

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  
研究代表者：前川純子 国立感染症研究所 細菌第一部

平成 30 年度 分担研究報告書

レジオネラ属菌検査研修会の開催について

研究分担者	○長岡宏美	静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
研究協力者	漆畑 健	静岡県健康福祉部生活衛生局衛生課
	森川正浩	静岡県健康福祉部生活衛生局衛生課
	稲葉尋高	静岡県健康福祉部生活衛生局衛生課

(研究要旨)

レジオネラ属菌の検査を行っている検査機関を対象にレジオネラ属菌同定法について研修会を開催した。参加者は検査機関 15 機関 25 名、静岡県内の保健所（静岡市及び浜松市を含む）23 名であった。

研修は、講義と実習の二部構成で行った。

また、各検査機関が実施している検査方法を把握するため、事前アンケートを実施した。

講義では、検査についての解説のほか、静岡県行政担当による「静岡県のレジオネラ防止対策についての取組み」の解説の時間を設けた。また、麻布大学古畑勝則教授による「レジオネラ属菌の細菌学的特徴と汚染対策」と題した特別講演を行った。

実習では、検体の前処理方法、接種、同定方法、遺伝子検査法についての研修を行った。

事後アンケートでの参加者の評価は良好で、来年度以降も開催を望む意見が多かった。

A. 研究目的

入浴施設のレジオネラ防止対策において最も重要なのは自主管理であり、自主管理は日常のレジオネラ検査がベースとなっている。すなわち、自主検査のレベルアップが自主管理の向上につながっていくことになる。しかし、現状では検査法が多様であることから、検出率は検査機関によって大きな差が生じているのが実情である。そこで、検査方法の違いによる問題点の認識を共有するとともに、検体採取から同定・定量に至る検査技術の標準化を図るため研修会を開催した。

B. 研修内容

1. 研修対象

静岡県内の保健所に提出されるレジオネラ属菌の自主検査結果にて確認できる検査機関を調査し、県内検査機関の概要を把握した。

研修会の開催はホームページに掲載し参加希望機関を公募した。また、県内保健所に対しても開催を案内し参加を募った。

2. 研修参加機関

検査機関 15 機関 25 名、静岡県内の保健所等行政関係職員（静岡市及び浜松市を含む）23 名が参加した。なお、参加者には実施している検査方法について事前アンケートを行った。

3. 研修内容（資料 1 及び 2）

①講義（4 時間）

健康福祉部生活衛生局の行政担当からレジオネラ防止対策について、汚染事例を例に挙

げて解説を行った。

続いて、感染研で開催された「レジオネラ感染リスクシンポジウム」の伝達講習、レジオネラ検査の現状と静岡県環境衛生科学研究所のSOPに基づく検査方法について解説した。

さらに、「レジオネラ対策について～現場からの報告～」と題し保健所担当職員が実際の指導状況等について事例紹介を含め解説した。

今回は、「レジオネラ属菌の細菌学的特徴と汚染対策」と題し麻布大学古畑勝則教授による特別講演を行った。

#### ②実習（1日）

実習はバイオハザード区域で行うため、最初に、バイオセーフティー講義を行った後に、検体の前処理、同定方法及び遺伝子検査について実習した。

##### ・ 検体の前処理及び前処理

濃縮ろ過法、酸処理、熱処理の3法をデモンストレーション後に研修生が実習した。それぞれの検体は、GVPC培地に塗抹した。

##### ・ 同定方法

あらかじめ準備したレジオネラ属菌を塗抹したGVPC培地で、典型コロニーを観察した。

また、斜光観察を行い、レジオネラ属菌と他の菌との違いを観察した。

鑑別培地への塗抹を実習し、あらかじめ準備した鑑別培地でシステイン要求性の違いによるレジオネラ属菌の同定方法を実習した。

レジオネラ属菌と同定された株について、ラテックス凝集反応による血清型別試験を実習した。

また、昨年度希望の多かったPCRについても実習を行った。

#### 4. アンケート結果

参加した13の検査機関に対し、検体の採取、濃縮、前処理、培養、同定、検体数について事前アンケートを行った。

アンケート項目及び結果を資料3に示し

た。検体採取では90%がチオ硫酸ナトリウム処理を行っていた。また81.8%が検体を濃縮しており、うち60%がろ過濃縮法を行っていた。前処理は酸処理を採用している機関が54.4%と最も多く、酸処理と熱処理を併用している機関が36.4%であった。同定では、30%が斜光観察を実施していた。また、77.8%がL-システイン要求性を鑑別項目とし、44.4%の機関が抗血清による同定をあわせて実施していた。また、遺伝子検査は87.5%の機関が実施していなかった。

