

栄研化学 微生物グループ 山日重 人

レジオネラ属菌検査法の
ワンポイントアドバイス

環境水からのレジオネラ属菌検査法の一つに選択培地を用いた分離培養法があります。

通常滅菌した容器に検水を採取して冷却遠心しますが、この時採取した検水の半分を冷所保存しておきます。遠心後上清を取り除き、その上清1mLほどで沈殿物を懸濁します。環境水中にはレジオネラ属菌以外の菌が多数存在しているので、前処理としてpH処理あるいは加温処理を行い、他の菌を抑制します。

pH処理は上記懸濁液を滅菌試験管に移し、0.2M HCl-KCl buffer(pH2.2)を加えて室温に数分間静置します。レジオネラ属菌藻類との共生および淡水アメーバなどへの寄生によって、環境水中ではかなり広範囲のpH域で生息しているといわれています。

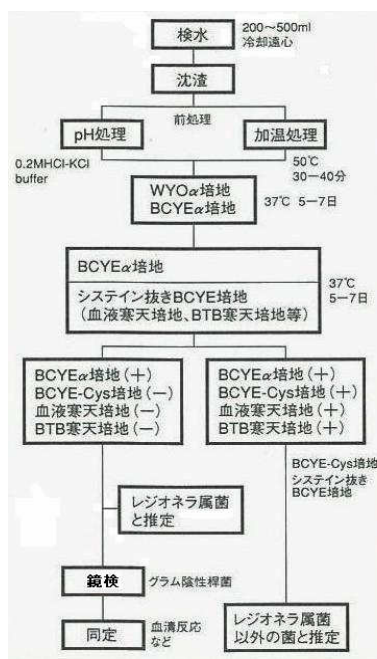
加温処理は、他の菌の汚染が非常に多く、WYO α 培地などの選択培地上にもこれらの汚染菌が多数発育し、レジオネラ属菌の検出が困難な場合に行います。遠沈で得られた懸濁液を50℃、30～40分間処理するのが効果的です。(上述の半分残した冷所保存の検水をあらためて使用します。)

pH処理あるいは加温処理した懸濁液を選択培地のWYO α 培地に塗抹して培養します。

レジオネラ属菌は肉眼で観察できる集落を形成するのに3日以上培養を要するので、培養2日以内に発育してきた集落は他の菌の可能性がります。この時、シャーレ裏面からマジック等でその集落に印をつけて区別するか、滅菌ナイフでその集落および周辺部を培地ごとえぐり取るなどして他の汚染菌の発育を抑えます。

通常7日間まで毎日培養観察を行い、レジオネラ属菌の疑いのある集落(灰白色、湿潤、光沢のあるコロニーで特有の酸臭がある)を鈎菌してシステイン抜きBCYE培地および、BCYE α 培地に画線塗抹(または接種)します。この時、培地中のシステインを鈎菌と共にシステイン抜きのBCYE培地に持ち込まないように注意します。レジオネラ属菌は発育因子としてシステインを必要としますので、その要求性により鑑別します。システイン抜きのBCYE培地の代用として血液寒天培地やBTB培地などを使用することもあります。最終的には鏡検してグラム陰性桿菌を確認し、血清反応などを行って同定します。

レジオネラ属菌の検査法としては、厚生省生活衛生局企画課監修「レジオネラ症防止指針[(財)ビル管理教育センター]」を参考にしてください。



レジオネラ属菌検査法の一例