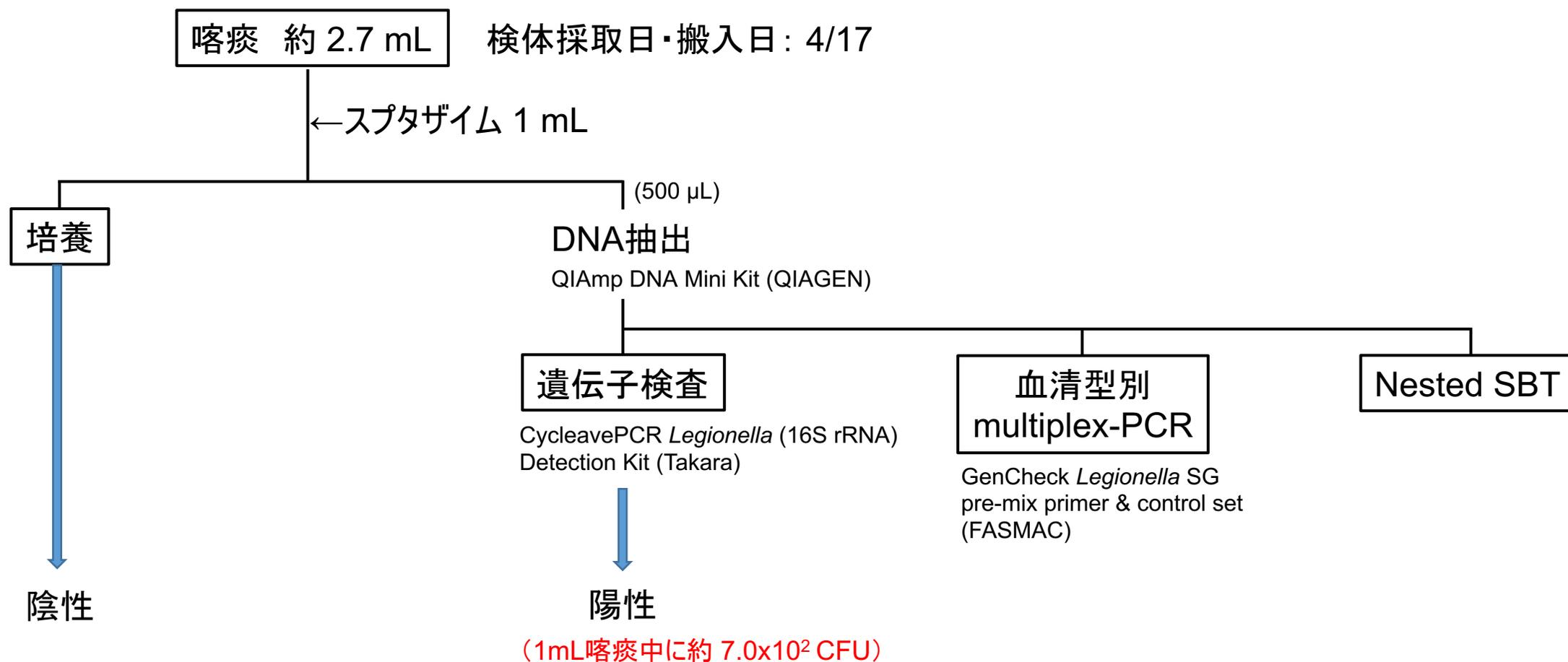
2023年 5株

- ・ *L. pneumophila* 血清群1 4株
- ・ *L. pneumophila* 血清群6 1株

菌株No.	性別	年齢	菌種	血清型	遺伝子型
KL2490	65	女	<i>L. pneumophila</i>	SG6	ST1992
KL2530	73	男	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST733
KL2532	79	男	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST20
KL2563	57	男	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST3235
KL2589	51	男	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST42

【事例紹介】

培養陰性喀痰DNAを用いた *L. pneumophila*の血清型別multiplex-PCRおよびNested- SBTの検討



血清型別multiplex-PCR

[反応液組成表]

1段階目 M-PCR

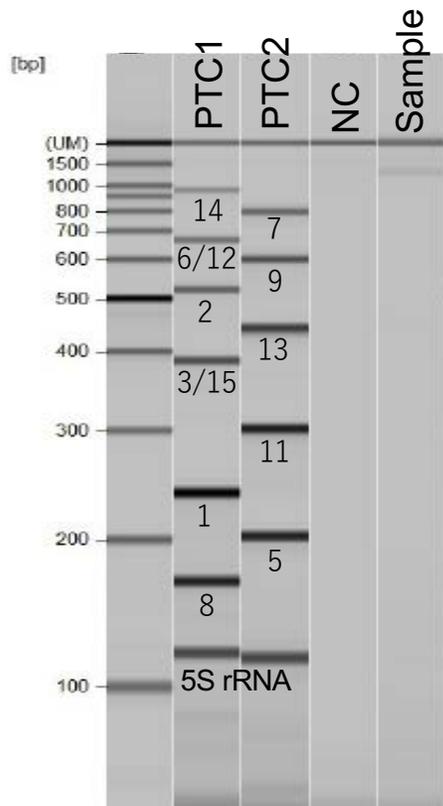
2x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix	10 μL
Primer set1	4.8 μL
鋳型 DNA または PTC または RNase-Free Water	1.0 μL
RNase-Free Water	4.2 μL
Total	20 μL

2段階目 M-PCR

2x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix	10 μL
Primer set2	0.8 μL
鋳型 DNA または PTC または RNase-Free Water	1.0 μL
RNase-Free Water	8.2 μL
Total	20 μL

[PCR 反応条件]

温度	時間	サイクル数
95°C	15 min	1 cycle
94°C	30 sec	28 cycles
60°C	90 sec	
72°C	30 sec	
72°C	10 min	1 cycle
4°C	∞	



