

# レジオネラ属菌遺伝子検査システム

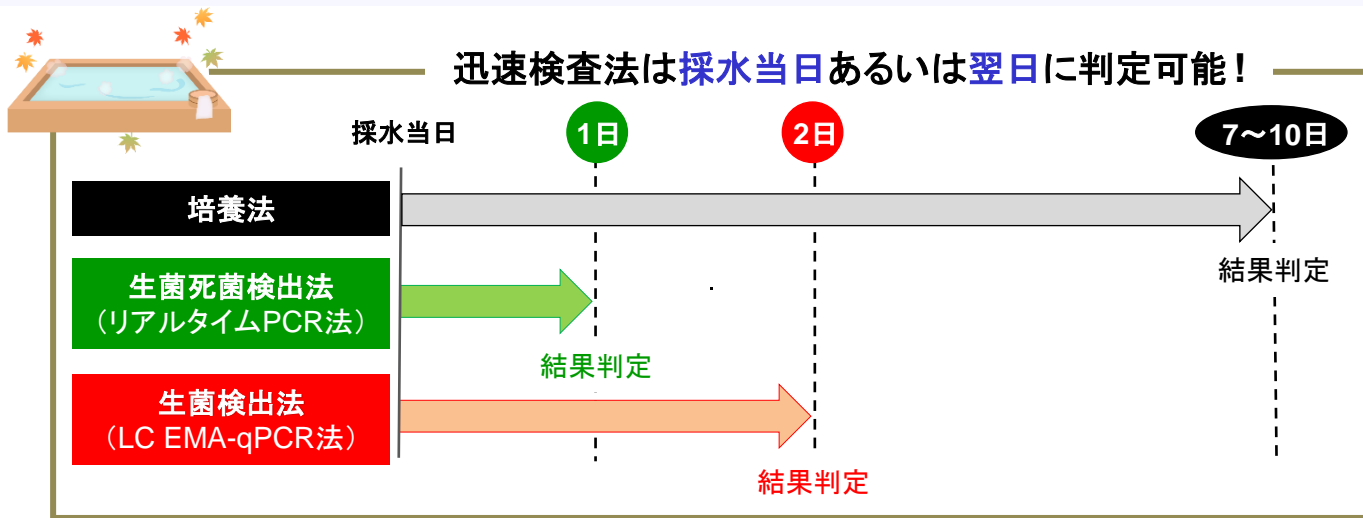
(2026年1月改訂)

## ★ レジオネラ属菌の遺伝子検査法の活用について ★

従来の培養法は、寒天平板培地上で培養可能な生菌を検査対象としており、浴槽水等に存在する生菌による汚染の有無を判定します。一方で、一般的な遺伝子検査(PCR法)では生菌のみならず死菌のDNAも検出されます(生菌死菌検出法)。

遺伝子検査法の一つであるリアルタイムPCR法は、PCR法に比べ操作の簡便さと迅速性に優れ、DNAの定量的な検出が可能な検査法です。死菌は消毒などによって生じたものであり、菌の痕跡を示しているため、検出された場合はレジオネラ対策の強化が重要であると分かります。これに対して生菌のDNAを定量的に検出するLC EMA-qPCR法は、生菌を選択的に検出する利点を備えています(生菌検出法)。生菌検出法は培養法と原理が異なるため、両者の結果が完全に一致するとは限らない点には注意が必要ですが、生菌死菌検出法に比べて危険性をよりの確に捉えることができる方法です。

いずれの遺伝子検査法であっても、培養検査前に各施設が自主的に行うスクリーニング検査として有用です。



	生菌死菌検出法 (リアルタイムPCR法)	生菌検出法 (LC EMA-qPCR法)
用途	陰性確認 スクリーニング検査	生菌の存在確認 スクリーニング検査
判定所要日数	1日	2日
特長	死菌の存在履歴から 潜在的な汚染評価	液体培養(18時間)と EMA処理の組合せにより 生菌を選択的に検出

