

# レジオネラの検査法と外部精度管理

平成28年度生活衛生関係技術担当者研修会

平成29年2月6日(月)厚生労働省2階講堂

北海道立衛生研究所 森本 洋

# 「過去にはこのような質問が」 平成21年度の本会議において

- 施設の自主検査で「不検出」、保健所の行政検査で「検出」となり、検査結果が不一致となることがある。また、レジオネラ属菌の「ろ過濃縮法」の検査法で、フィルターの孔径により検出菌数に差が出るとの話も聞く。「検査法の確立」と「行政・民間の精度管理のあり方」について御教示願いたい。

現状の確認  
— 検査方法について —  
(浴槽水)

# 公衆浴場における水質基準等に関する指針

(公衆浴場における衛生等管理要領等について:

H12.12.15 生衛発第1811号厚生省生活衛生局長通知)

- 大腸菌群
- 原水, 原湯, 上り用湯及び上り用水の水質基準及びその検査方法  
50ml中に検出されないこと  
「水質基準に関する省令」  
(H.4厚生省令第69号)
- 浴槽水の水質基準及びその検査方法  
1個/mL以下であること  
「下水の水質の検定方法等に関する省令」  
(S.37.厚生省令・建設省令第1号)  
別表第1(第6条)

- レジオネラ属菌
- 原水～
- 浴槽水～  
10CFU/100mL 未満であること  
  
冷却遠心濃縮法又はろ過濃縮法のいずれかによること

# 大きな違い

- 大腸菌群

- 原水, 原湯, 上り用湯及び上り用水の検査方法

「水質基準に関する省令」  
(H.4厚生省令第69号)で

定める検査方法によること

- 浴槽水の検査方法

「下水の水質の検定方法等に関する省令」

(S.37厚生省令・建設省令第1号)別表第1(第6条)の大腸菌群数検定方法によること

- レジオネラ属菌

- 原水～

- 浴槽水～

10CFU/100mL 未満であること

冷却遠心濃縮法又はろ過濃縮法のいずれかによること



具体的方法(公定法、標準的な検査方法)が示されていない

# 公衆浴場における衛生等管理要領等の 改正について

(H15.2.14 健発第0214004号厚生労働省健康局長通知)

- レジオネラ属菌の検査法

- ・新たに

”また、その具体的手順は、

「新版レジオネラ症防止指針」の

「＜付録＞1環境水のレジオネラ属菌検査  
方法」を参照すること”

という一文が加えられた

# しかしながら

- あくまでも

”参照”であり，大腸菌群のように公定法として明確に示されているわけではない。。。

そのため

これまで各検査機関が行ってきた，さまざまな方法に大きく影響を与える事なく検査が行われているのが現状？



# 検査機関のSOPの基として 使用頻度の高いと思われるもの

- 改訂・レジオネラ属菌防除指針  
一温泉利用入浴施設用一(1999年3月)  
(財)全国環境衛生営業指導センター  
全国旅館環境衛生同業組合連合会
- 新版 レジオネラ症防止指針(1999年11月)  
財団法人ビル管理教育センター
- 第3版 レジオネラ症防止指針(2009年3月)  
財団法人ビル管理教育センター
- 上水試験方法,上水試験方法 解説編(2001、2011)  
日本水道協会
- 衛生試験法・注解(2005、2010)  
日本薬学会
- 病原体検出マニュアル(2003年12月、2011年10月)  
国立感染症研究所



# 疑問点？問題点？妥協点？

- これらに示されている検査法には随所に違いがある
- それぞれにおいて項目ごとに複数の選択肢が認められる場合がある
- 改訂・レジオネラ属菌防除指針  
—温泉利用入浴施設用—(1999年3月)  
検査方法, 検出限界, 検査範囲, 検査価格は  
実施機関によって異なる  
⇒依頼時には, 価格だけでなく, 検査内容の説明をよく聞き判断する必要がある

# このような状況下、検査結果は

- 行政面では  
行政処分等を行う根拠として  
訴訟等を伴う事例への対応 など
- 公衆浴場では  
⇒ レジオネラ症予防効果へつなげるための  
施設の衛生管理状態の確認に大きく影響

**非常に重要な役割を担っている**

# 公衆浴場における衛生等管理要領等の 改正について

(H15.2.14 健発第0214004号厚生労働省健康局長通知)

- レジオネラ属菌の検査法

- ・新たに

”また、その具体的手順は、

「新版レジオネラ症防止指針」の

「＜付録＞1環境水のレジオネラ属菌検査  
方法」を参照すること”

という一文が加えられた

## < 付 録 >

### 1. 環境水のレジオネラ属菌検査方法

レジオネラ属菌培養法の基本は BCYE  $\alpha$  寒天培地を用い、36℃前後で培養することである。検体の種類・状況、検査施設の規模・設備・人員その他の要因により実施方法の細部が相違する可能性がある。レジオネラ属菌検査は熟練した専門家が行わねばならない。検査実施に際し、操作によってエアロゾルを発生する可能性があるときは、レベル2の安全キャビネット内で作業する。大腸菌を培養したことがあるからといってレジオネラ属菌の検査もできると安易に考えてはならない。

新たにレジオネラ属菌検査に従事しようとする者は、レジオネラ研究施設に少なくとも3ヶ月は研修し、技術、知識、観察力、判定能力、バイオハザードの観念等を身に付けなければならない。検査方法の改変は、細菌学実験法の原則に通じた者がレジオネラ属菌検査の基本に則して行うべきであって、細菌学実験法の基礎知識のない者が勝手に行ってはならない。

レジオネラ属菌検査を外部施設に委託しようとする場合に、委託者は細菌学的知識と技能のある人材を担当者とし、必ず事前にその受託施設での検査・判定・菌数算定方法を熟知した上で契約しなければならない。検査実施後は単にその報告書の数値を見るだけでなく、担当者は必要に応じてこれを批判し、爾後の的確な判断を下さねばならない。



# 検査のポイントについて

- これまでの調査研究で分かってきたいくつかのポイントを紹介します。

→ ポイントとは？

- \* 検査の考え方
- \* 理論と実際

# 地方衛生研究所に対する 検査法の実態調査について

レジ検査に  
不安を感じたことはありますか？

	回答数
ある	47 (約63%)
特にない	28 (約37%)

# 不安ありとしたコメント

レジが強く疑われるが、確定させるのが困難な場合

- 検査結果が陰性の場合
- 前処理してもレジ以外の菌が多数のときの判断
- 遺伝子検査では陽性だが、培養では陰性
- 定量検査の信頼性
- 濃縮、非濃縮の集落数に乖離がみられた場合の定量結果
- 昨年度までのプレ精度管理の試行で、各施設間の菌数のばらつきが大きいことがわかったので  
⇒方法全体、前処理、本当に濃縮されている？、等



# 貴自治体で公衆浴場施設における 自主検査の依頼を受けていますか？

	回答数
受けている	21*(約28%)
受けていない	53(約72%)

\* 検査体制はあるが実績はほぼ無しと  
回答した自治体も

# つまり

- 70%以上の自治体では、行政検査対応のみ
- 依頼検査を受けている自治体でも、民間検査機関による自主検査対応が多い。
- 改めて民間検査機関の重要性と官・民間問わず基本的な培養法による検出精度を安定させる必要性を認識することに。

# 実態調査結果から

- 標準的な検査法の整理と提示
- 研修システムの構築
- 精度管理

官・民間問わず検査精度の安定に向けた  
取り組みを進めることが必要

# 標準的な検査法（培養法）の検討

標準的検査法とは（これまでの方向性）

① ISO 11731:1998(E)に準じた方法

② 検査結果のバラツキを減らす

③ 分離培地に発育したレジオネラを

見逃さないようにする → 斜光法の導入

⇒ある精度以上を確保した基準となる方法

基本となる考え方を統一した方法

**ワーキンググループ(WG)推奨法**

# WG推奨法の詳細は

## 厚生労働科学研究補助金

### 健康安全・危機管理対策総合研究事業

- 平成24年度

「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」

- 平成25年度

「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」

\* 十の点、一の点を含め記載

主な点について紹介します。



# 新版レジオネラ症防止指針には

と時間を正確に管理する。熱処理後の検水濃度（または濃縮倍数）はもとのままで変化しない。

## 1.3 接種

菌数を予測できないので、濃縮検体と非濃縮検体を同時に検査する。

前処理検体50 $\mu$ lまたは100 $\mu$ lをレジオネラ用選択培地平板に塗布する。

フィルター貼付法の場合は、吸引ろ過後の47mmフィルターを、ろ過時のフィルター上面を上にしてレジオネラ用選択培地平板上に貼り付ける。

ISO 11731: 1998 (E)

GVPC培地3枚を用い下記のように接種する。

①未処理（濃縮または非濃縮）検水 0.1～0.5ml

②酸処理（濃縮または非濃縮）検水 0.1～0.5ml

③熱処理（濃縮または非濃縮）検水 0.1～0.5ml

## 1.4 培養

接種後の



# 非濃縮について考える

- ある時期の5年間で非濃縮と濃縮（ろ過）の検査を同時に行い、レジオネラが確認された265検体について報告する。
- 菌数の確定：  
複数の検査条件のうち最も多くのコロニーが確認された条件の結果を採用。

# 非濃縮検体からレジが 検出された265検体中

- 濃縮検体測定不能 → 144検体(54%)

\* つまり非濃縮のみから検出

非濃縮および濃縮検体から共に確認された  
121検体(265-144)について菌数を  
比較すると

非濃縮 > 濃縮: 109検体(41%)

非濃縮 < 濃縮: 11検体(4%)

非濃縮 = 濃縮: 1(0.4%)

