

# 民間検査機関に向けた レジオネラ属菌培養検査法の研修

富山県衛生研究所  
大分県衛生環境研究センター  
北海道立衛生研究所  
国立感染症研究所

磯部順子・金谷潤一  
緒方喜久代  
森本 洋  
倉 文明

# 目的：浴用水のレジオネラ属菌検査の標準化

官民間わず、どの検査機関でも同様の結果となるために

- step1      研究班の中でプレ精度管理調査を実施  
              精度管理調査の問題点、検査法の問題点の洗い出し
  
- step2      全国の地方衛生研究所へのアンケート調査の実施  
              研究班推奨法の案を策定
  
- step3      推奨法の普及と研修制度の検討(プレ検査研修)  
              地方衛生研究所を対象とした精度管理調査の実施

# WG推奨法(培養法)

## —浴槽水中のレジオネラ属菌検査—

\* 採取された検体の菌数を予測できないので、**濃縮検体**と**非濃縮検体**を並行して検査する。

\* どの前処理が最も有効か分からないので、**未処理**、**熱処理**、**酸処理**を並行して検査する。

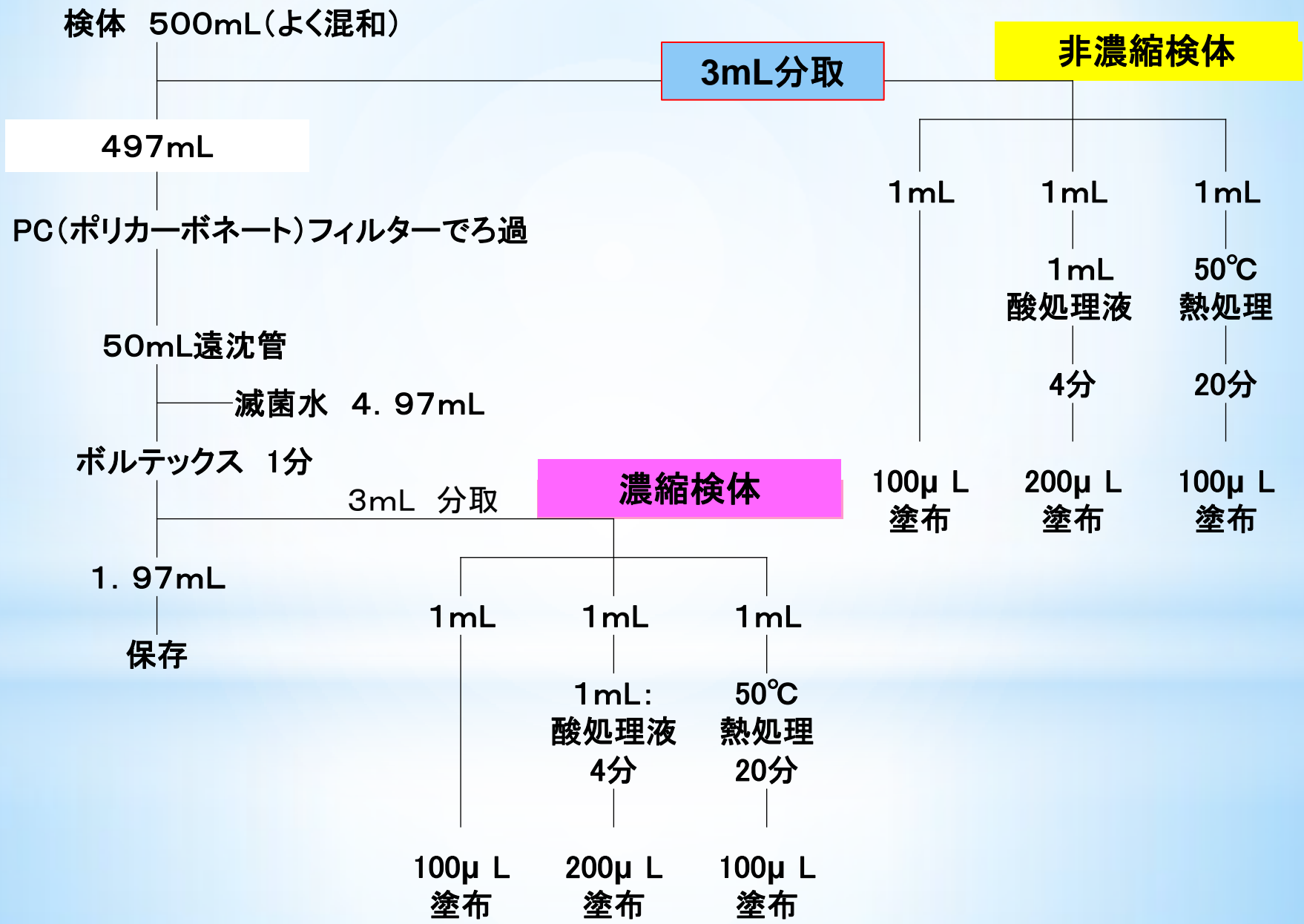
\* **斜光法**によりコロニー確認を行う。

### 濃縮方法

- ・ フィルター貼付法
- ・ 冷却遠心濃縮法
- ・ **フィルター濃縮法**