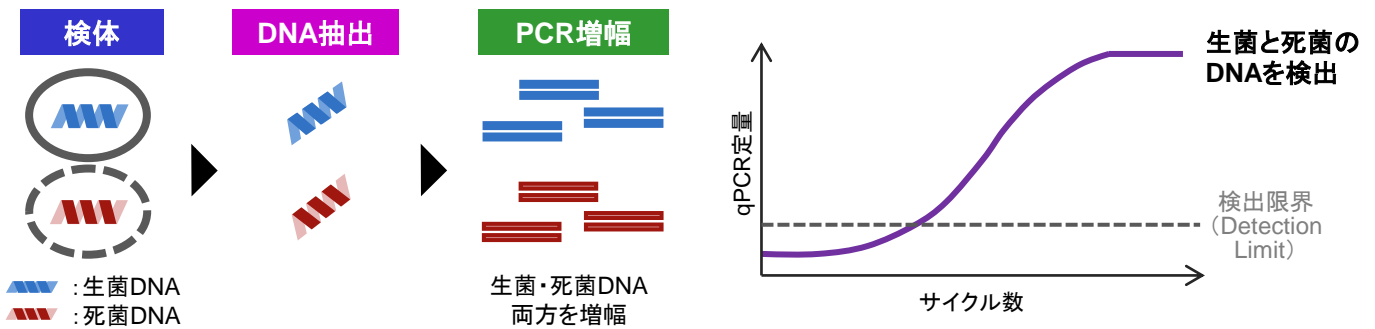


本パンフレット記載の試薬製品には、厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」他における、地方衛生研究所、国立感染症研究所、タカラバイオ他参加機関による、共同研究の成果が活用されています。

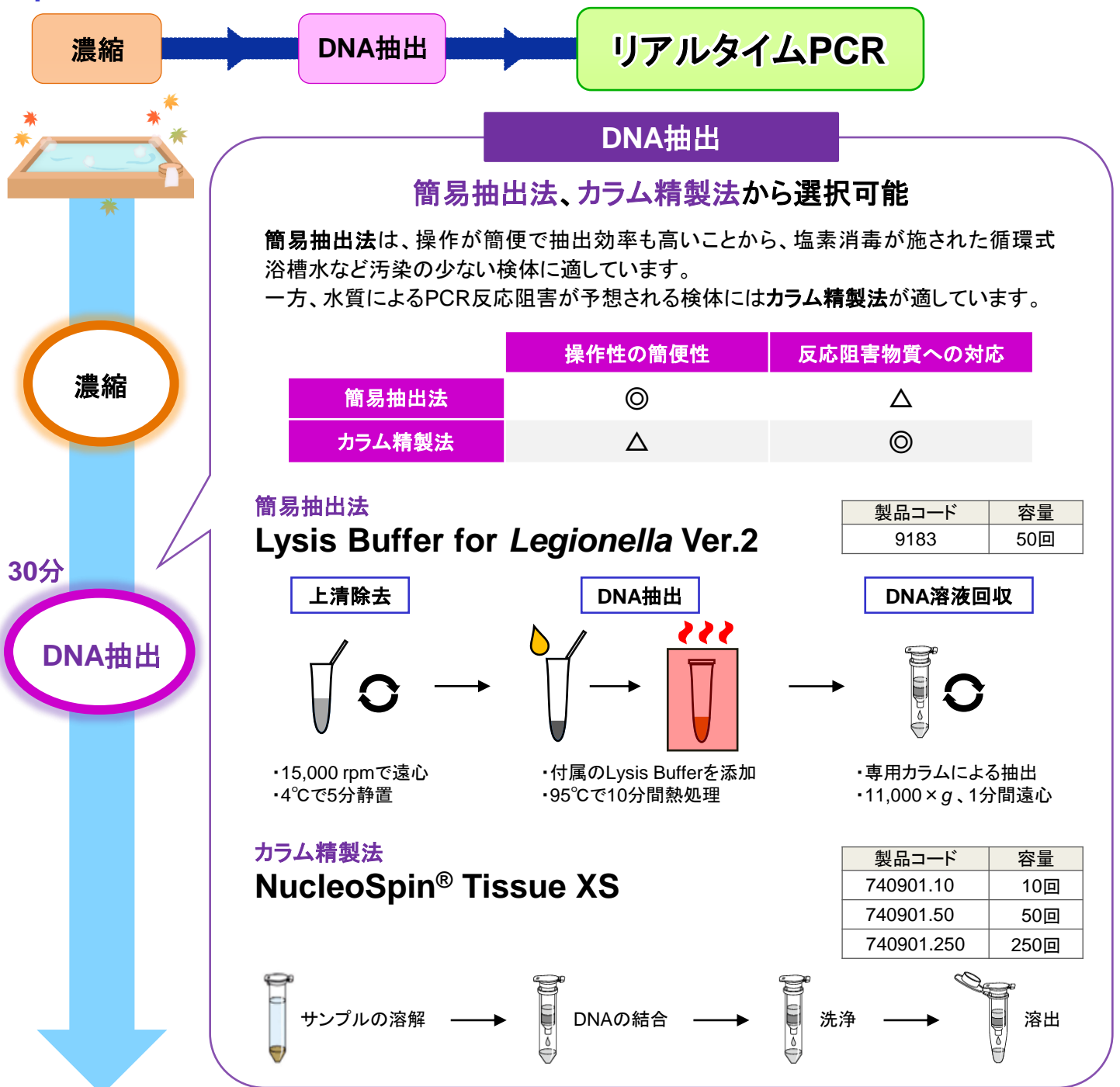
# 生菌死菌検出法(リアルタイムPCR法)