# つまり

- 265検体中、非濃縮検体の検査結果から菌数を確定させたものは、

非濃縮 > 濃縮: 109検体 と 非濃縮のみから検出(濃縮で測定不能)の144検体を合わせた 253検体

→  $253 / 265 =$  全体の約95%であった

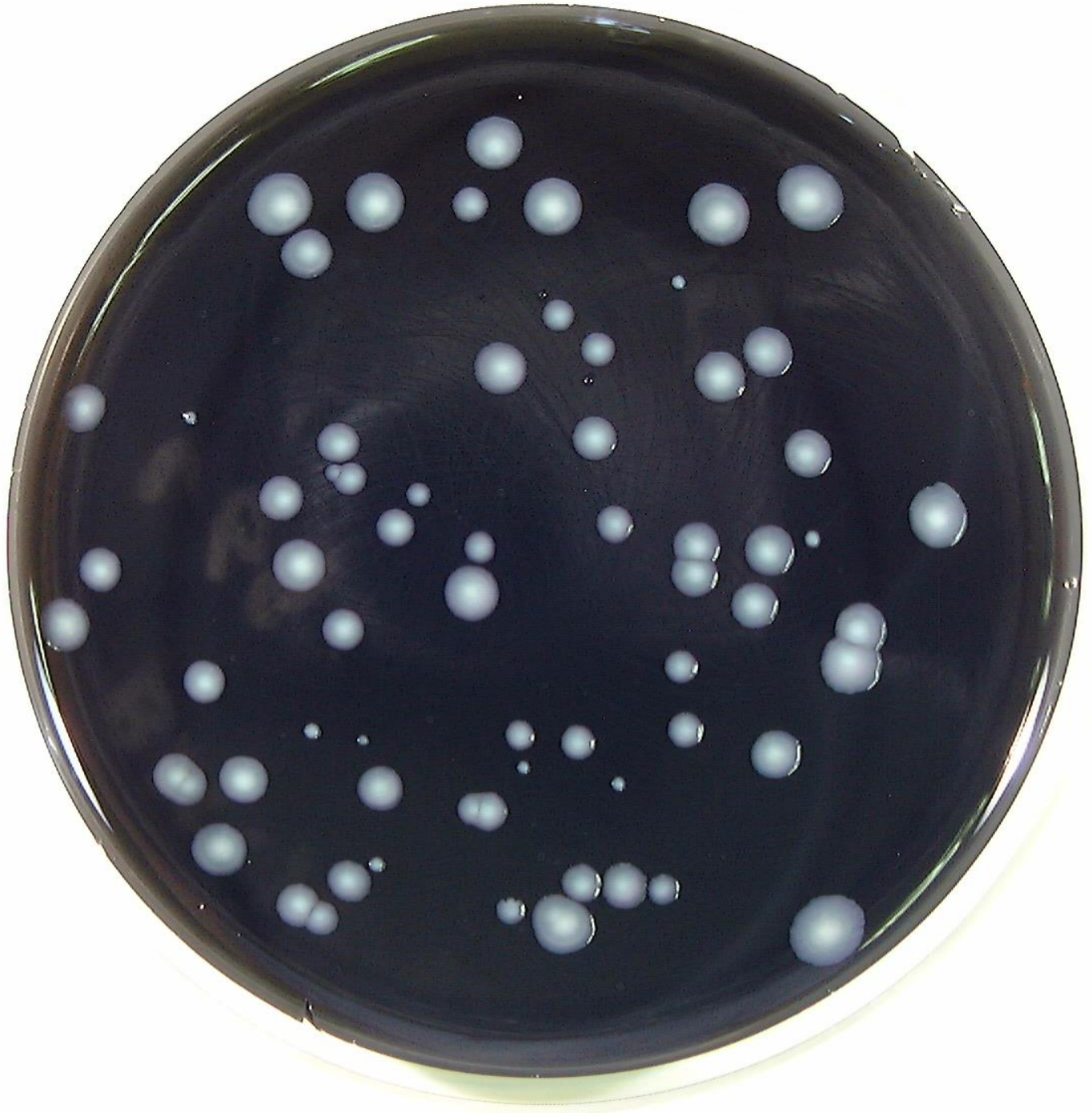
**非濃縮検査は重要である！**

# 斜光法

- \* 分離集落の特徴を利用した  
レジオネラ属菌分別法
- \* レジ同定検査を強く  
サポートする方法

コロニー形態として

大小不同の灰白色湿潤集落  
淡い酸臭有り







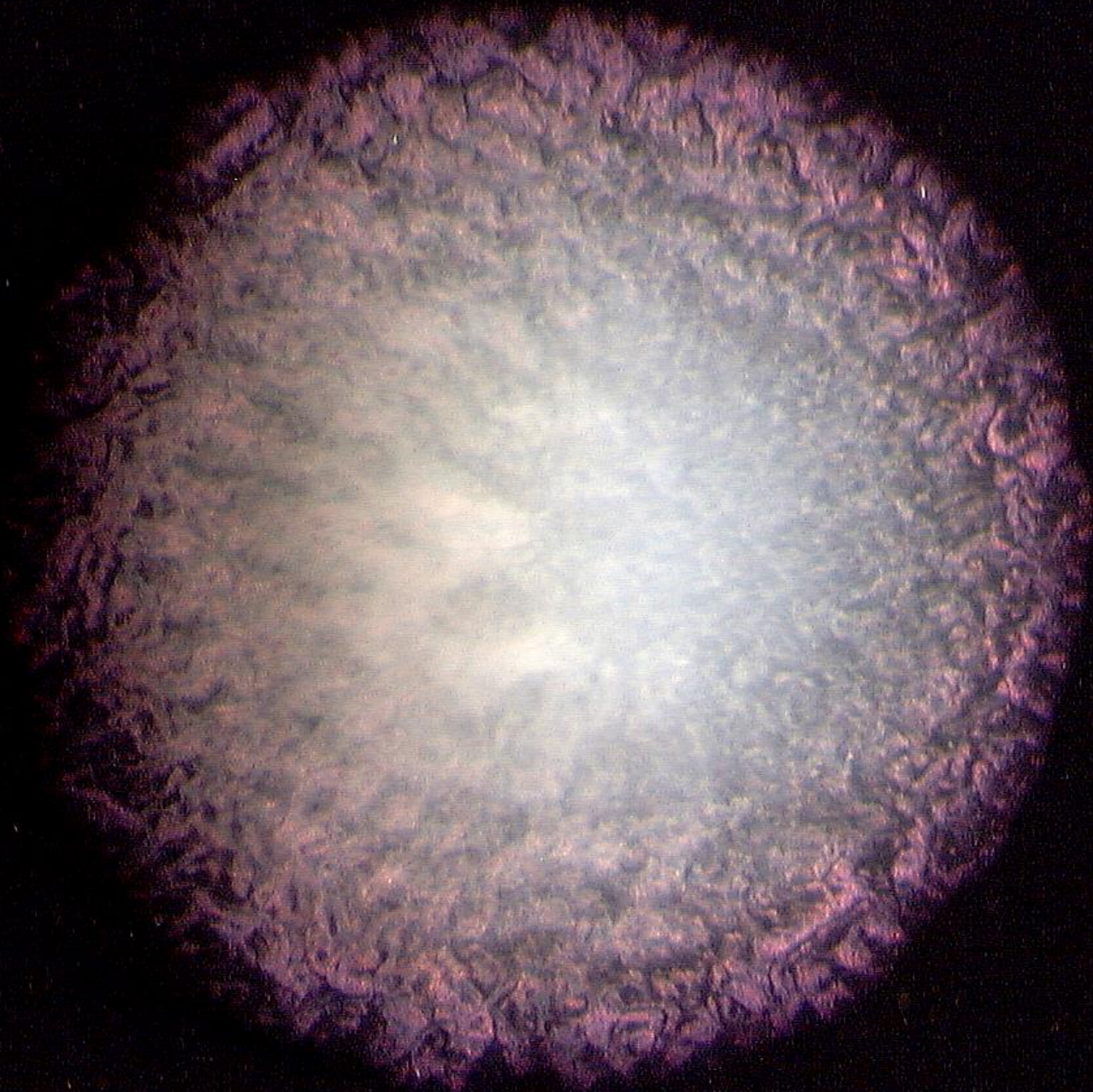
分離培地上に発育した  
レジオネラ属菌を見逃さないために  
ある方法を提案！