**検水500mLを直径47mm、孔径0.2(0.22) $\mu$  mのメンブランフィルター(ポリカーボネートタイプ)を用いて減圧吸引濾過し、滅菌精製水(100倍濃縮)に浸しボルテックスで1分間振盪する。**

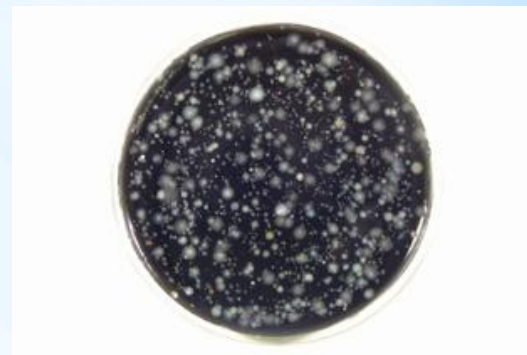
# 研究班推奨法: ファイルターろ過法



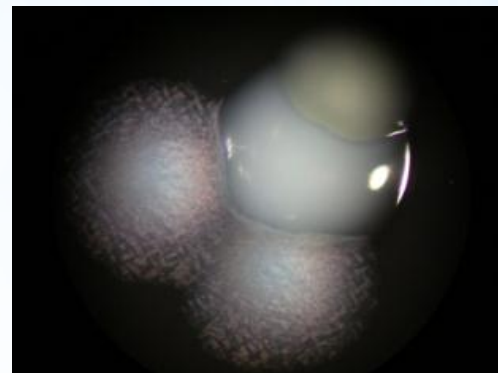
# 斜光法による菌の観察と同定



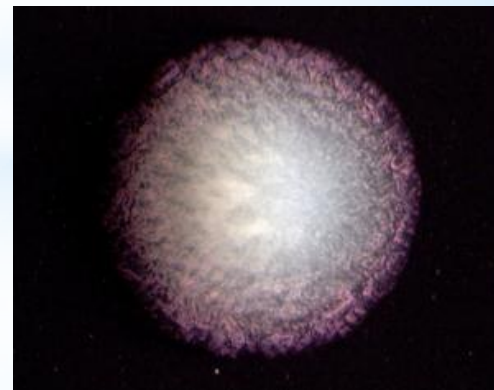
実体顕微鏡とコールドライト



濃縮した浴用水の培養平板



雑菌と接触しているレジオネラ



カットガラス様

		研修1 民間主体の検査研修会	研修2 公的機関主体の検査研修会
実施主体		(株)関東化学	富山県衛生研究所・厚生科研研究班
場所		久留米市	富山県射水市
施設		久留米大学病院実習室	富山県衛生研究所 講堂・細菌検査室
受講者		九州地区民間検査機関(11施設15名) 九州地区行政担当者(4施設7名)	富山県内民間水質検査機関(9機関13名) 富山県内行政担当者(6機関9名) 福井・石川行政担当者(3機関3名)
研修内容	講義	1. レジオネラ症総論	1. レジオネラ症総論
		2. 環境・臨床材料からのレジオネラ属菌の分離培養法について	2. 大分県における浴用水検査の実際
		3. 斜光法を用いたレジオネラ属菌培養法のコツと注意点	3. レジオネラ属菌検査法
