

# C.L. information

Vol.27 2013年8月

## 特 集

- ◆ レジオネラ属菌の新たな遺伝子検査法
- ◆ 害虫紹介
- ◆ 食中毒情報



株式会社コントロール・ラボ

## レジオネラ属菌の新たな遺伝子検査法の導入

現在弊社では、水質検査におけるレジオネラ属菌の検査として培養法を用いていますが、今後新に遺伝子検査法も導入を予定しているため、両検査法について紹介させていただきます。

### レジオネラ属菌とは

レジオネラ属菌は好気性グラム陰性桿菌で、環境中では土壌や河川、湖沼などに生息しており、自然環境中の常在菌の一種です。人が生活する環境中においても、循環式浴槽や冷却塔など、大量の水を溜めて利用する場所では増殖が見られます。

このため、レジオネラ属菌が増殖しやすい場所では、レジオネラ症（レジオネラ肺炎やポンティアック熱）の原因となり、特にレジオネラ肺炎は重篤になり易く、過去には死亡者を含む大規模集団感染が発生しています。



図1 レジオネラ属菌の電子顕微鏡写真  
(静岡県環境衛生科学研究所撮影)

### 検査の目的

レジオネラ症は平成15年に感染症法で四類感染症に指定され、近年感染者数が増加傾向にあり、致死率も6%と高い値となっています。こういったことから、レジオネラ属菌が繁殖しやすい場所では定期的な検査が必要不可欠であり、温泉などの施設においては、「公衆浴場法施行条例」により年1回ないし2回以上の検査、一部のプールにおいては「遊泳用プールの衛生基準」により年1回以上の検査が義務付けられています。

## 培養法によるレジオネラ属菌の検査について

### 原理

微生物が増殖できる環境で培養を行い、目的の微生物を増やして検査するのが培養法です。水中のレジオネラ属菌をメンブランフィルターで濾過濃縮し、熱・酸処理後、レジオネラ属菌の選択培地に塗抹培養します。発育した菌の栄養要求性や抗原性を調べ、代表的な菌種と血清群が決定できます。

### 検査の流れ

- 1次検査・・・検体を濃縮、前処理後、培養し、灰白色のコロニーが発育すれば2次検査へ進みます。
- 2次検査・・・1次検査で発育したコロニーをL-システイン含有培地と不含培地に移して培養し、含有培地のみ発育したものがレジオネラ属菌です。
- 3次検査・・・2次検査で発育したコロニーをラテックス凝集試験と血清凝集試験により、代表的な菌種と血清群を確定します。

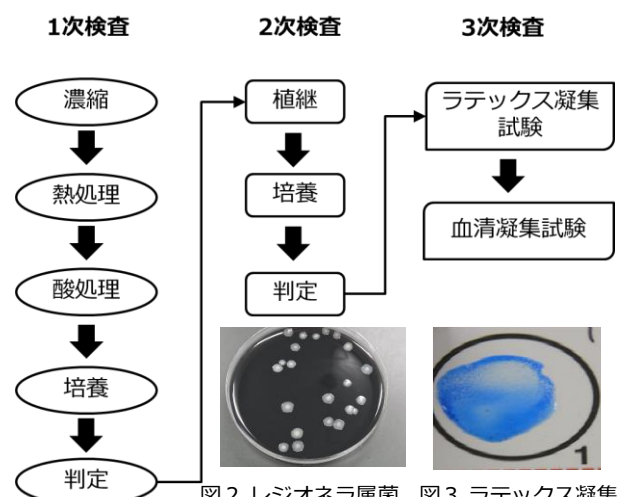


図2 レジオネラ属菌 図3 ラテックス凝集

## レジオネラ属菌の生菌遺伝子検査法(LC EMA-qPCR 法)について

現在、レジオネラ属菌の検査には培養法が用いられていますが、時間のかかる従来の培養法だけでなく、用途に合わせた迅速法が求められています。その中で新しく開発されて弊社で導入予定の「**LC EMA-qPCR 法**」について紹介したいと思います。

LC EMA-qPCR 法とは、液体培養(LC)と EMA-qPCR 法(qPCR による生菌由来遺伝子検出法)を組み合わせた検出方法です。液体培養により生菌を増殖させ、EMA 処理により死菌由来の遺伝子検出を抑制します。LC EMA-qPCR 法の基本である qPCR 法に比べ、生菌のみを検出できるより培養法に近い検査方法だと言われています。