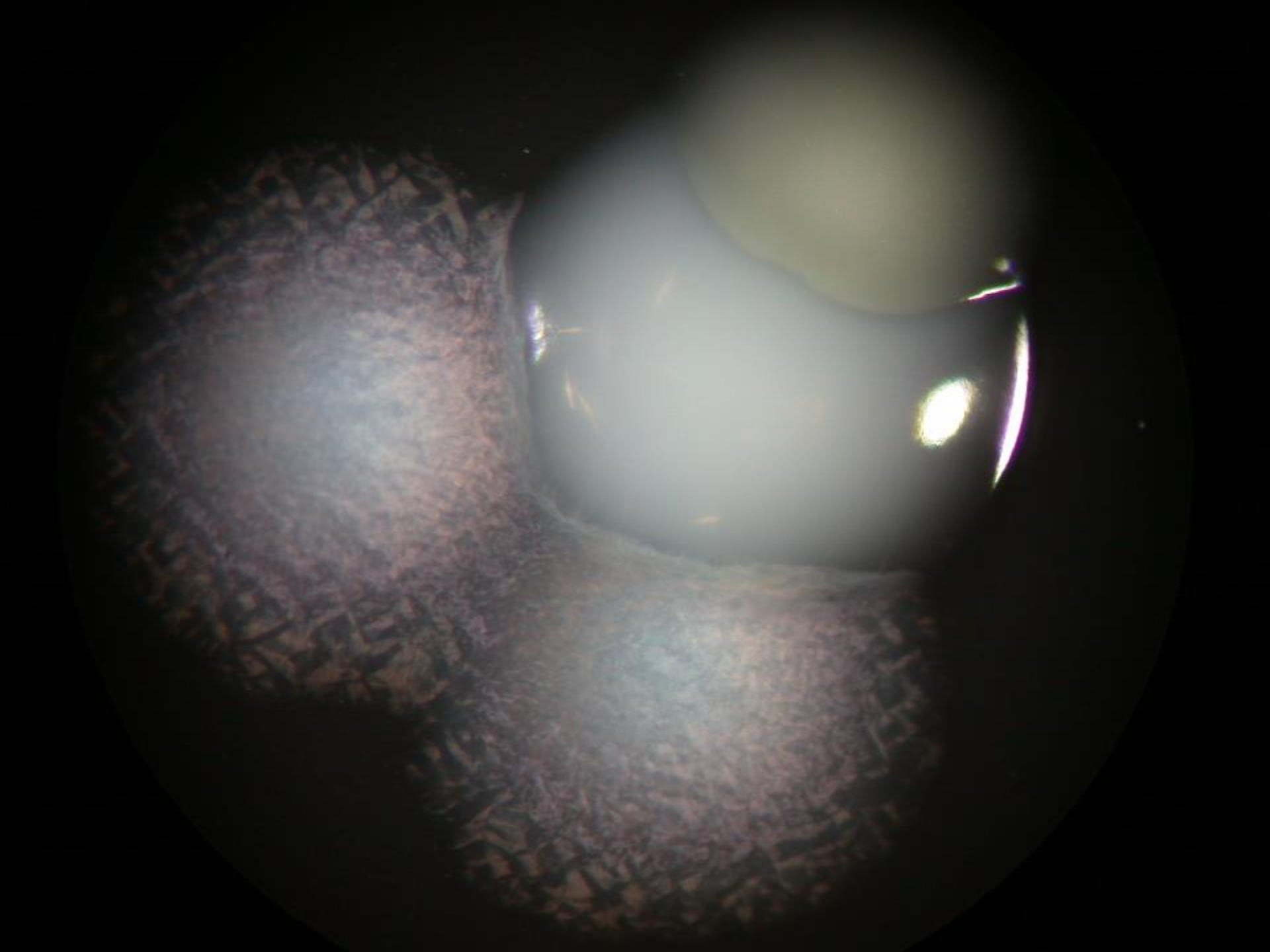






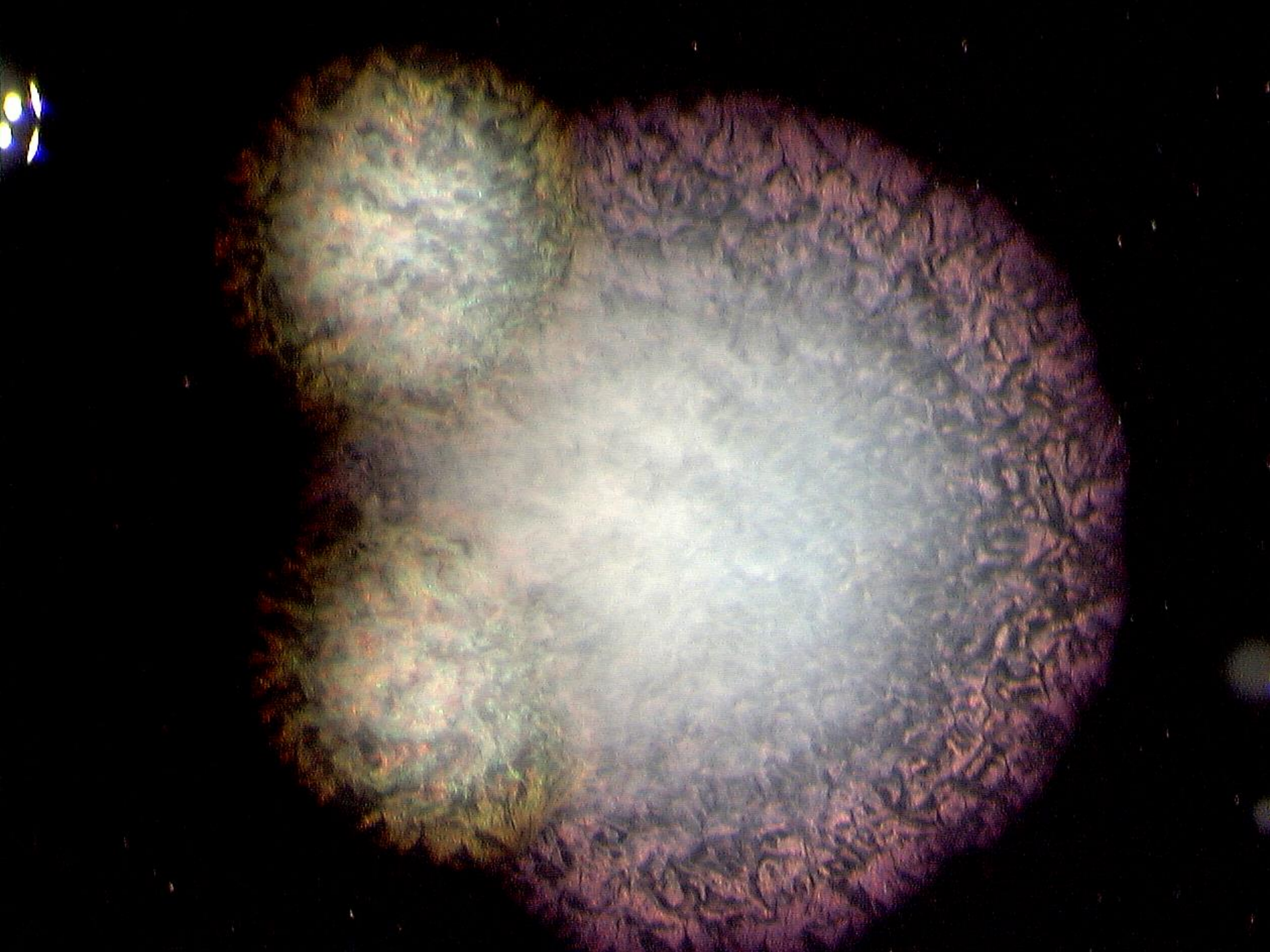












複数種類のレジオネラ属菌が混在していた  
培養4日目の温泉水(MWY)

矢印ピンク: *L.p.SG4*, 赤: *L.p.SG1*,

水色: *L.p.SG5*, 白: *L.p.SG*不明,

黄緑: *L.rubrilucens*,

黄色: *L.feeleii*



# 効率の良い集落観察法

- 分離培地上の出現集落に斜光を当て、実体顕微鏡で観察する(斜光法)と、レジオネラ属菌は特徴的な形態(外観構造)を示す。
- この方法を培養法に組み込むことで、レジオネラ属菌と他の細菌との見極めが簡易になり、レジオネラ集落の確認、カウント、釣菌などが効率良く行えるようになった。
- その結果、定性までの時間短縮、より正確な定量結果を報告することが可能となった。また、斜光法にコロニーPCRを併用することで、さらに正確で迅速な結果判定が可能となる場合があった。

# 斜光法については

- 分離集落の特徴を利用した  
レジオネラ属菌分別法の有用性  
日本環境感染学会誌 2010;25 (1),8-14

# 新版レジオネラ症防止指針には

と時間を正確に管理する。熱処理後の検水濃度（または濃縮倍数）はもとのままで変化しない。

## 1.3 接種

菌数を予測できないので、濃縮検体と非濃縮検体を同時に検査する。

前処理検体50 $\mu$ lまたは100 $\mu$ lをレジオネラ用選択培地平板に塗布する。

フィルター貼付法の場合は、吸引ろ過後の47mmフィルターを、ろ過時のフィルター上面を上にしてレジオネラ用選択培地平板上に貼り付ける。

ISO 11731: 1998 (E)

GVPC培地3枚を用い下記のように接種する。

①未処理（濃縮または非濃縮）検水 0.1～0.5ml

②酸処理（濃縮または非濃縮）検水 0.1～0.5ml

③熱処理（濃縮または非濃縮）検水 0.1～0.5ml

## 1.4 培養

接種後の

# 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

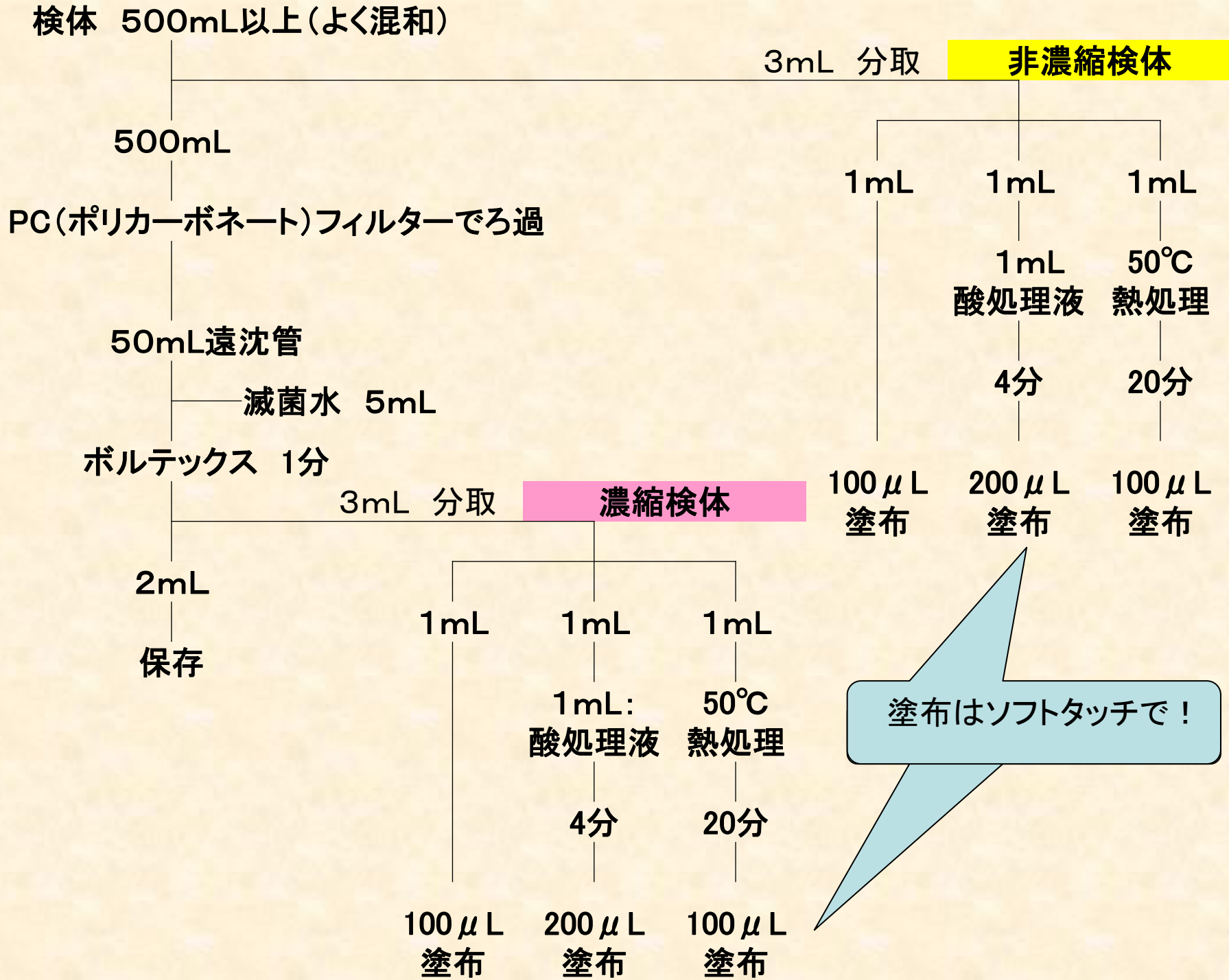
#### •ろ過濃縮法

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。

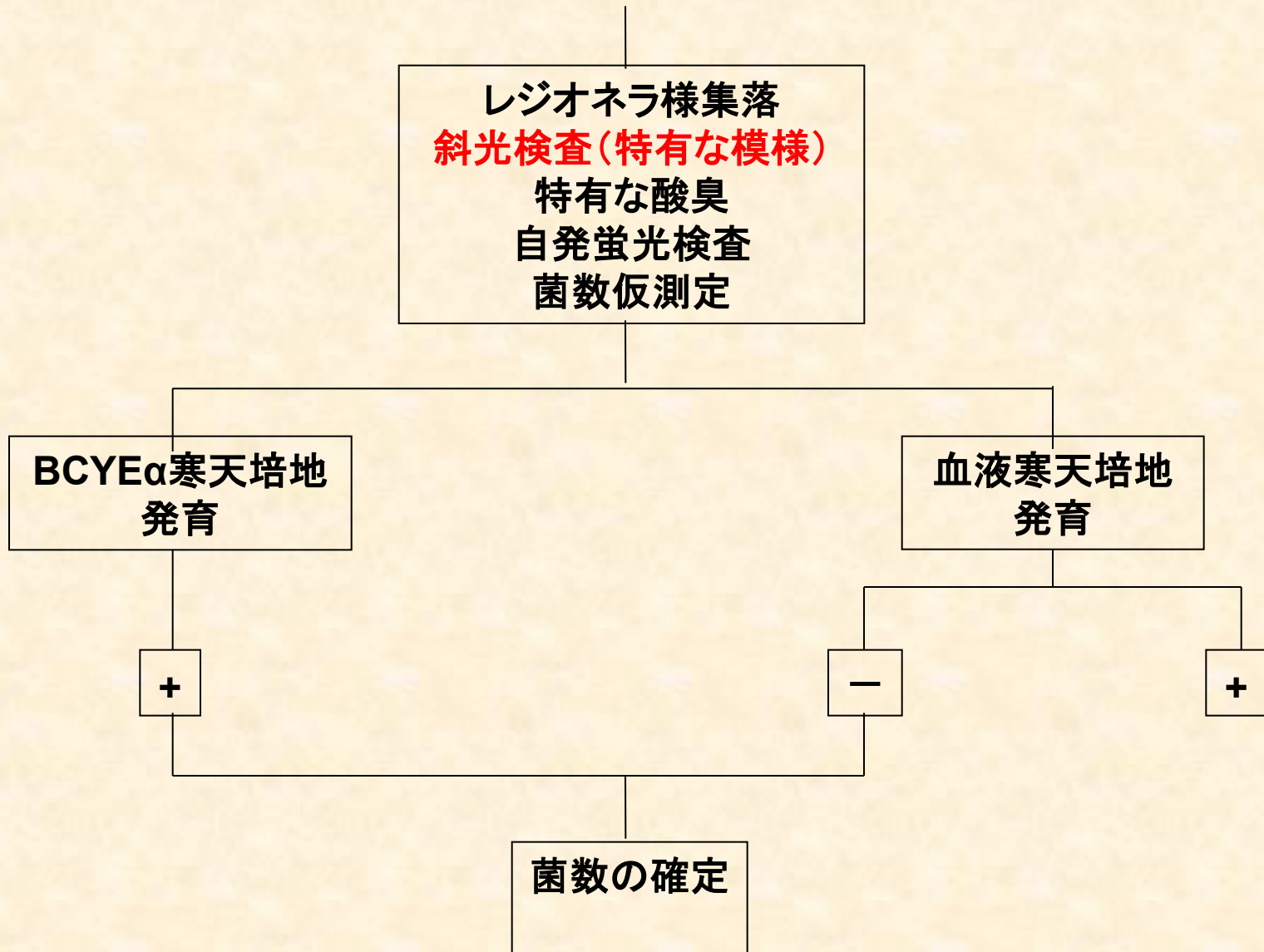
#### •冷却遠心濃縮法

ISOを基礎として対比検討された JIS K 0350-50-10に従う。





# レジオネラ属菌の確認



# WG推奨法（培養法）

## — 浴槽水中のレジオネラ属菌検査 —

- 今後、改訂ISO法との擦り合わせを行い、改訂版のWG推奨法（培養法）を提示する予定。  
→ 要領へ反映させることができれば！

# 外部精度管理に向けた検討

- 2011、2012年度

自家調製試料によるプレ外部精度管理を実施

参加機関：WG

- 2013、2014年度

シスメックス・バイオメリューのBioBallを利用したプレ外部精度管理を実施

参加機関：約40の地方衛生研究所

# 全国規模の精度管理を行うためには

- ①外部精度管理用菌株の検討(安定性と管理)
- ②配付試料の安定化に向けた検討(作製、輸送法・温度管理)
- ③外部精度管理参加条件の設定(設備が対象菌に「適」?)
- ④配付方法の検討(梱包は?、配送機関は?)
- ⑤検査方法の検討(定義:どの部分に重きを置くのか)
- ⑥プレ外部精度管理実施
- ⑦評価と解析方法の検討
- ⑧内部精度管理の必要性
- ⑨外部機関との協力(将来的な外部精度管理委託機関)
- ⑩その他(検査法の標準化、研修会等)