			4. 遺伝子検査法
	実習	ろ過濃縮による培養法 斜光法によるレジオネラ属菌の観察と同定	

		研修1 民間主体の検査研修会	研修2 公的機関主体の検査研修会
実施主体		(株)関東化学	富山県衛生研究所・厚生科研研究班
場所		久留米市	富山県射水市
施設		久留米大学医学部実験室	富山県衛生研究所 講堂・細菌検査室
受講者		九州地 九州 15機関22名	富山県内民間水質検査機関(9機関13名) 富 福 18機関25名
研修内容	講義	レジオネラ症総論	レジオネラ症総論
		環境・臨床材料からのレジオネラ属菌の分離培養法について	大分県における浴用水検査の実際
		斜光法を用いたレジオネラ属菌培養法のコツと注意点	レジオネラ属菌検査法
	実習		遺伝子検査法
		ろ過濃縮による培養法	
		斜光法によるレジオネラ属菌の観察と同定	

# 開催までのスケジュール

開催案内発出	6月初旬	6月14日
事前アンケート	経験年数など・（富山；遺伝子検査の希望）	
14日前～	観察用培養菌の準備 （GVPC/WYO $\alpha$ /MWY/BCYE） （9菌種）（3日目・7日目培養平板）	
	顕微鏡の準備（借用の確認など）	
	実技用の白衣・マスク・グローブの準備	
	実験道具の準備	
	事前アンケート解析・グループ決め	
	事前配布資料作製・送付	
	講師との打ち合わせ・当日配布資料準備	
開催日時	8月23日（金）	9月27日（金）
研修後アンケート		