5S rRNAのバンドを確認できず。

Reaction solution	1st set mixture ¹⁾	2nd set mixture ²⁾
2 × Multiplex PCR Master Mix ³⁾	10 μL	10 μL
<u>Q-solution³⁾</u>	4 μL	4 μL
Primers	22 primers of 0.2 μM each	4 primers of 0.2 μM each
DW	Up to 18 μL	Up to 18 μL
Extracted DNA ⁴⁾	2 μL	2 μL
Total	20 μL ⁵⁾	20 μL ⁵⁾

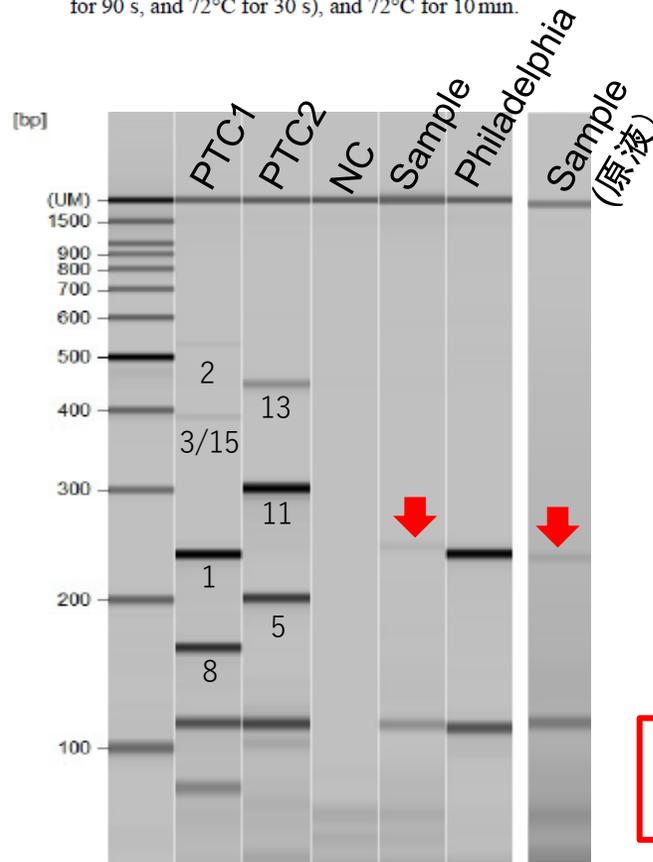
1): Multiplex PCR to distinguish *L. pneumophila* serogroups 1, 2, 3/15, 5, 6/12, 7, 8, 9, 11, and 13 (4).

2): Multiplex PCR to detect *L. pneumophila* serogroups 4/10/14 and other serogroups (4).

3): Included in the QIAGEN Multiplex PCR Plus kit (Qiagen).

4): The QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) was used to extract DNA from the sputum specimen.

5): Mixtures subjected to 95°C for 15 min, followed by 35 amplification cycles (94°C for 30 s, 60°C for 90 s, and 72°C for 30 s), and 72°C for 10 min.