今回のアンケート結果から、検査機関ごとに実施している方法は様々であることが改めて確認された。

#### C. 考察

事後アンケートの結果、研修は概ね好評であった。すべての参加者が次年度の開催を希望しており、検査技術レベルを維持するためにも、研修は必要であると思われた。

事前の各機関で実施している検査法に関するアンケート結果から、レジオネラ属菌の検査方法は機関ごとに大きく異なっており、これがレジオネラ属菌の検査結果に差異を生じる原因の一つであると考えられた。今回の研修会では、静岡県環境衛生科学研究所のSOPに基づく検査法により研修を実施したが、斜光観察法は安価な機材を準備するだけで実施可能であり、同定に際しての形態観察には大変有用であるため導入を検討したいとする機関が多かった。しかし、今後も研修を継続して実施するにあたっては、標準的検査法を示すことが不可欠である。現在のレジオネラ症防止指針に準拠するのか、ISOに準ずる方法を取り入れるかなど早急に検討すべき課題であると思われる。研修の成果を検討するには精度管理体制の構築も不可欠であり、標準検査法の確立と精度管理体制の構築を進めることが、検査精度向上のために重要であることが示唆された。

【資料1】平成30年度レジオネラ属菌検査研修会（講義）次第

平成30年度 レジオネラ属菌検査研修会（講義）

日 時：平成30年11月22日（木） 13：00～17：00

場 所：静岡県環境衛生科学研究所 別館会議室

－研修次第－

13：00～	受 付	
13：10～13：15	開 会（挨拶）	
13：15～13：30	静岡県のレジオネラ防止対策についての取組み	健康福祉部生活衛生局 衛生課技監兼課長代理 漆畑 健
13：30～13：45	「レジオネラ感染リスク シンポジウム」伝達講習	健康福祉部生活衛生局衛生課 生活衛生班 稲葉尋高
13：45～14：00	レジオネラ属菌の検査方法について	環境衛生科学研究所微生物部 細菌班 村田学博
14：00～14：15	レジオネラ属菌の分子疫学解析について	環境衛生科学研究所微生物部 細菌班 水本嗣郎
14：15～14：35	レジオネラ対策について～現場からの報告～	熱海健康福祉センター 衛生薬務課 望月秀章
14：35～14：50	質 疑	
14：50～15：00	休 憩	
15：00～16：30	【特別講演】 レジオネラ属菌の細菌学的特徴と汚染対策	麻布大学大学院教授 古畑勝則先生
16：30～16：50	質 疑	
16：50～17：00	事務連絡	
17：00	閉 会	

【資料 2】平成30年度レジオネラ属菌検査研修会（実習）次第

レジオネラ属菌検査技術研修会（実習）

平成30年11月27日、29日

- 10:00～10:05 受付
- 10:05～10:15 バイオハザード講義
- 10:15～10:30 SOP 解説
- 10:30～10:40 PCR 説明
- 10:40～11:40 PCR DNA 抽出（1班1株）
- Mixture
- サーマルサイクラーへ
- 11:40～12:00 フィルターろ過（デモのみ）
- 12:00～13:00 昼 食
- 13:00～14:20 遠心法
- 各処理法の説明 酸処理、熱処理、コンラージ
- 14:20～14:40 PCR 産物 ゲルにアプライ⇒泳動
- 14:40～15:00 斜光観察、鑑別培地
- 15:00～15:10 休 憩
- 15:10～15:20 ゲル染色
- 15:20～16:00 血清型
- 16:00～16:30 PCR 写真
- 16:30～16:45 まとめ
- 16:45～16:55 質疑
- 16:55～17:00 終了挨拶