# 事前アンケートによる 参加者の検査環境調査

ドク

## 1. レジオネラ検査の経験について

①細菌検査の経験は何年くらいですか？

0年;2名      1~3年;3名  
4~7年;5名    10年以上;8名

②レジオネラ属菌を培養したことがありますか？

有;12名      無;6名

③浴用水からレジオネラ属菌を分離したことがありますか？

ア、ろ過濃縮

イ、遠心濃縮

ウ、その他（

遠心法9名    ろ過法5名    無4名

）

## 2. 斜光法について

ア、検査に取り入れている

イ、経験がある

ウ、名前は知っている

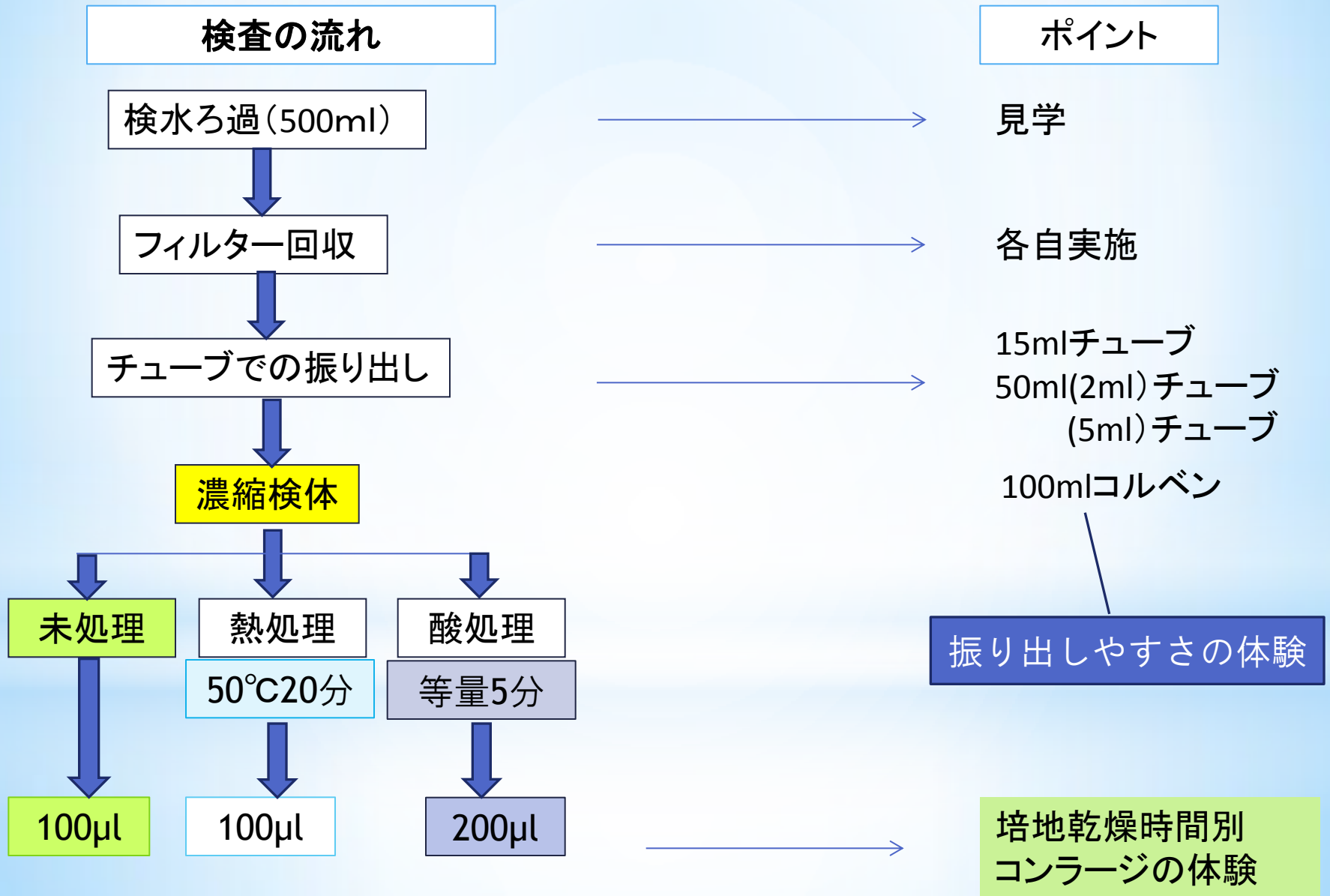
経験有;3名    名前を知っている;13名  
知らない;2名

3. 貴施設に安全キャビネットは設置されていますか？

有;11機関    無;7機関

4. 質問・要望等がございましたら、ご記入ください。

# ろ過法による培養法の実習内容



# 実習風景1(九州)



【コンラージ塗沫法】

意外と意見交換の場となっていた。

実体顕微鏡が1台しか用意できなかったため、待ち時間が長くなった。



【ろ過法】

暗室がないのでダンボールの中で蛍光観察をおこなった



## 研修後アンケート結果（一部抜粋）

Q1. 研修会の開催時期、スケジュールはいかがでしたか？

- ・よい。適当。午後からの開催という時間設定が良かった。
- ・もう少し、長く(少数)

Q2. 開催場所はいかがでしたか？

- ・地元で開催してほしい。

Q3. 講義および実技研修の内容はいかがでしたか？

- ・駆け足でしたが、内容は非常に良かったと思います。
- ・次回は別の社員を参加させたいと思います。
- ・培地によって同じ菌でも見え方が違ったり、処理によって菌が死んでしまうことがあるということがよく理解できました。
- ・実技は初心者でも丁寧でわかりやすかった。
- ・もっと、顕微鏡を見る時間が欲しかった。
- ・現行法を見直したいと感じた。早速、斜光法を取り入れたい。
- ・また、開催して欲しい。