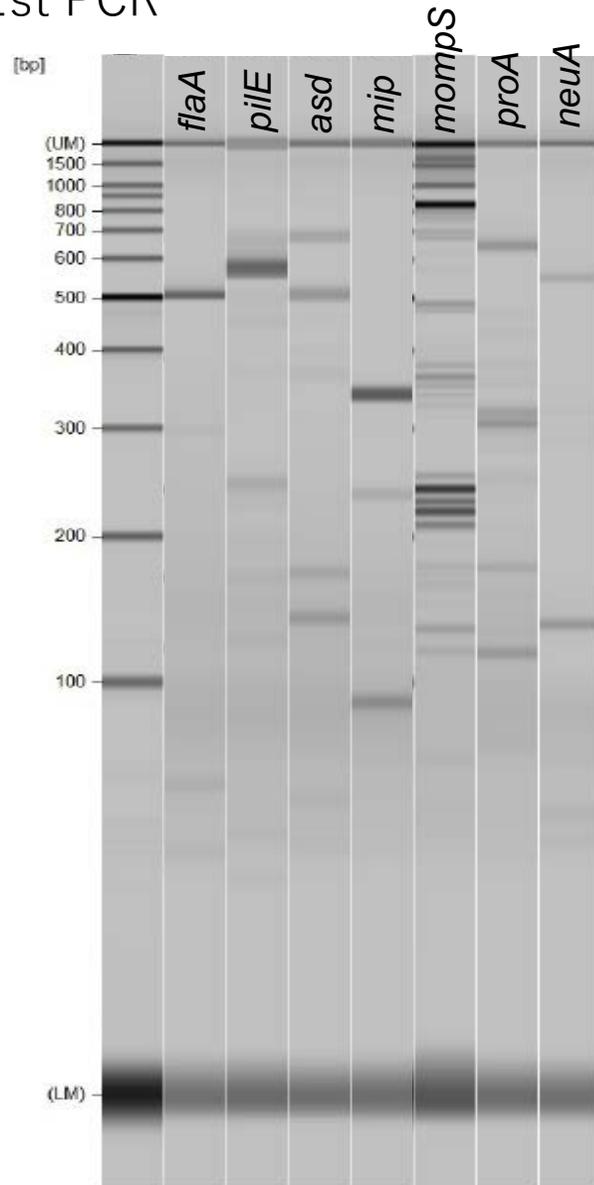


5S rRNA, SG1のバンドを確認できた。

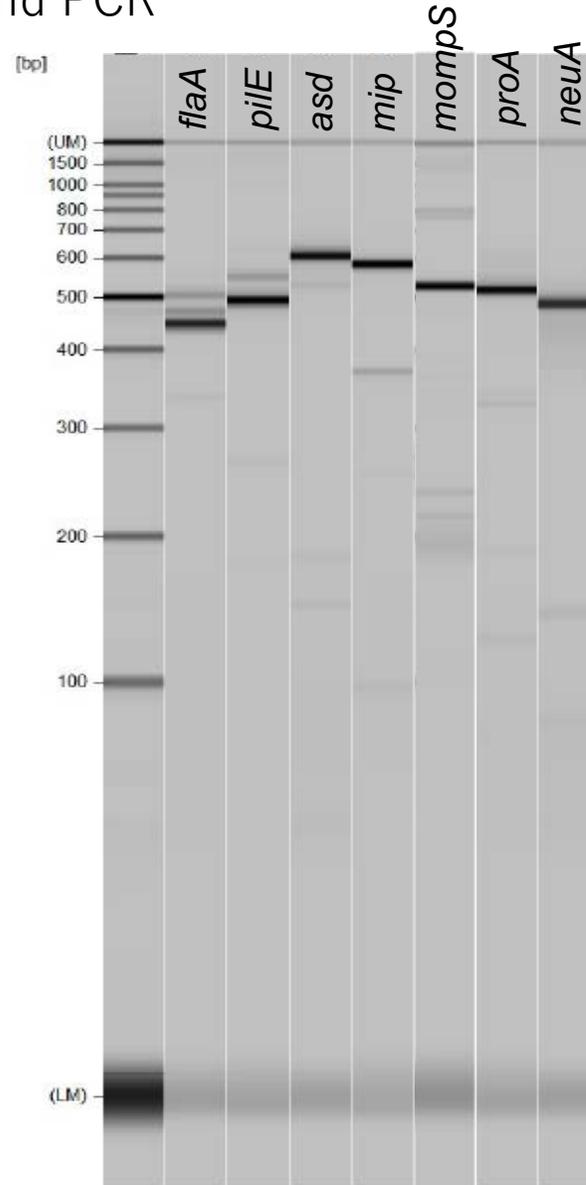
Seto J, et al. *J Infect Dis.*
2024 Mar 21;77(2):118-120.

Nested-SBT

1st PCR



2nd PCR



	Allele number	ST
<i>flaA</i>	3	609
<i>pilE</i>	13	
<i>asd</i>	1	
<i>mip</i>	1	
<i>mompS</i>	14	
<i>proA</i>	9	
<i>neuA</i>	1	

Uグループ

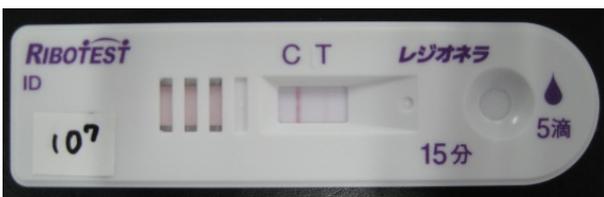
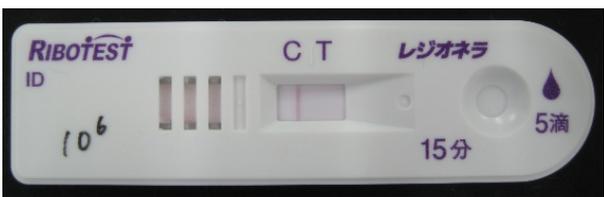
【事例紹介】

患者喀痰および土壌から分離された *L. longbeachae* の Ribotest Legionella に対する反応性の評価

背景: イムノクロマト(リボテスト®レジオネラ)陽性でレジオネラ症と診断
患者喀痰の培養により、*L. longbeachae* が分離された

リボテスト®レジオネラの添付文章によると、*L. longbeachae* に対して抗原濃度 4.0×10^3 CFU/test では公差反応性を示さない。

↓
分離株のリボテスト®レジオネラに対する反応性を評価した。

菌濃度 (CFU/test)	1.0×10^8	1.0×10^7	1.0×10^6
	 <p>陽性</p>	 <p>陽性</p>	 <p>陰性</p>

抗原濃度 10^3 CFU/test 以上で陽性になる *L. pneumophila* と比較すると、*L. longbeachae* の検出感度は著しく劣るが、リボテスト®レジオネラでの診断も可能となることが示唆された。

神戸市健康科学研究所におけるSBTとMLVAの実施状況

		SBT	MLVA
行政検査	実施	◎	× 株のスクリーニングのために実施 SBTの補助的ツール
	料金	○	×
調査研究	実施	○	◎

SBT: 感染源特定や集団感染事例対応時の菌株の遺伝子型別法
gold standard
MLVA: 菌株の絞り込み、SBTの補助的ツール

- 北海道
- ① MLVAやSBTの型が(当該事例以外の)過去の事例株と一致するようなことはありますか。
→ STが過去の事例株と一致することはある。
 - ② ①のように過去の事例株とMLVA、SBTの型が一致した場合、どのように試験成績書で報告していますか。
→ 関連性が認められる場合は(口頭で)報告する。
疫学的関連性が認められない場合、特に報告はしていない。
- 大安研
- ③ 昨年度、患者と同じ血清型(特に*L. pneumophila* SG1)の菌株が施設検体から多数分離され、分子疫学解析(PFGEやSBT)を急ぐ必要に迫られたことがありました。こうした場合、解析に用いる代表株のスクリーニングに適した方法はありますか。
→ (補助的に)MLVAを実施する。