# 信頼性確保のための精度管理の位置づけ

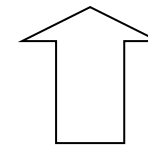
## 外部精度管理

- 検査技術レベル
- 検査精度の確認  
(平均値、結果のばらつき)
- 検査手法の確認

(共通試料を用いた比較)

## 内部精度管理

- 検査精度の確認  
(回収率等の確認)
- 担当者間でのばらつき
- 機器の点検、整備



実施状況の確認

内部点検

(検査施設内で完結)

他検査施設との比較が可能

(秦野研究所資料より)



# 微生物学調査試料の作製

- 微生物学検査用調査試料の最大の問題点は、添加菌の増殖、死滅、変異をいかに抑えるのか
- 定性検査で結果に影響を及ぼさないことを前提とした場合には、いかに死滅させないか  
⇒ 調査試料中の添加菌の均一性、安定性の担保

これらは定量検査では結果のばらつき、定性検査では誤判定につながる可能性がある

外部精度管理調査期間中にどの容器を用いても、いつ検査を実施しても一定の結果が得られることが調査試料に求められる前提条件

# 特注品BioBallの使用により

- ①外部精度管理用菌株の検討
- ②配付試料の安定化に向けた検討
- ③外部精度管理参加条件の設定
- ④配付方法の検討
- ⑤検査方法の検討(定義:どの部分に重きを置くのか)
- ⑥プレ外部精度管理実施
- ⑦評価と解析方法の検討
- ⑧内部精度管理の必要性
- ⑨外部機関との協力(将来的な外部精度管理委託機関)
- ⑩その他(検査法の標準化、研修会等)

ほぼ解決！

# 検査方法の検討 どの部分に重点を置くか？

- ・ 現状では、検査工程や選択分離培地の幅が大きいほど、検査結果への幅も大きくなる可能性がある。

- ・ 手技に重点を置いた外部精度管理の場合、手技が適切でも施設間での前処理や分離培地の違いが結果に大きな影響を与える可能性がある。

# 検討の結果

- 最も基本となる手技に重点を置く。
- 前処理や選択分離培地の影響を受けないよう、「未処理、BCYE $\alpha$ 培地」で実施。
- 実施母体を民間に
  - 日水製薬株式会社
- 参加機関の対象を幅広く行政機関・民間検査機関に拡大
- 2015年度から実施

2016年度レジオネラ属菌検査セミナー

# 2015年度レジオネラ属菌検査 精度管理サーベイ結果報告


日水製薬株式会社  
産業試薬営業部  
辻 彩香

# 1-1 2015年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

**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**

**ーレジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組みー**

これまで行われてきた外部精度管理の結果



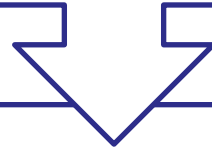
最良と思われる指定法を設定

2015年度レジオネラ属菌精度管理サーベイを実施

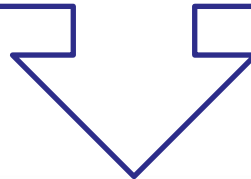


## 1-2 実施の経緯

レジオネラ属菌は、様々な検査法が存在



レジオネラ属菌検査法研究事業における  
ワーキンググループ内で、外部精度管理およびその検討を実施



2015年

新たに、その他行政機関・民間機関に対象を拡大  
今までの検討結果に基づいて実施

# 1-3 指定法

○レジオネラ属菌検査法研究に基づいて設定

○試料は、レジオネラ属菌検査法研究と同様のものを使用

*Legionella pneumophila* ACM5197

## 2015年度レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ指定法

滅菌生理食塩水50mLに精度管理サーベイ試料1バイアルを加え良く混和

非濃縮検体1mL

濃縮検体49mL

滅菌生理食塩水441mLを加え、良く混和

両方、もしくはどちらか実施

冷却遠心濃縮法200mL

ろ過濃縮法200mL

遠心分離

メンブランフィルターろ過

100倍濃縮する  
(滅菌生理食塩水を使用)

5mL滅菌生理食塩水に  
メンブランフィルターを添加 (40倍濃縮)

ボルテックスミキサー 1分

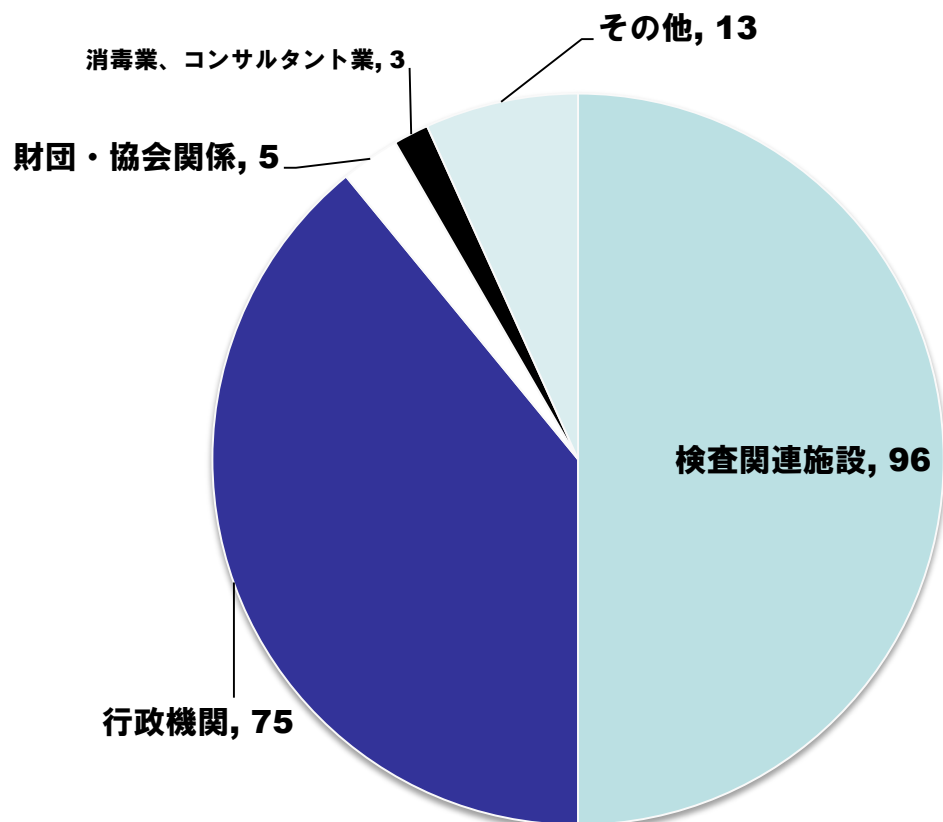
100 $\mu$ Lずつレジオネラ非選択分離培地 (BCYE $\alpha$ 寒天培地) 2枚以上に塗布

36 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C 7日 間好気培養後、レジオネラ属菌と推定される集落数の計測

\*本サーベイでは純培養菌を使用しているためここで終了

## 2-1 参加者数・参加施設内訳

### 参加施設内訳 189施設（192名）



# 研究班協力機関

- 2015年度  
地方衛生研究所を中心とした67機関
- 2016年度  
地方衛生研究所を中心とした71機関
- 両年度参加  
64機関



# 回答を求めた検体

- 非濃縮検体①(2015、2016年度)  
: 50mlの滅菌生食にサンプルを懸濁したものの
- 非濃縮検体②(2016年度)  
: ①を約500mlにしたもの
- 濃縮検体  
: 非濃②200mlをろ過濃縮又は遠心濃縮、  
又は両方(2015年度)  
: 非濃②全量をろ過濃縮又は遠心濃縮  
(2016年度)

表1 2015、2016年度結果一覧(2015/2016、良好範囲※○、範囲外\*、検査項目外又は昨年度不参加)

施設No.	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	○ / 非回答	- / 非回答	○ / 非回答	
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	○/○	- / *	* / *		※ 厚労科研WGによる判定基準による				

# 結果と考察1

- 2年連続で良好範囲外を報告していた施設は検査法を特に検証する必要有り。
- 複数項目で良好範囲外を報告していた施設は検査法を特に検証する必要有り。
- 71施設中12施設(17%)が検査法を検証する必要有り。うち全体的な検証が必要と思われる施設が5施設、濃縮検査の検証が必要と思われる施設が7施設。

## 結果と考察2

- 本外部精度管理で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可能と考える。
- **非濃縮検査は重要！**  
非濃縮検査結果だけを見ると90%以上の施設は良好な報告をしている！

適切な検査精度保持のために

ぜひ外部精度管理への参加を  
ご検討下さい！



# 研修会

- 標準的な検査法の提示後、それに基づいた研修会を開催する。
- 研修受け入れ機関の設置と講師の養成が必要。
- 行政・民間検査機関すべてに対する実技を伴った研修システムが必要。
- 今後の検討課題！

# これまで(民間機関)

主催: 関東化学株式会社

場所: 久留米大学病院医学部  
基礎1号館4F実習室

講師: 研究班メンバー

検査法: WG推奨法

開催年: 2013年

研修期間: 4時間(13~17時)

参加施設: 15施設22名

# これまで(行政機関)

主催：国立保健医療科学院

短期研修 新興再興感染症技術研修

場所：国立感染症研究所村山庁舎

講師：研究班メンバー

検査法：WG推奨法

開催年：2014、2016年 今後は未定

研修期間：5日(実質研修は4日)

参加施設：24施設24名(各年)

# 参考情報1

選択分離培地はどれでも同じ？

表24 繁用されているレジオネラ属菌用選択培地の種類と組成

成分	GVP <sup>148)</sup>	MWY <sup>149)</sup> (Oxoid)	GVPC <sup>150)</sup> (Merk)	WYO <sup>151)</sup> (栄研化学)
基礎培地	BCYE $\alpha$ 1000 ml	BCYE $\alpha$ 1000 ml	BCYE $\alpha$ 1000 ml	BCYE $\alpha$ 1000 ml
Glycine	3g	3g	3g	3g
Vancomycin	5g	1mg	5mg	5mg
Polymyxin B	100,000IU	50,000IU	79,200IU	100,000IU
Cycloheximid	—	—	80mg	—
Anisomycin	—	80mg	—	—
Amphotericin B	—	—	—	80mg
Bromtyhymol blue	—	10mg	—	—
Bromcresol purple	—	10mg	—	—