\* 参加者研修後アンケート

所属

メールアドレス

お疲れ様でした。今後の参考のため、以下のアンケートにご協力お願いいたします。

## 1. 研修会の日程・スケジュールについて

①開催時期は適当でしたか？

適当ではないと思われる方は希望時期を記載ください

②開催場所と参加者の人数は適当でしたか？

③スケジュールは適当でしたか？

## 2. 講義および研修内容について

①講義内容はいかがでしたか？

他に聞きたい内容があれば、記載ください。

②ろ過濃縮の研修はいかがでしたか？

③斜光法の研修はいかがでしたか？

3. 遺伝子検査研修を受けられたかたのみ  
研修内容は適当でしたか？

4. その他質問・要望等がございましたら、ご記入ください。



# 実習風景(富山)



富山衛研佐多所長挨拶

## 遺伝子検査・ レジオネラ症等の講義



### アンケート結果

興味深かった1

参考になった6

良かった5

かけあしすぎる1

希望があるか？

公定法が出るまでのスケジュール

十分である

資料はカラーで



栄研化学

タカラバイオ

# 実習風景2(富山)

## ろ過濃縮法実習



有意義・参考になった4  
良かった9  
わかりやすかった4  
時間が短い2  
器具がたりない1  
培地の乾燥具合とコンラージについてよい経験ができた  
最後まで通して実習させてほしい  
フィルター別の回収率を知りたい



準備品





# 実習風景3(富山)

## 斜光法実習



菌種・培養日  
数別の平板



部屋を暗くして  
蛍光観察

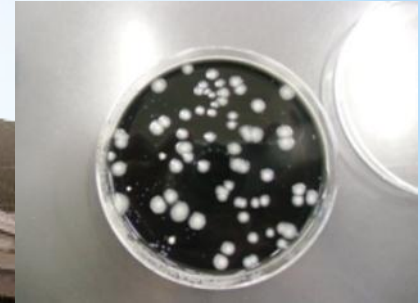


実体顕微鏡を  
4台準備





# 斜光法実習



理解できた1  
参考になった6  
わかりやすかった2  
良かった12  
顕微鏡・平板数・人数のバランスが悪い1  
時間が短い6  
森本先生最高で～す！



# まとめ

## 1. 研修内容についての感想はかなり良好であった。

- 有意義であった
- 参考になった
- 実習内容を検査に取り入れていきたい
- よく理解できた

## 2. 問題点の指摘もあった。

- ◆ スケジュールがタイトであった
- ◆ 顕微鏡観察の時間が短か過ぎた。
- ◆ 実験器具が足りない
- ◆ ろ過法と培養法を通して実習したかった
- ◆ この方法はコストがかかりすぎて、取り入れるのは困難であると思う

## 3. 今後への希望意見

- ✓ 公定法が決まるまでのスケジュールが知りたい
- ✓ 公定法が決まるまでの暫定的な推奨法を示してほしい
- ✓ 定期的を開催してほしい

## 主催者側の感想

- 準備が大変であった（特に平板の準備）
- 本来、実習するための設備ではない場所での研修（器具・スペースなど）
- バイオセーフティに関する制約の問題  
（入室のための受講・履物などの準備）  
（講義室と実習室間の移動）
- 実体顕微鏡の台数が課題
- 準備も含め、研修日程は最低2日は必要

# バイオセーフティ・セキュリティに関する制約

## 2. バイオセーフティ講習会

実習をおこなう実験室が、病原体を取り扱う「管理区域」となっているため、実習の前にバイオセーフティの講義を受講することが義務となっております。必ず受講願います。受講されない場合は、実験室には入れませんので、くれぐれもご注意ください。

## 3. 持参するもの

特にございません。実験室内で着用するマスク・グローブ・予防衣については、準備しております。ただし、グローブ等のアレルギーには対応はできませんので、各自ご準備下さい。