近畿ブロック内の回答：13施設中9施設回答

□ 北海道の質問回答

MLVAやSBTを導入しているか。

- ・ 導入していない施設：7施設
- ・ SBT導入施設：2施設
- ・ MLVA導入施設：1施設



■ MLVAやSBTの型が（当該事例以外の）過去の事例株と一致する例は？

ある：1施設

照合する機会がない：1施設

■ 成績書での報告は？

- ・ 関連性が認められる場合は（口頭で）報告する。疫学的関連性が認められない場合、特に報告はしていない。

□ 大安研の質問回答

- ・ スクリーニングにMLVAを使用している。
- ・ 7施設は対応事例なしとの回答

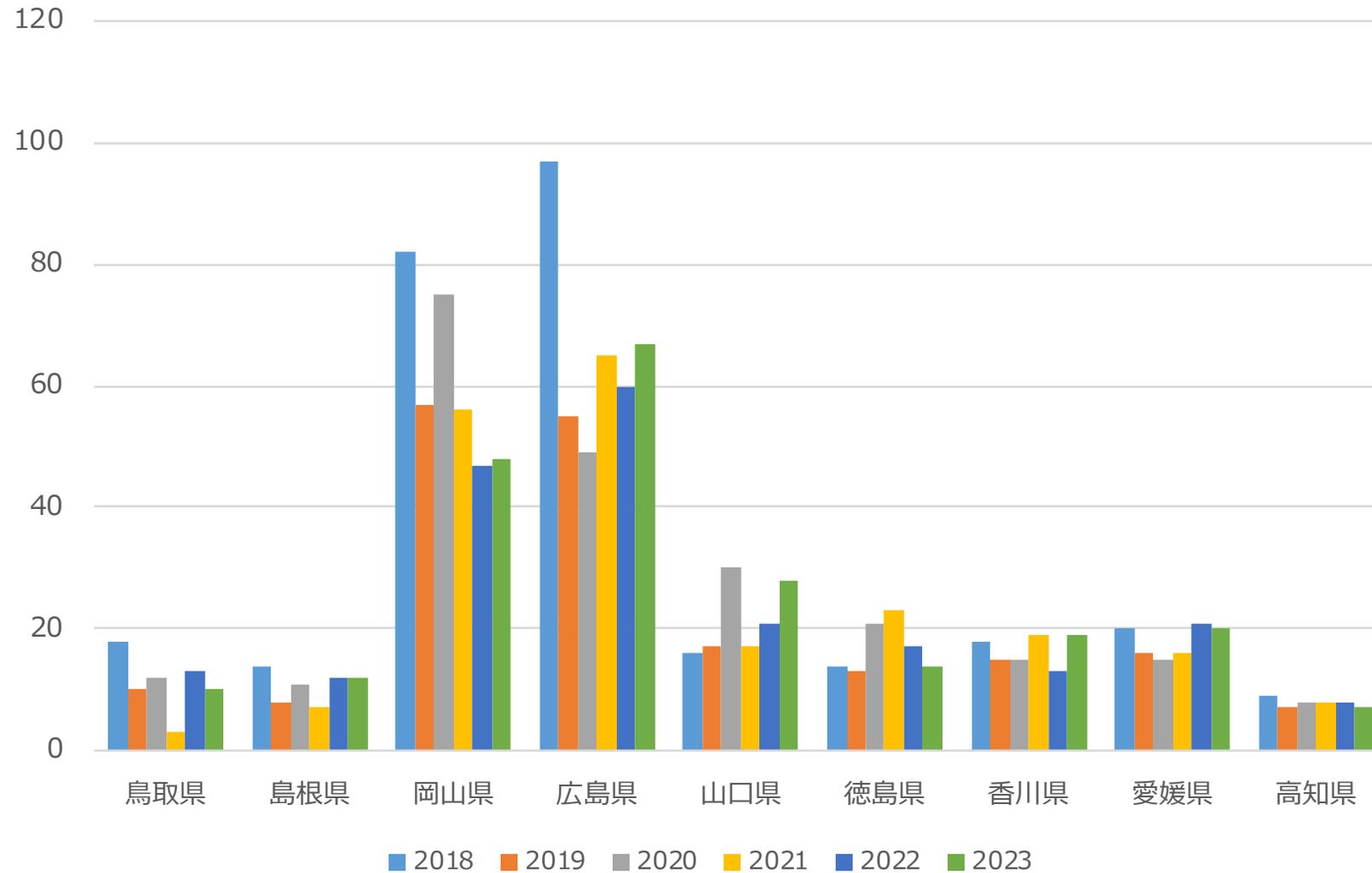
中四国支部報告

広島県立総合技術研究所保健環境センター

令和5年度レファレンスセンター活動内容

- 「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」
班会議への参加 (Web参加)
- 中四国支部の外部精度管理参加募集
- レジオネラ免疫血清の配布

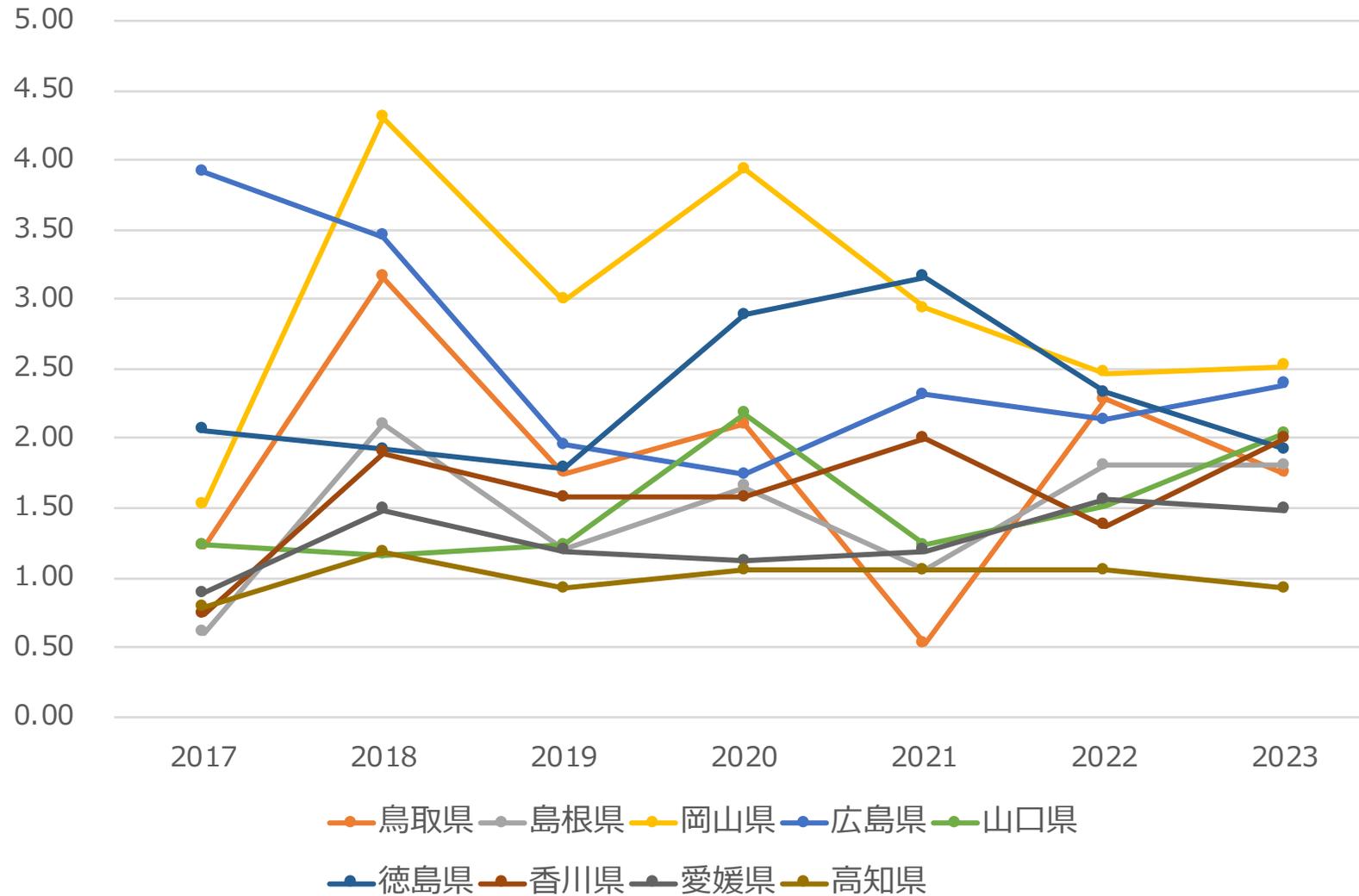
中四国地方のレジオネラ症届出数 (実数)