Bromthymol blue	—	10mg	—
Bromcresol purple	—	10mg	—

表25 選択培地上でのレジオネラ属7菌種13株の発育状況〔奥田ら1984より改変〕

培地	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. bozemanii</i>	<i>L. micdadei</i>	<i>L. gorm,anii</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. longbeachae</i>	<i>L. jordanis</i>
	9134 <sup>**</sup>	9136	9137	9246	9139	9138	9140	9141	9142	9244	9247	2945	3193
BCYE	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MWY	82	88	84	56	64	79	59	73	<1	28	98	57	6
GVP added with <sup>*</sup>													
Anisomycin	86	84	72	8	68	74	41	62	<1	2	90	47	2
Cycloheximid	74	91	73	13	68	76	41	73	<1	2	92	47	2
Amphotericin B	83	88	76	14	78	72	43	65	<1	2	95	50	2

表中の数字は BCYE 寒天平板上での出現集落数を100としたときの比率(%) \* g/1000ml BCYE \*\* GIFU strain number

表26 フィルター法と平板法での *L. pneumophila* 6 血清群パイロット株の出現集落数の比較\*

# レジオネラ症防止指針第3版

- 第4章 レジオネラ属菌検査の原則

同一検体であっても、培養法・分離法の違いにより異なるレジオネラ属菌が分離されてくる可能性があることに注意しなければならない。

# レジオネラ症防止指針第3版

- 第5章 レジオネラ属菌の検査法

異なるメーカーの酵母エキスや活性炭末によってレジオネラ属菌集落形成に有意差が認められており、同一組成の市販生培地であってもメーカーによってレジオネラ属菌の発育指示能が異なることに注意する必要がある。

(齋藤ら.2007)

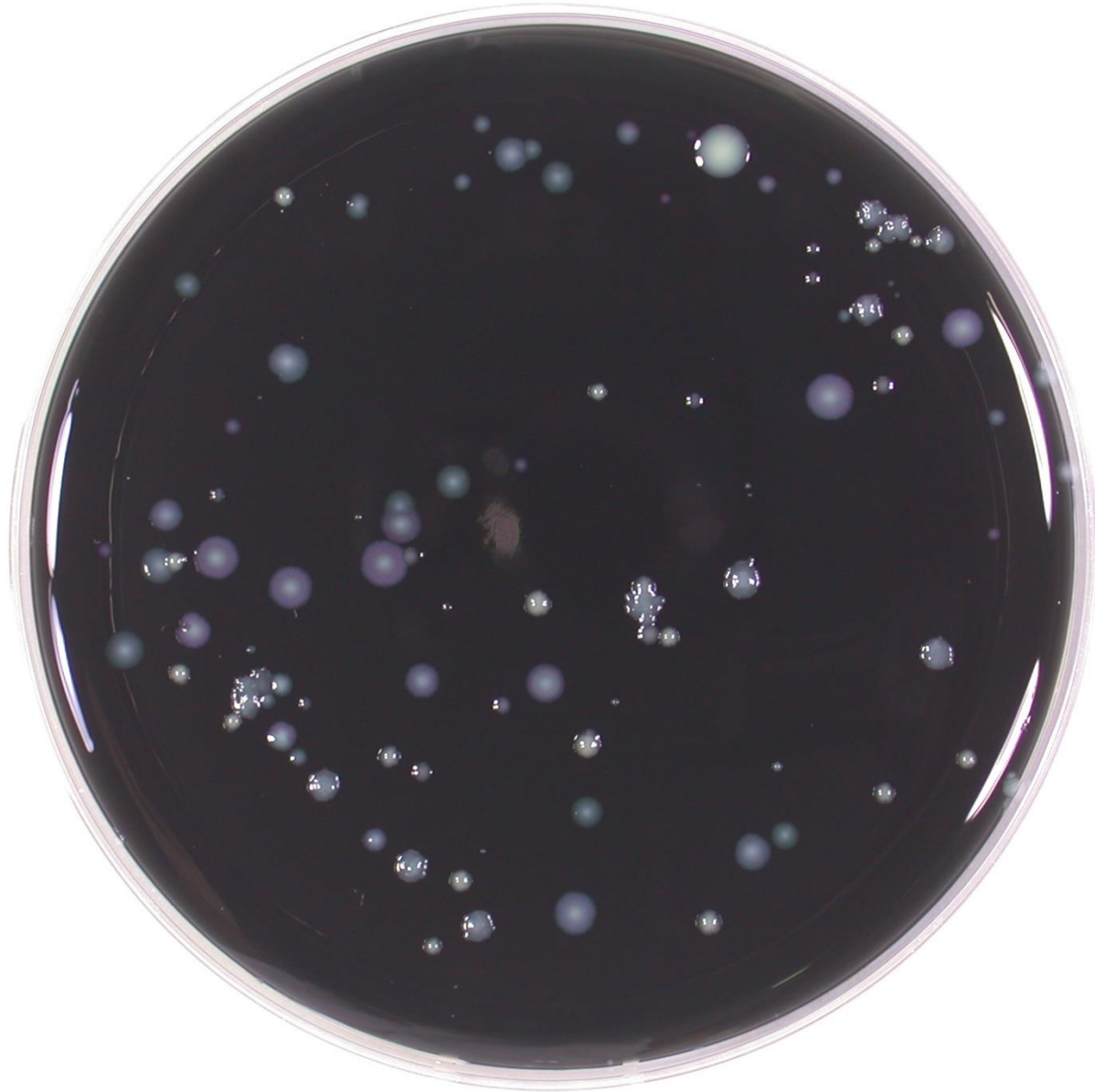
# 一例

今回お見せするのは、GVPC寒天生培地について

- A～D 5社の生培地を使用
- 同一の検体を100 $\mu$ l接種
- 酸や熱による前処理は無し
- 培地の性能試験ではなく、あくまでも今回の検体接種による結果
- ここで示す以外のパターンも、もちろん存在している