LC EMA-qPCR 法では、「**生菌検出・迅速検出(2 日間で結果判定)・特異的検出・高感度検出・定量的検出**」といったメリットがあります。

### LC EMA-qPCR 法によるレジオネラ属菌検出の流れ

1 日目



※濃縮試料を液体培地に加えて培養することで、生菌を増加させます。

2 日目



※EMA 処理することで死菌由来の遺伝子増幅を抑制し、生菌由来の遺伝子の選択的な検出を可能にします。

### 検査法の比較

検査法	検査日数	生菌検出	死菌検出	用途例
培養法	9~10 日	+	-	標準法
遺伝子検査法 (qPCR)	1 日	+	+	衛生状態の確認
遺伝子検査法 (LC EMA-qPCR)	2 日	+	-	洗浄・消毒効果の確認

※qPCR による死菌の検出については衛生の不備と解釈することで、結果を管理に反映させることが可能である。  
(第 3 版レジオネラ症防止指針より)

LC EMA-qPCR 法は、「迅速性」と「生菌選択性」という特徴を持った検査法ですので、浴槽水等のレジオネラ属菌検査への活用が期待されており、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」で報告されています。

## 害虫紹介

### クロバネキノコバエ

一般的な知名度は決して高くありませんが、外部から建物内へ侵入するハエの代表格と言え、クロバネキノコバエ類です。クロバネキノコバエ類は全世界で2千種以上確認されている一大グループです。日本ではチビクロバネキノコバエという一種が時として大量に発生することで不快感を与え、また、室内に侵入することで異物混入の原因になる場合や農作物にまで被害をもたらすことがあります。

### 生態

クロバネキノコバエ類は非常に小さく、体長約2~4mm、体色は黒~黒褐色の種が大半です。通常は屋外に生息しており、幼虫は土壤中で腐植質を食べて生活しています。成虫は光に誘引される性質があり、建物内の照明に誘引されて侵入します。成虫の大量発生しやすい季節は、主に4~6月の特に梅雨時と、9~11月の年2回です。

### 被害

室内に侵入した成虫が異物混入の原因になります。また、幼虫が多くの農作物を食害する他、シイタケ、マッシュルームなどキノコ類も食害します。

### 対策

飛来する成虫の対策としては、シャッターや扉、窓等の開閉時間を極力短縮し、侵入させないことが最も重要です。侵入した成虫への対策としては、光誘引タイプの捕虫器による捕獲が挙げられます。また、幼虫の発生源となる腐植質を撤去することも重要で、植木鉢等の土壌を室内へ持ち込む場合は土壌から発生する可能性があるため、注意が必要です。



図4 チビクロバネキノコバエ  
*Bradisia agrestis*

## 食中毒情報

今月は、学校や各種イベントで提供された食事やお弁当を原因とした細菌性食中毒が多く発生していました。全国的に日中は気温が30℃を超える時間が長く続くなど、微生物が増殖しやすい気象条件が続いていることから、各地で食中毒警報が発表されています。今後もしばらくの間は気温の高い状況が続くことが予想されています。食中毒予防の三原則を思い出し、手洗い・洗浄、十分な加熱調理、食品の温度管理に注意して、食中毒を発生させないための取り組みをお願いします。

### 全国食中毒発生状況 (7/16~8/14 新聞発表分)

原因物質	事例	感染者数
カンピロバクター	4	23
黄色ブドウ球菌	3	103
病原性大腸菌	2	104
ノロウイルス	2	26
不明・その他	7	109

### 株式会社コントロールラボ

本社 〒651-1211 神戸市北区小倉台7-1-7  
 阪神事業部 〒658-0026 神戸市東灘区魚崎西町2-4-15  
 福岡営業所 〒816-0921 福岡県大野城市仲畑1-6-15-A棟3  
 フリーダイヤル  
**☎0120-540-643**  
 URL <http://controllabo.co.jp>

TEL: 078-582-3575 FAX: 078-582-3576  
 TEL: 078-858-6801 FAX: 078-858-6802  
 TEL: 092-575-0630 FAX: 092-586-6321