2023年報告数(52週時点)

	報告数	全国順位
鳥取県	10	44
島根県	12	43
岡山県	48	18
広島県	67	11
山口県	28	28
徳島県	14	39
香川県	19	34
愛媛県	20	33
高知県	7	47

中四国地方のレジオネラ症届出数 (10万人対)



	報告数	全国順位
鳥取県	1.80	25
島根県	1.78	26
岡山県	2.54	11
広島県	2.39	14
山口県	2.06	16
徳島県	1.92	18
香川県	1.99	17
愛媛県	1.49	37
高知県	1.00	44
全国平均	1.80	

事前議題：北ブロックからのご質問

Q1: MLVAやSBTの型が過去の事例株と一致したことはあるか？

Q2: 一致した場合の報告の方法は？



A1: 公衆浴場から分離された株において、SBTの型が他県の分離株と一致した例がありました。

A2: PFGEの結果を報告し、SBTの結果は報告しませんでした。
※ 報告後にSBTを実施したため

事前議題：近畿ブロックからのご質問

Q: 集団事案の際に緊急で分子疫学解析を実施する必要がある場合、解析する代表株のスクリーニングに適した方法がありますか。

A: 事前にスクリーニングを実施した経験はありません。

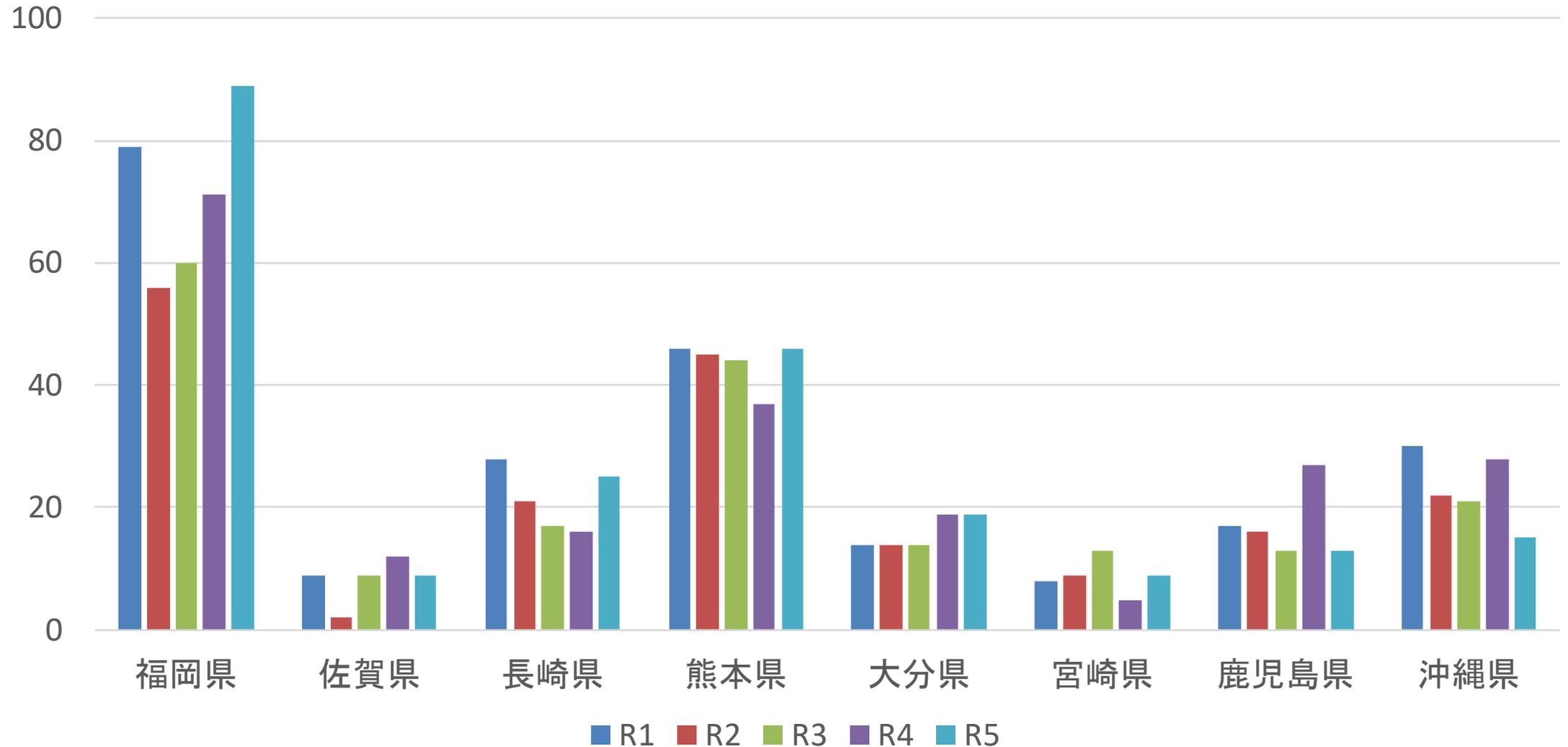
- ・ 浴槽水中には多様な型のレジオネラがいる
- ・ 1名でも浴槽水分離株と一致すれば感染源となる