# A社-GVPC-培養3日目

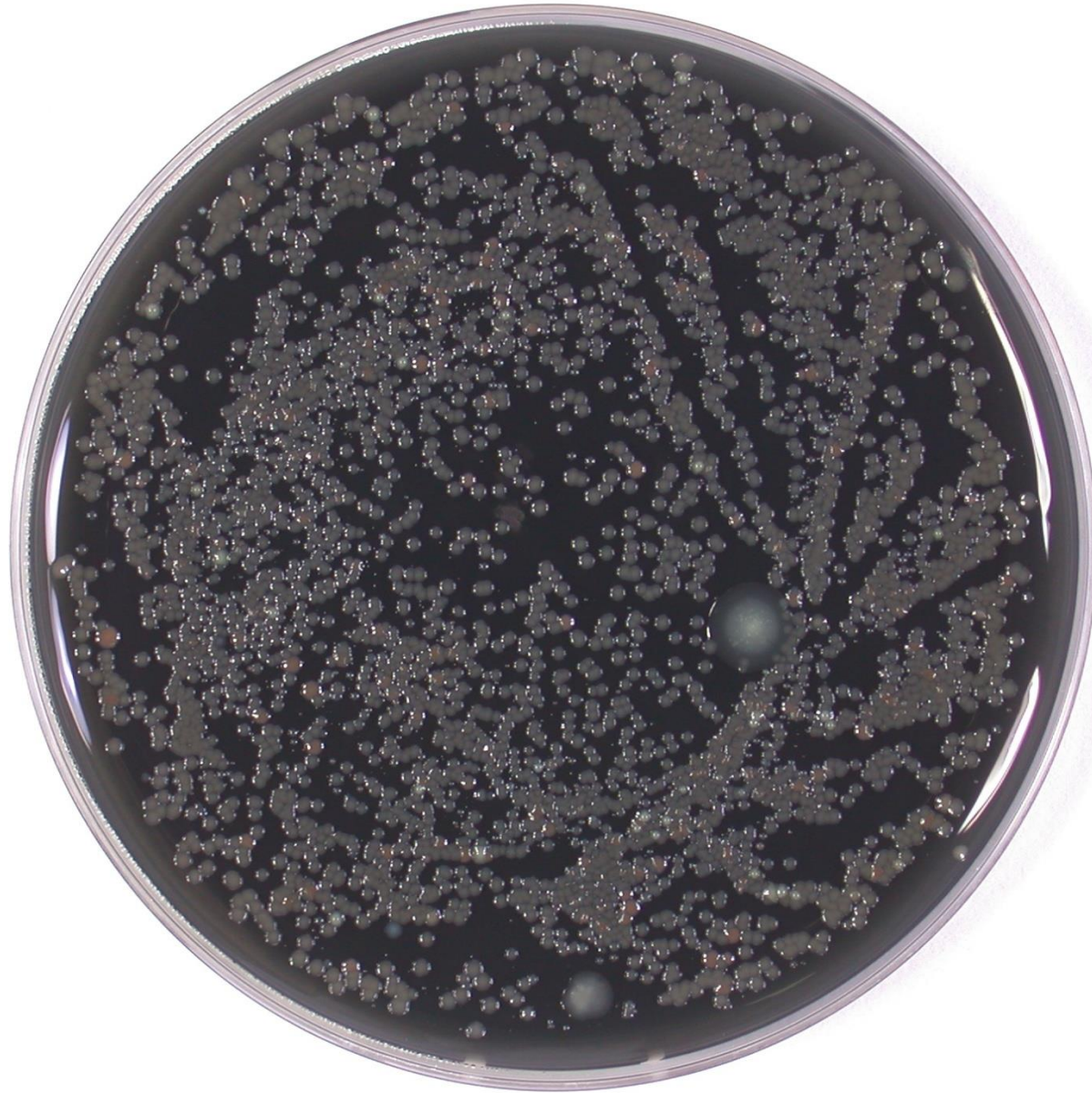




# B社-GVPC-培養3日目

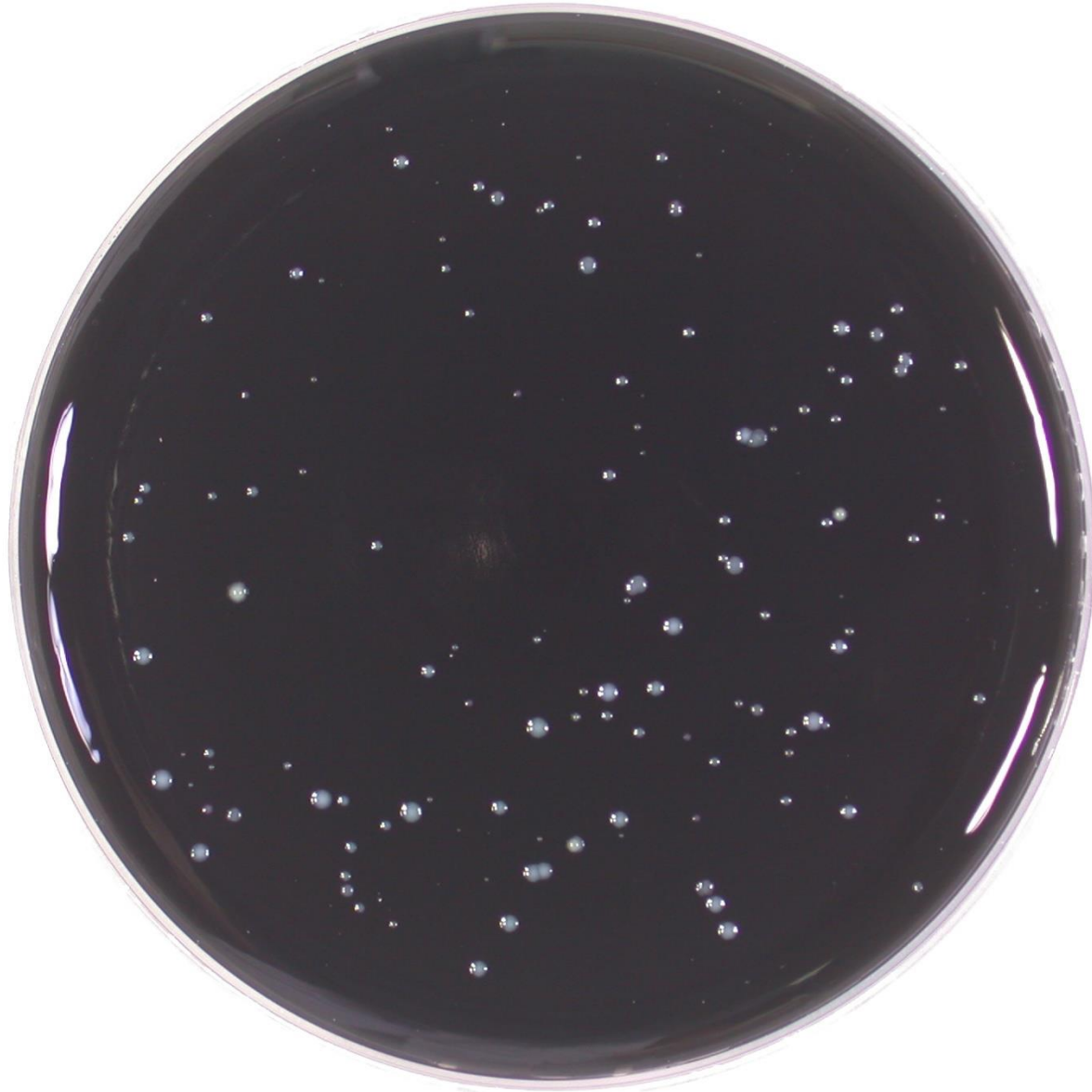


# C社-GVPC-培養3日目

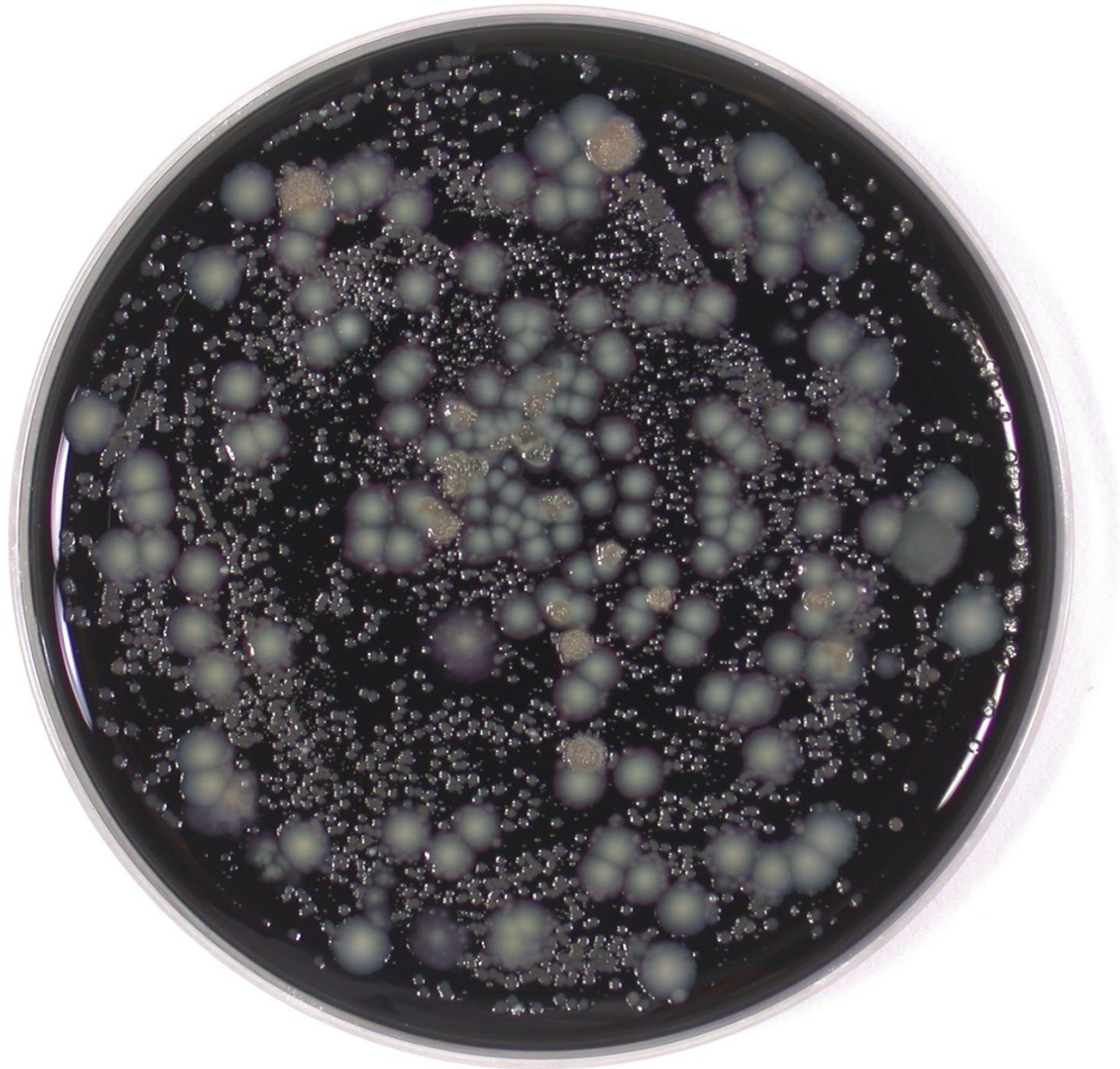




# D社-GVPC-培養3日目



# E社-GVPC-培養3日目

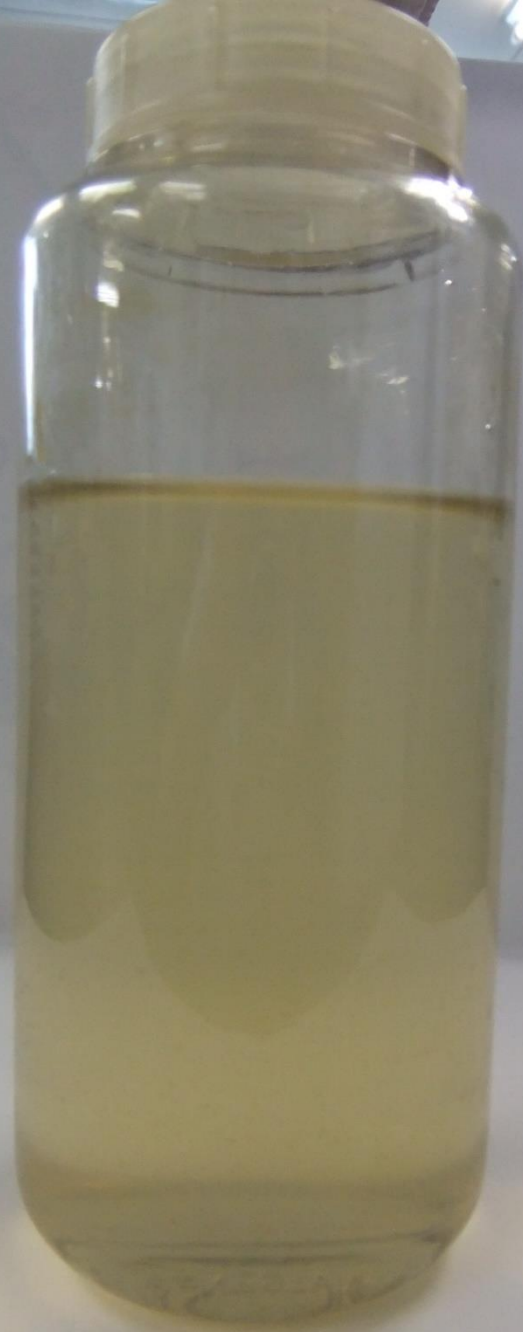


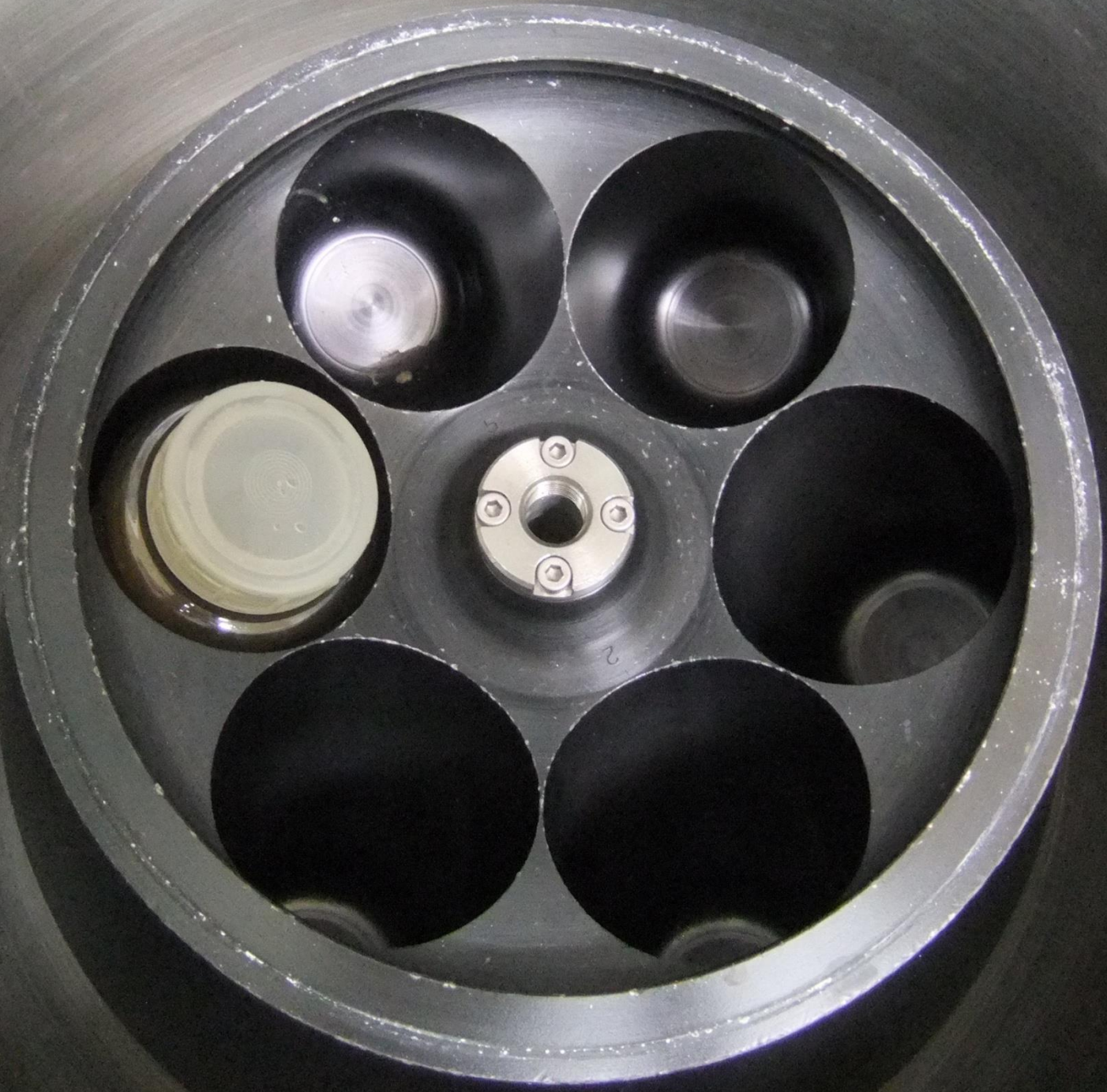
**\* 選択分離培地の違いは、例え同じ名称の培地でも、メーカーによりレジオネラの検出に大きな違いが認められる場合があるので、注意が必要である。**