## リアルタイムPCR(qPCR)法とは

従来のPCR法に対し、増幅中のDNAをリアルタイムでモニタリングでき、DNAの定量的な検出が可能な検査法です。レジオネラ属菌検査では、生菌死菌を分けずにDNAを増幅し、迅速にレジオネラ属菌を検出します。(死菌も検出されます。)



## qPCR法のフロー



## リアルタイムPCR

### レジオネラ属菌検出キット

## CycleavePCR™ Legionella (16S rRNA) Detection Kit

製品コード	容量
CY240S	25回
CY240	50回

### ● 広範囲なレジオネラ属菌の検出をカバー

*L. Londiniensis* を含む48菌種74株でターゲット遺伝子の増幅を確認しています。検出可能な菌種リストは、取扱説明書を参照してください。

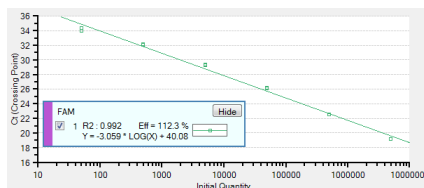
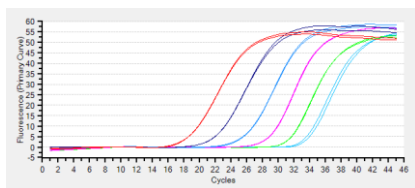
### ● インターナルコントロール(IC)による偽陰性チェックが可能

本製品には、予めインターナルコントロールが含まれています。1チューブでレジオネラ遺伝子とインターナルコントロールを同時検出することで、反応阻害に由来する偽陰性を確認することができます。

### ● キットに付属の陽性コントロールで定量可能

レジオネラ由来の16S rRNA遺伝子領域を搭載したプラスミドDNAをキットに添付していますので、リアルタイムPCR結果より定量値(コピー数)を算出可能です。検量線作成のための希釈用バッファも添付されています。

＜陽性コントロールを段階希釈した標準サンプルの反応例＞



Sample ID	Ct Avg.(CP)	Ct SD(CP)	Qty Avg.(CP)	Qty SD(CP)
11	37.33	1.061E-001	1.544E+001	1.152E+000
14	38.70	9.617E-001	6.540E+000	4.119E+000
17	--	--	--	--
20	--	--	--	--
26	36.41	2.121E-001	2.953E+001	4.395E+000
38	33.84	1.202E-001	1.804E+002	1.525E+001

未知サンプルのCt値 検量線に基づいて算出された未知サンプルの定量値

50分～

リアルタイム  
PCR



## リアルタイムPCR法の結果判定

リアルタイムPCR結果(定量値)により、検査目的に応じて結果の判定を行います。

### ■ 定量値(コピー数)の算出

キットに付属の陽性コントロールを用いた定量解析により、リアルタイムPCR結果(Ct値)から算出された定量値(16S Positive control コピー数換算値)を得ることができます。