⇒ 浴槽水分離株を多めに解析する必要があるのでは

令和6年度レジオネラレファレンスセンター報告 九州支部

宮崎県衛生環境研究所

九州ブロックにおけるレジオネラ患者発生状況



令和5年度 活動状況

- 「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」班会議への参加
- レジオネラ属菌外部精度管理（FAPAS）調査への参加協力依頼
 - ・・・九州ブロックは8地衛研の参加

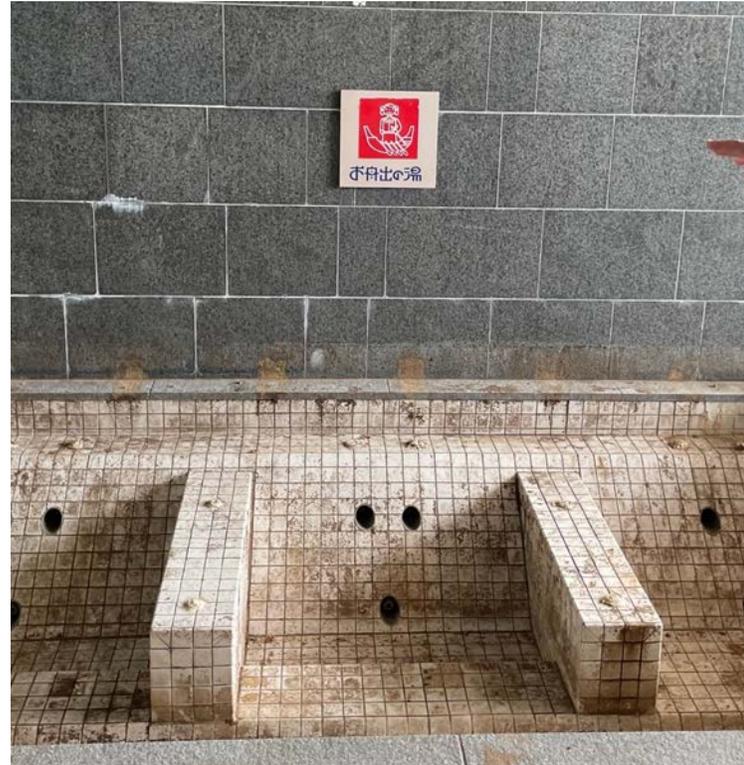
令和5年度 活動状況

- 免疫血清・血清型別Multiplex-PCR用プライマーキットの配布
…九州ブロックは11地衛研へ配布
(免疫血清 9 施設、PCRプライマーキット 2 施設)

試薬名	希望施設数	試薬名	希望施設数
ニューモフィラ混合血清3本セット	3	アニサ	1
ボゼマニイ2群	3	セントヘレンシ1群	3
ロングビーチ1群	4	セントヘレンシ2群	3
ロングビーチ2群	4	ジョルダニス	2
フィーレイ1群	1	ニューモフィラ混合2~15群	1
フィーレイ2群	1	Multiplex-PCR Primer+Contorol Set	2

令和5年度 活動状況

- 環境衛生監視員等研修への参加
 - …日向サンパークへの見学



質問事項について（北海道）

- 九州ブロック12施設中11施設の回答あり

MLVA・SBTの導入状況	回答施設数
導入無し (MLVA導入予定)	8 (3)
①MLVAのみ導入 (SBTは感染研実施)	1
②SBTのみ導入	2

- ①MLVAでは一致する例はないが、SBTについては一致するものがある。
成績書での報告はしておらず、コメントにて「〇〇の型と一緒にです。」を添える程度。
- ②一致例は現時点ではない。SBTを行ったのは過去に1事例のみ。
SBTが一致したことはない。

質問事項について（大安研）

- 九州ブロック12施設中8施設の回答あり
- 菌の発育の仕方や色味で（検査材料や使用培地の情報を加味して）株を選ぶ。
また、*L. pneumophila* SG1の場合、*lag-1*遺伝子の有無で振り分ける。
- 同一血清群のコロニーを複数検査する。
- 代表株のスクリーニング法に適した方法は把握していないが、仮に同様な事例があれば、SBTの1～2領域をシーケンスして、代表株を選別することになるのではないかと考えている。

