

検査センターのお仕事 密着シリーズ⑳

～レジオネラ属菌編～

毎回、当センターの業務内容を分かりやすく紹介している「密着シリーズ」。第20回はレジオネラ属菌の検査について紹介します。

1. サンプルング

当検査センターでは浴槽水が主な検体となります。ご依頼のあった公衆浴場や旅館などに出向き、浴槽水等の採水を行います。採水時には相互汚染に配慮し、必ず手袋を着用後、消毒した柄杓を用いて滅菌済みの1L容器に採水します。残留塩素の有無や水温などを確認した後、換水の頻度や消毒設備の有無などをヒアリングし、検査センターへ持ち帰ります。持ち帰った検体は25%チオ硫酸ナトリウム溶液を用いて塩素を中和後、速やかに検査を開始します。

2. 検査の流れ

ろ過濃縮



写真①



写真②



写真③

滅菌された孔径0.2 μ mのメンブランフィルターをろ過装置にセットし、試料500mLを吸引ろ過します（写真①）。ろ過後、滅菌精製水5mL入りの滅菌容器にメンブランフィルターを浸漬します（写真②）。次に、ポルテックスミキサーを用いて、メンブランフィルター入りの容器ごと1分間激しく振とうします（写真③）。ポルテックスミキサーによる操作を行うことで、ろ過後のメンブランフィルターから菌を滅菌精製水へ再浮遊させることができ、100倍濃縮検水を得ることができます。

前処理

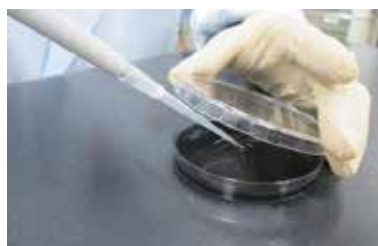


写真④



写真⑤

50°Cに設定した恒温水槽で20分間静置します（写真④⑤）。得られた濃縮検水には、レジオネラ属菌以外の様々な夾雑菌が存在しますが、50°C、20分間の加熱処理を行うことで、夾雑菌の発育を抑制することができます。自然冷却後、再度ポルテックスミキサーを用いて再浮遊を行います。

接種～培養

写真⑥



写真⑦

マイクロピペットを用いて、前処理後の濃縮検水0.1mLを選択分離培地に接種します（写真⑥）。試料接種後は、滅菌コンラージ棒で培地に均等に広げ（写真⑦）、試料が吸収されるまで静置します。その後、ふらん器を用いて36℃±1℃で7日間培養します。

斜光法による観察

培養開始3日後に斜光法によりコロニーの観察を行います。特徴のあるモザイク様の構造が確認されたものについては、レジオネラ属菌推定陽性とし、ただちに確認試験（菌の鑑別・同定）を行います。従来、7日間培養後から確認試験を行っていましたが、斜光法を取り入れることで検査期間の短縮につながっています。

菌の鑑別・同定

レジオネラ属菌と推定される集落を釣菌し、血液寒天培地とL-システインを含有するBCYE α 寒天培地に画線し、36℃±1℃で24～48時間培養します。血液寒天培地には発育が認められず、BCYE α 寒天培地に発育したものをレジオネラ属菌と判定します。



血液寒天培地では発育しない

BCYE α 寒天培地に発育**3. 精度管理**

令和元年9月19日付け薬生衛発0919第1号「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」では、信頼性確保のために精度管理を実施することが求められています。当検査センターは、毎年、外部精度管理に参加し、信頼性の高い検査結果を出せるよう努めています。大分県内においてもレジオネラ症の報告が増える中、日本一のおんせん県おおいたの安心・安全を守るために引き続き努力していきたいと考えています。