### ■ 定量値(コピー数)から菌数(CFU)相当への換算※

リアルタイムPCRの結果として得られた16S rDNAのコピー数を用いて、菌数(CFU)相当への換算ができます。詳細は取扱説明書を参照してください。

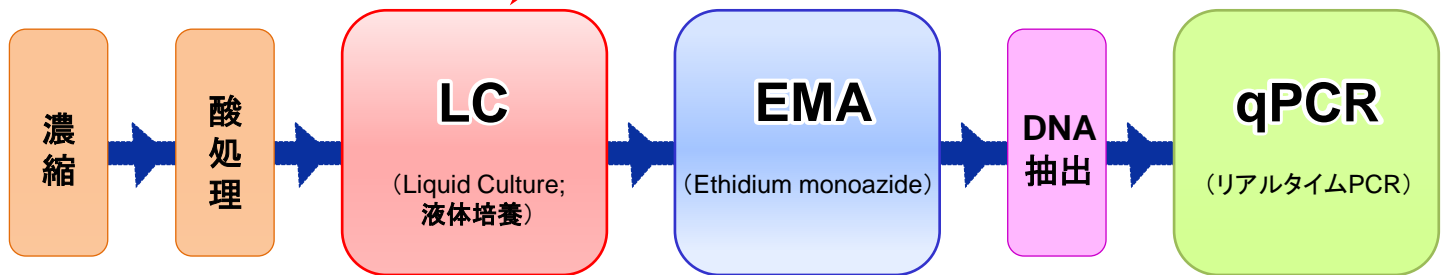
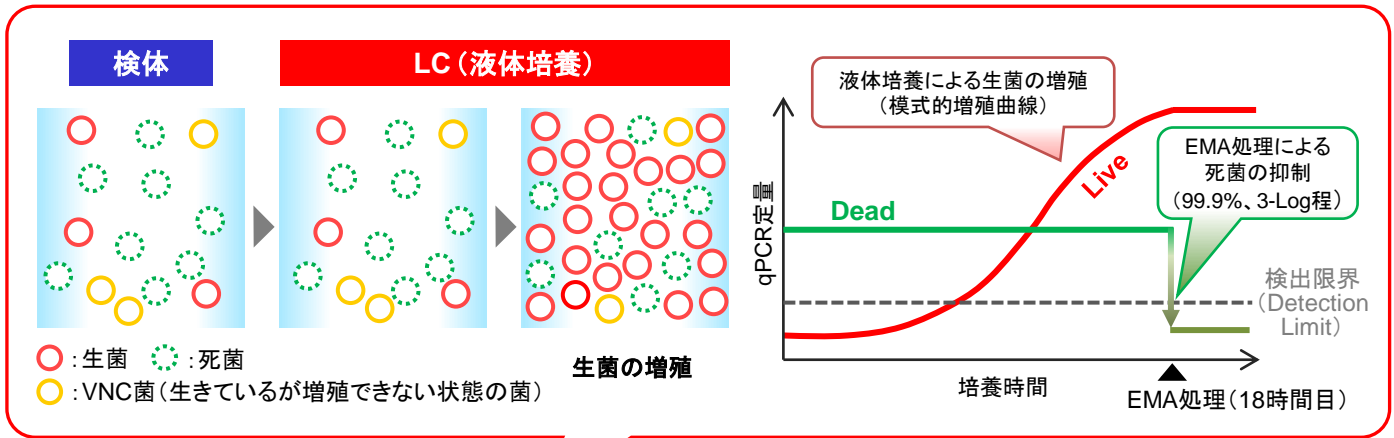
※リアルタイムPCR結果から換算した菌数(CFU)相当を検査結果として表記する際は、換算値であることを明記し、培養検査法とは区別するようご注意ください。