レジオネラ属菌培養検査 外部精度管理について

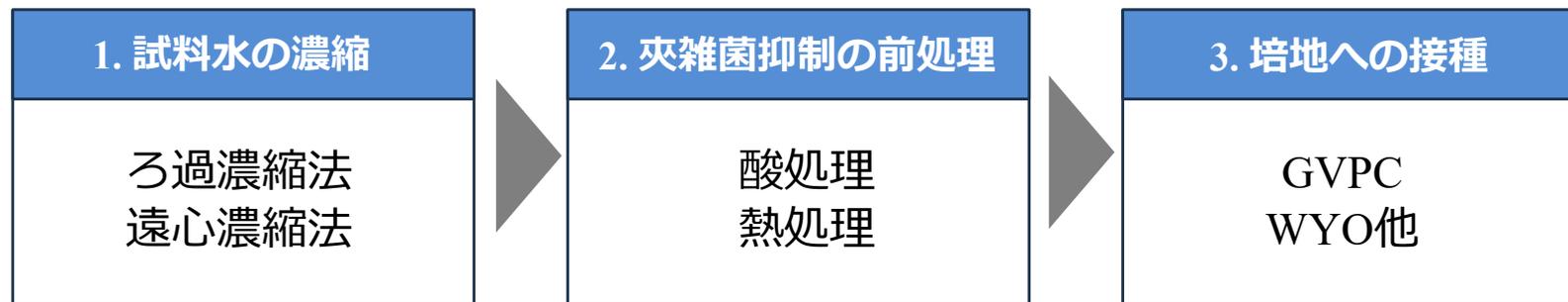


地方独立行政法人
大阪健康安全基盤研究所
衛生化学部 生活環境課
枝川 亜希子

はじめに

レジオネラ属菌培養検査結果は、行政指導の根拠や衛生管理の指標となるため、高い精度が求められる

培養法は大きく分けて3工程で実施する定量試験



試料の水質などを考慮して適した検査方法を選択できる利点がある一方で、一連の操作が検査精度に反映されるため、各検査機関の結果にばらつきが生じる要因となっている

多くの検査機関は外部精度管理に参加し、検査技術の評価を受けている

日本国内で参加可能な外部精度管理

- UKHSA（英国健康安全保障庁）のEQA

民間検査機関を中心に25年以上の参加実績あり 2024年度地衛研参加予定
配付試料は環境水試料に非常に近い実践的な内容

- Fera（英国食料環境研究庁）のFAPAS

2023年度研究班の支援により地衛研54機関が参加、96%の機関が良好範囲内

外部精度管理の実際の手順

外部で用意された模擬試料を各施設の標準作業手順書に従って検査し、
自他施設の結果を比較する

国内実施中のレジオネラ属菌検査精度管理サーベイは、独自の検査法が指定されており、日常的に行っている検査法は使用できない。このサーベイは手技の精度確認に主眼を置いた内容となっている

UKHSAのEQA (レジオネラ研究班での検討)

2023年度に研究班から参加 事務手続きに課題あり

- 英語での書類作成や手続きは、事務的負担大
- 行政機関の多くは海外送金不可のため参加できない状況

研究班からUKHSAへ確認

- ・ 日本代理店の設定は可能か？ ○
- ・ 日本からの参加数増は受け入れ可能か？ ○

研究班から課題の解消を関係者に要請

2024年4月より国内代理店を通じた参加手続き開始

国内代理店：アイデックスラボトリーズ（株）

表 日本国内から参加可能な外部精度管理の概要

名称	EQA (The external quality assessment) legionella isolation scheme	FAPAS (Legionella spp. in Environmental Water Proficiency Test)	(参考) ¹⁾ レジオネラ属菌検査 精度管理サーベイ
レジオネラ外部精度管理の 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 株式会社
自施設の検査方法で参加	○	○	× ¹⁾
国	英国	英国	日本
日本からの参加実績	あり 1998年～	あり 2022年～	2016年～
参加者数	約150 (年間4回、1回あたり)	約20 (年間4回、1回あたり)	約100 (年間1回)
R6年度 参加費 (1回あたり)	55,000円(税抜) 年間4回参加の場合は、50,000円(税抜)/回あたり	56,000円(税抜)	未定 (R5年度37,000円税抜)
1回あたりの配付試料数	2	2	1
Zスコア良好範囲外の場合の 再試験・価格	あり 7,000円 (税抜) + 送料	なし	なし
国内代理店の有無	あり (アイデックスラボラトリーズ株式会社)	あり (株式会社セントラル科学貿易)	
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
配付試料中の レジオネラ以外の細菌の混合	あり	なし	なし
配付試料中に含まれる レジオネラの菌種数	1～2種	1～2種	<i>Legionella pneumophila</i> のみ
レジオネラが含まれないブランク 試料が配付される可能性	あり	あり	なし
配付試料の形状	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	日常的に行っている自施設の方法	日常的に行っている自施設の方法 非選択培地を用いる (選択培地で参加も可)	指定法 前処理(酸・熱)なし 非選択培地を15枚用いる
検査結果の報告	菌数および菌種(血清群) 菌数のみの報告も可	菌数および菌種(血清群) 菌数のみの報告も可	菌数
解析方法	Zスコア	Zスコア	Zスコア
Zスコア解析に用いる 標準偏差の値	0.55	0.55	0.25

詳細は以下を参照

- IASR7月号
- 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究(令和5年度報告書)

¹⁾ 独自の検査法が指定されており、日常的に行っている検査法は使用できない。培養検査の工程の一部、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容となっている。

レファレンスセンター募集の外部精度管理について

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（レジオネラ研究班）」の一環で実施

- 研究班では、外部精度管理の課題の抽出および解消を進めている
- 地衛研の支援も兼ねている（各地衛研での検査技術維持向上に活用）

応募型の研究費が原資のため、今後の継続は保証されていない
(しばらくは継続したいが、、、)

各地衛研においては、外部精度管理の予算確保も検討ください
外部精度管理参加費は、試料購入という形で物品費で支払い可能

2023年度外部精度管理

FAPAS (LG0124 : 2023年2月)