## 参考情報2

遠心濃縮実施機関で  
確認してもらいたいこと  
一例











2  
3  
(株)  
第4  
任  
の  
(株)  
(株)  
4  
(株)  
64  
2 任  
3 第  
り  
(株)  
第5章  
株  
(報告)  
第6章  
認  
2 第  
(毎年  
(分別、  
第7章  
無  
管するも  
2 保  
再

附 則  
この規程は、  
附 則  
この規程は、





る。

(定義)

第2条 感染性廃棄物とは、(1) 感染症の病原体を含有するものであり、また、若しくは、付着している感染性病原体を含有するものであること、及び(2) 感染性廃棄物の管理に関する法律(以下「管理責任者」という。)及び感染性廃棄物の処理に関する法律(以下「処理責任者」という。)を指す。

第3条 所内で発生する感染性廃棄物を適正に処理する責任を負う者(以下「管理責任者」という。)を指す。

第4条 感染性廃棄物の処理方法は、(1) 滅菌滅活処理、(2) 焼却処理、(3) 埋没処理、(4) 圧縮処理、(5) 固化処理、(6) 中和処理、(7) 薬液処理、(8) 化学処理、(9) 物理処理、(10) 生物処理、(11) その他、(12) 感染性廃棄物の処理に関する法律(以下「感染性廃棄物の処理に関する法律」という。)に規定する方法によるものとする。

第5条 感染性廃棄物の処理は、これに關した担当者が自ら責任において、直ちに、次の方法により迅速に行うものとする。

(1) 滅菌滅活処理の方法

(2) 高圧滅菌滅活処理(オートクレーブ)を用いる方法(滅菌滅活処理のオートクレーブを使用する場合は、滅菌滅活処理の管理に関する法律(以下「滅菌滅活処理に関する法律」という。)に規定する。)

(3) 乾熱滅菌滅活処理を用いる方法

(4) 圧縮及び固化処理(15分以下)による方法

2 消毒処理は、消毒の回数及び回数により処理するものとする。

3 第1項の(2)、(3)及び(4)により処理した物のうち感染性廃棄物は、同項の(1)により処理するものとする。

(報告に関する規定)

第6条 感染性廃棄物は、第4条で処理した結果を、その管理、処理(感染性廃棄物の処理に関する法律(以下「感染性廃棄物の処理に関する法律」という。))に規定するものとする。

(報告)

第7条 感染性廃棄物は、毎月月初めに報告書の提出を(1) 所長、(2) 所長に報告を受けるとする。

2 感染性廃棄物は、前年度分の報告書を管理責任者が報告しなければならない。(毎年4月上旬までに施設管理課へ提出すること。)

(分別、保管及び処分)

第8条 第4条第2項で処理した感染性廃棄物の処理の責任者は、その管理、施設管理課へ連絡の上、管理責任者が指定する場所(感染性廃棄物の処理に関する法律(以下「感染性廃棄物の処理に関する法律」という。))に報告するものとする。

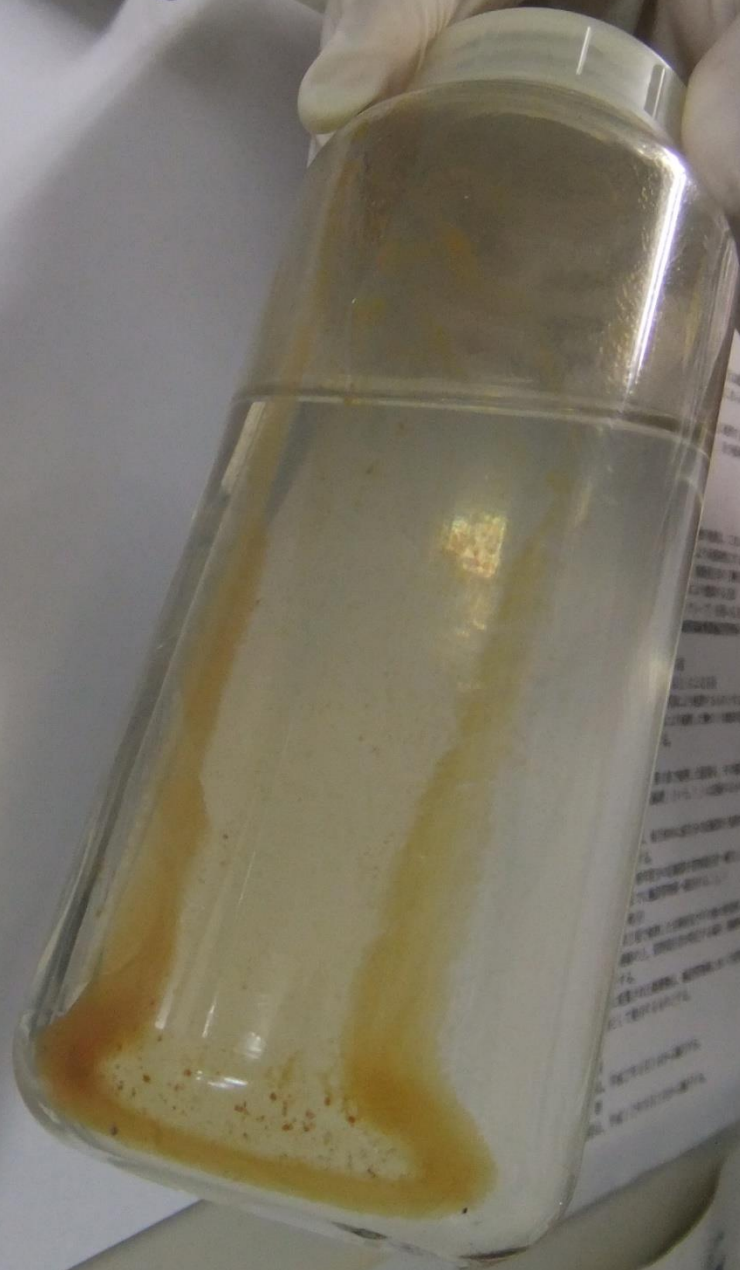
2 保管場所に記載された感染性廃棄物は、施設管理課において管理責任者が、その感染性廃棄物として処分するものとする。