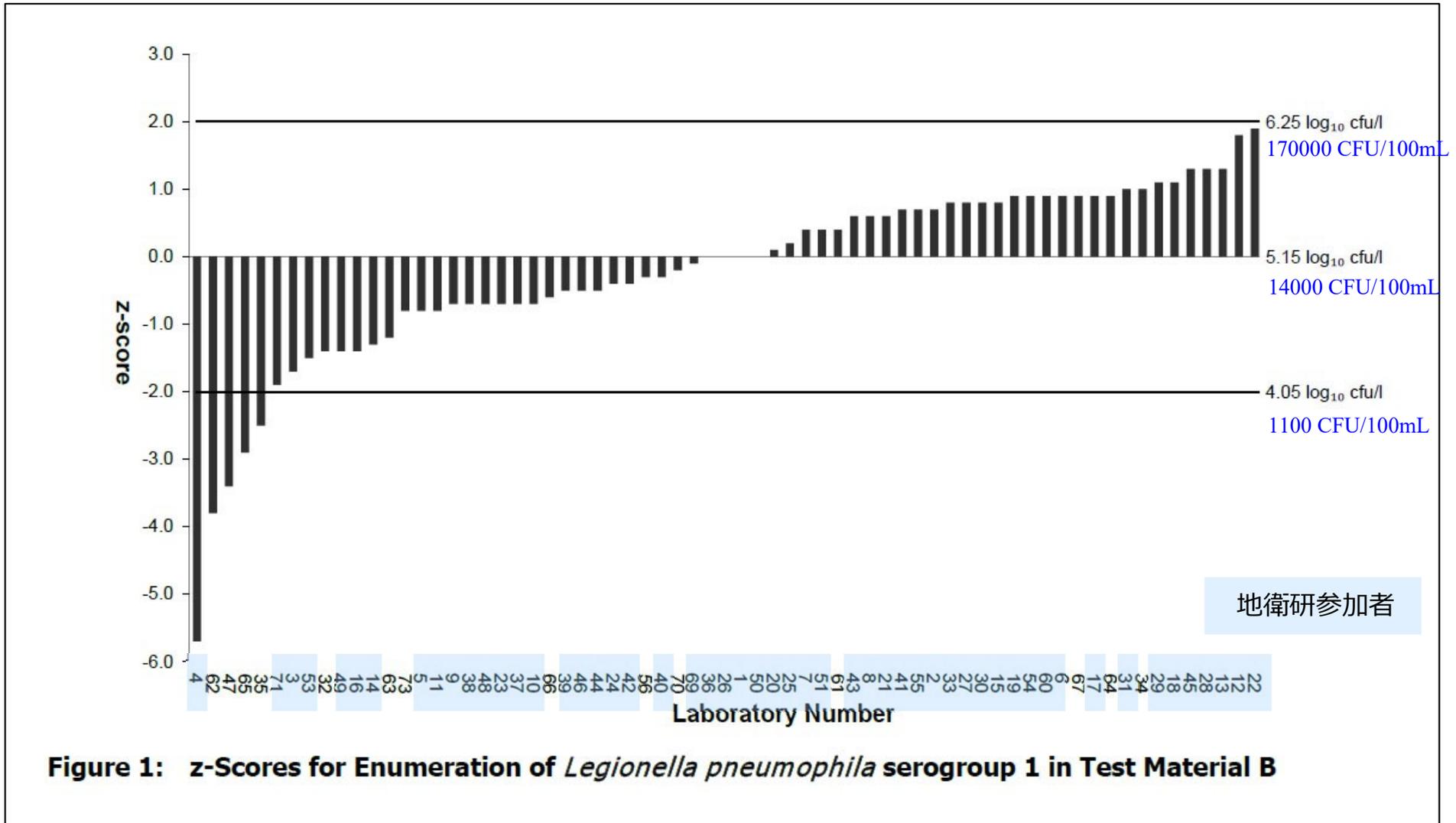
- 地衛研54機関が参加
- 配付は2 試料
 - Test Material A : Blank
 - Test Material B: : *L. pneumophila* SG1



Test Material B の結果

	参加者全体			地衛研参加分		
	正解数	/ 回答数	(%)	正解数	/ 回答数	(%)
<i>Legionella</i> spp. 検出	69	/ 71	(97)	54	/ 54	(100)
<i>L. pneumophila</i>	64	/ 64	(100)	54	/ 54	(100)
Serogroup 1	65	/ 65	(100)	54	/ 54	(100)
Zスコア ≤ 2	62	/ 67	(93)	52	/ 53	(98)

Zスコア FAPAS (LG0124)



2024年度の外部精度管理 募集概要

- 英国UKHSA G136（発送日：9月30日、回答期限：11月8日）
- リファレンスセンター通じて募集 54機関
- 参加費無料（研究班負担、検査器材は各機関対応）
- 参加要件
 - ①レジオネラ培養検査で通常実施される検査通常実施される検査（酸または熱処理・選択培地）に加えて、**（無処理・非選択培地）**を併せて実施すること。
 - ②検査結果について、研究班への提供をご了承いただけること。
- 参加者にはオンライン説明会を実施（日本語9月11日10時～、録画配信あり）

募集の際の参加要件を御一読頂き、
参加協力頂きますようお願い申し上げます

この会議後に支部担当者へ案内を送付予定（募集期間～7/12）

UKHSAのEQAで使用する滅菌希釈液

サンプルの調整は、LENTICULE ディスクを 1 リットルの 滅菌希釈液に溶解する [1:40 Ringers' solution¹](#) 又は [Page's saline²](#) のいずれかを使用

*1 Ringers' solution の組成をご紹介します。

塩化ナトリウム NaCl	9.0g
塩化カリウム KCl	0.42g
塩化カルシウム CaCl ₂	0.24 g
炭酸水素ナトリウム NaHCO ₃	0.2 g
DW	1000mL

この組成で作製後、40 倍希釈して滅菌したものを「滅菌希釈水」とします。

*2 Page's saline の組成をご紹介しますので下記容量に沿ってご準備ください。

塩化ナトリウム NaCl	12 g
硫酸マグネシウム七水和物 MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.4 g
塩化カルシウム二水和物 CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.4 g
りん酸水素二ナトリウム Na ₂ HPO ₄	14.2 g
りん酸二水素カリウム KH ₂ PO ₄	13.6 g
DW	1000mL

この組成で作製後、100 倍希釈して滅菌したものを「滅菌希釈水」とします。

参考：内部精度管理の手引き

レジオネラ研究班 about monochloramine_main monochloramine2_main test_main investigation InternalQC 🔍

入浴施設の水環境におけるレジオネラ属菌検査の内部精度管理のための手引き

(このページ内にある別添資料(リンク先のpdfファイル)は、クリック表示後に右上メニューアイコンからダウンロードをクリックすると、お手元にダウンロードすることができます。高解像度で印刷しお手元で使いやすいよう、pdf形式で掲載しています)

(パソコンでは、幅を調整して紙のように狭めたり、文字を少し大きくする(Ctrl+Shift++)と、読みやすいかもしれません。レイアウトが、パソコン、スマートフォン、タブレットに最適になるよう、自動調整されます(新しいGoogleサイトの特長))

目次

- [1. 目的](#)
- [2. 概要](#)
- [3. 内部精度管理手順](#)
- [4. 評価方法](#)
- [5. 別添フローチャート](#)
- [6. 補足スライド資料](#)