附 則

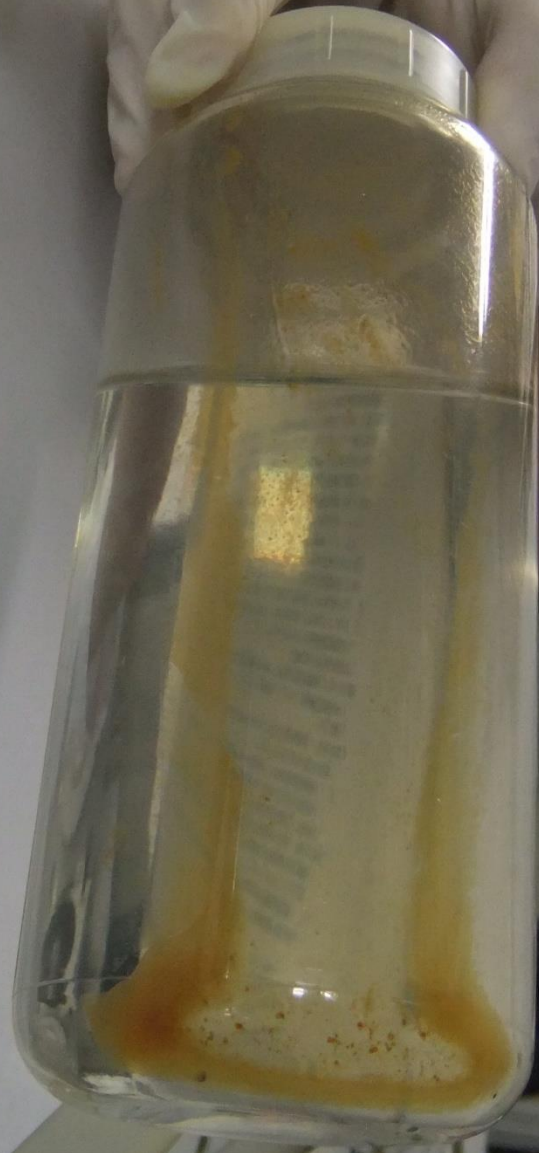
この規程は、平成2年4月1日から施行する。

附 則

この規程は、平成17年9月1日から施行する。

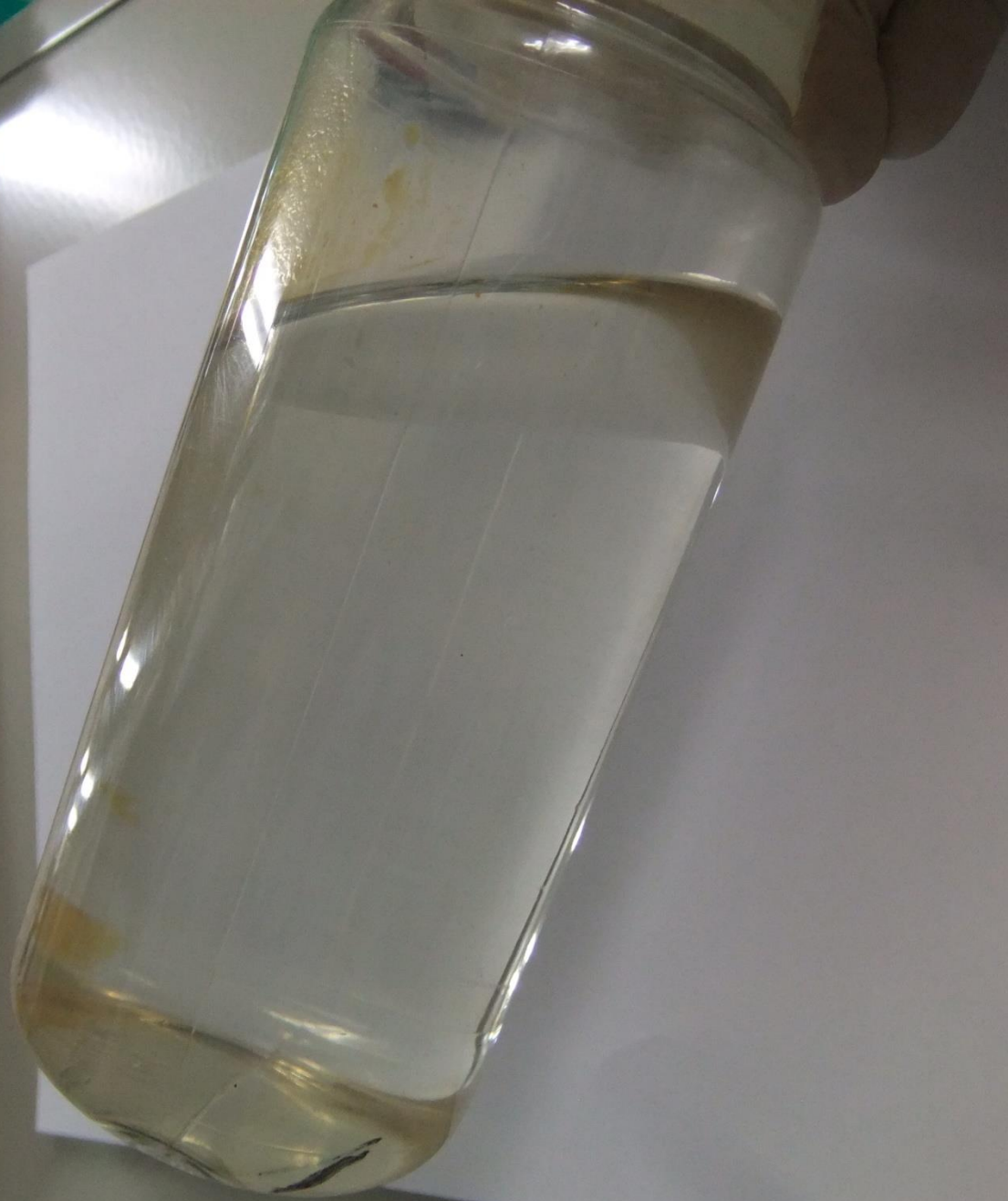




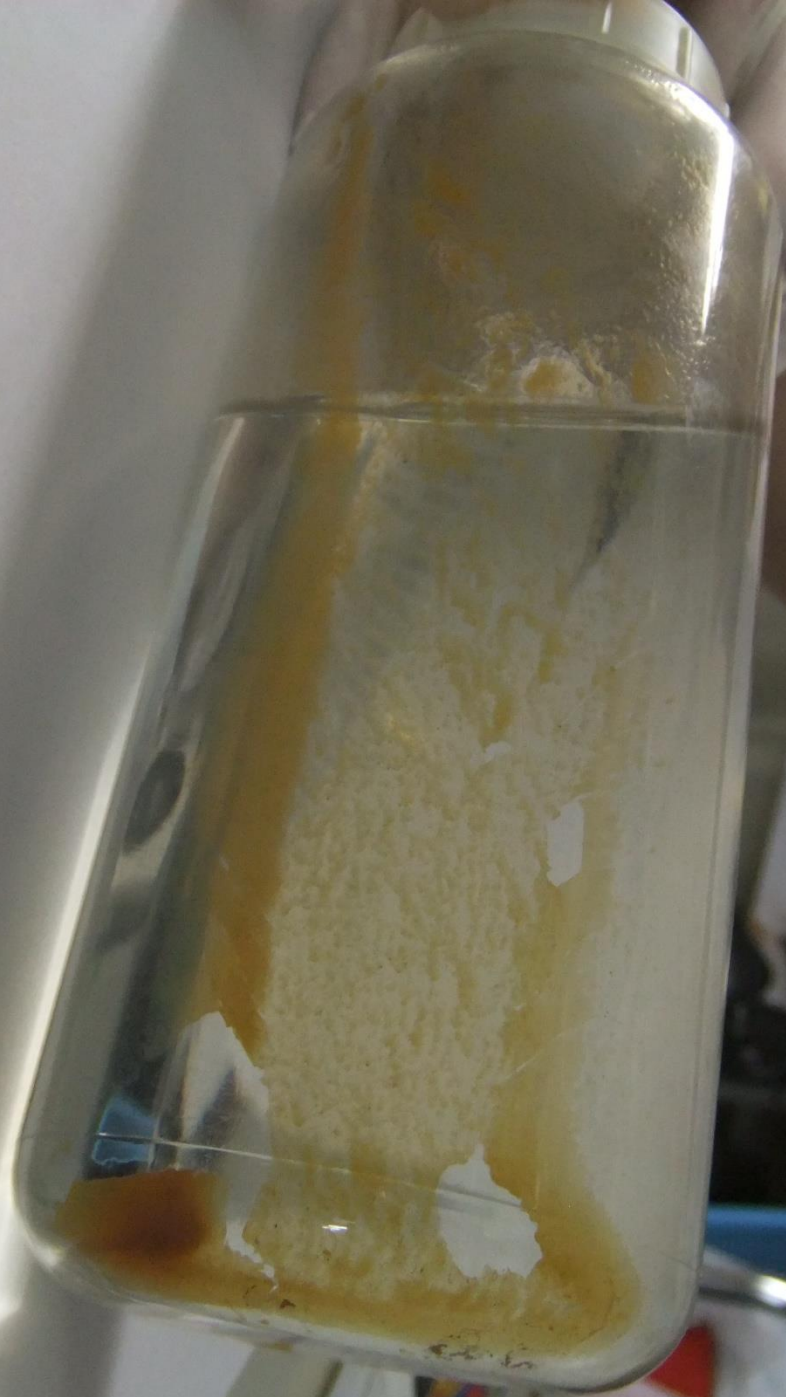




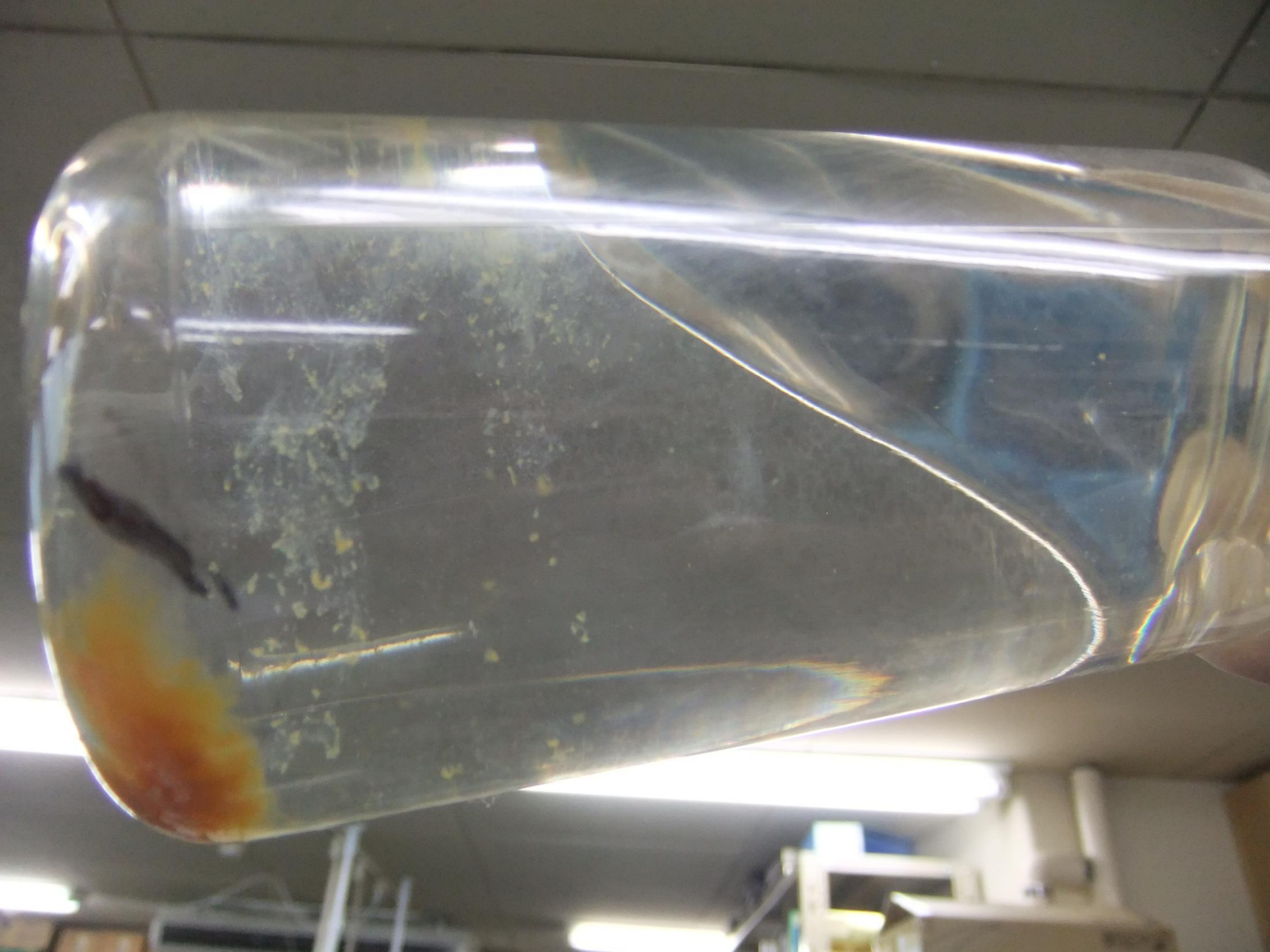
Handwritten text on a piece of paper, possibly a checklist or a list of items. The text is arranged in several rows and columns, with some words in red and blue ink. The text is partially obscured by the bottle and the lighting.



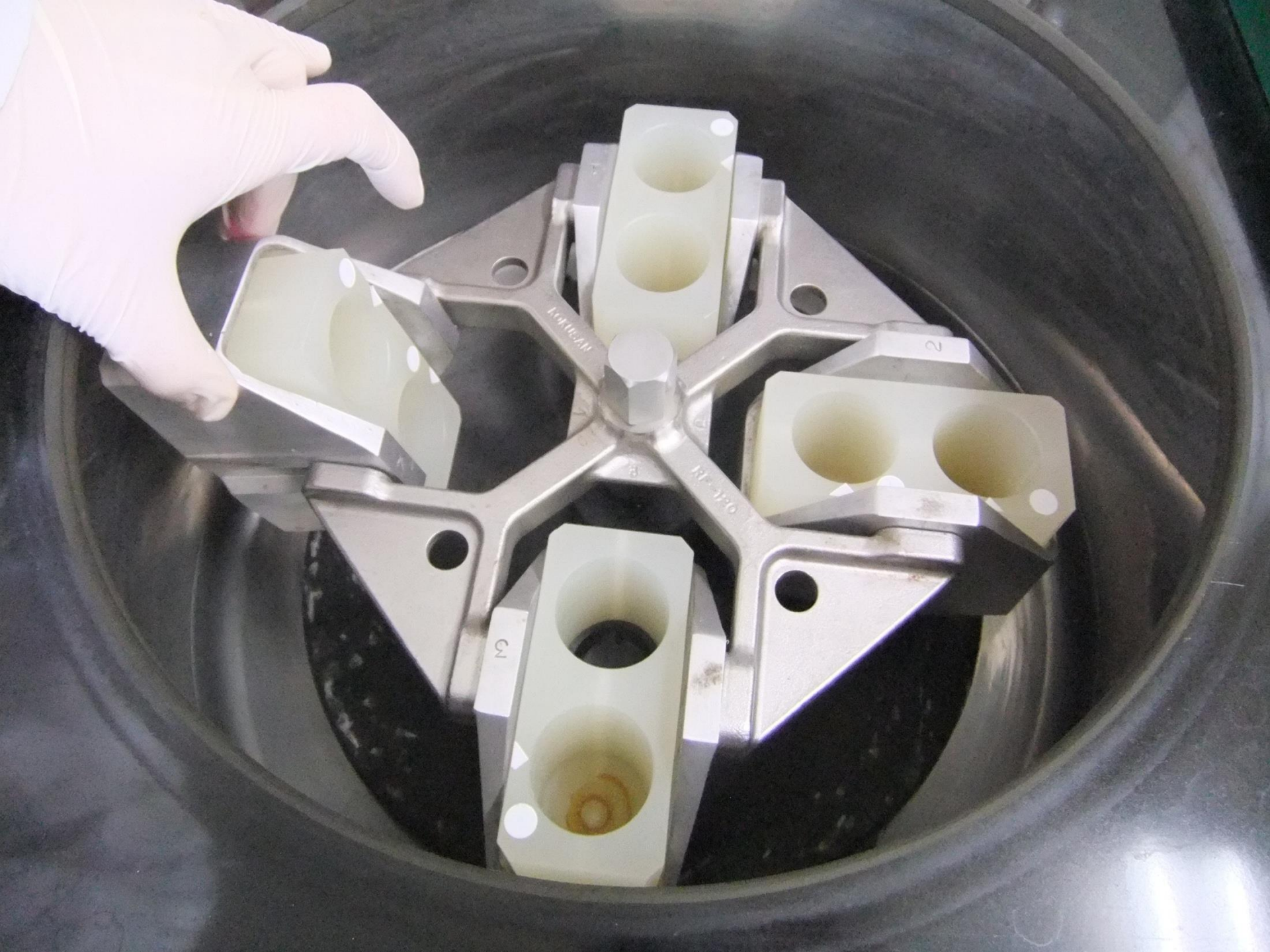






















# 普段の検査において

- 使用培地や前処理の違い、使用機材等の特徴により、検出率、検出数、検出種類に影響している可能性がある。