### ■ 定性判定

リアルタイムPCR結果(Ct値)より、陽性あるいは検出限界以下であるか判定を行います。

# 生菌検出法 (LC EMA-qPCR法)

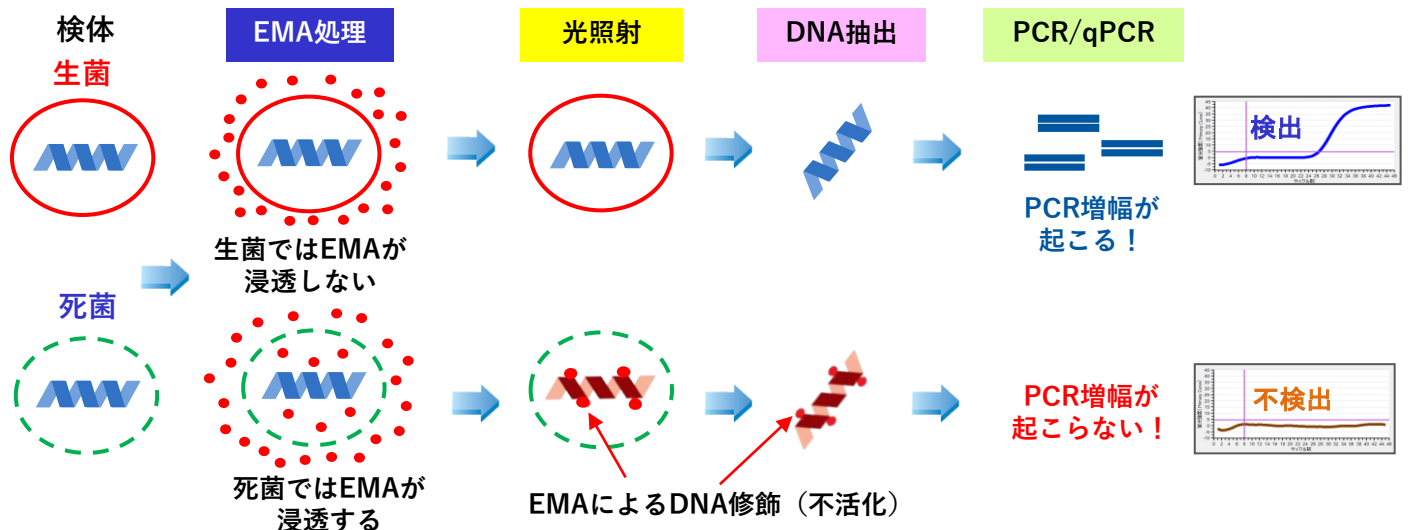
## LC EMA-qPCRの模式図



## ★ EMA-PCR法の原理

Ethidium monoazide (EMA) は光照射によりDNAと共有結合する色素であり、EMA-PCR法はこの色素の生菌と死菌における選択的膜透過性を利用することで、生菌由来DNAを選択的に検出する方法です。

細菌に対してEMA処理を行った場合、生菌では細胞膜に阻まれEMAが菌内部に浸透しないのに対し、細胞膜が損傷している死菌では、EMAが内部に浸透しDNAが修飾されることにより、PCRによる増幅が不能となります。



## LC EMA-qPCR法とは

液体培養(LC:Liquid Culture)による生菌の選択的増殖<sup>\*</sup>とEMA処理による死菌由来DNAからのPCR増幅の抑制の2つを組み合わせることで、「迅速性」と「生菌選択性」を兼ね備えた遺伝子検査法です。EMA処理のみのPCRに比べ、より選択性が高く、かつ高感度な生菌検出法と言えます。

<sup>\*</sup> MWY液体培地で36℃18時間 培養することで生菌のみが増殖し、相対的に生菌の選択性が向上します。定量性を保った状態で増菌させ、定量的な解析を行うために、一定時間(18時間)の培養を行います。

## 液体培養

液体培養に使用する培地のベース

### Legionella LC Medium Base Ver.2

Legionella LC Medium Base Ver.2 に、下記2つのサプリメント(別売)を追加し、18時間の培養に使用します。

- ・レジオネラ発育サプリメント(BCYE)(関東化学(Oxoid)、Code:713251-1)
- ・レジオネラ選択サプリメント(MWY)(関東化学(Oxoid)、Code:713255-1)

※上記以外のサプリメントの使用は想定されていませんので、購入時は品番を正確にご指定ください。



製品コード	容量
9017	93.52 ml



濃縮

酸処理

18時間

液体培養  
(Liquid Culture)

## EMA処理

EMA試薬キット

### Viable Legionella Selection Kit for LC EMA-qPCR

LC EMA-qPCR法に最適化された専用のEMA試薬です。

**Solution A-leg (LC)** : 短鎖PCR増幅にも効果的な核酸修飾反応促進試薬

**Solution B-leg (LC)** : 選択的膜透過性色素(EMA)溶液



光照射装置

### LED Crosslinker 30

EMA処理検体(1.5 ml チューブ) 30本を一度に処理できます。



製品コード	容量
EM300	一式

死菌由来のPCR増幅を抑制し、生菌由来DNAを選択的に検出

30分

EMA処理

## DNA抽出

レジオネラ属菌専用のDNA抽出試薬

### Lysis Buffer for Legionella Ver.2

※製品の詳細は、2ページをご参照ください。

製品コード	容量
9183	50回

30分

DNA抽出

## リアルタイムPCR

レジオネラ属菌検出キット

### CycleavePCR™ Legionella (16S rRNA) Detection Kit

※製品の詳細は、3ページをご参照ください。



製品コード	容量
CY240S	25回
CY240	50回

50分~

リアルタイム  
PCR

# LC EMA-qPCR法の結果判定

リアルタイムPCR結果(定量値:コピー数)を確認し、次にその値を菌数(CFU)相当に換算します。

その後、検査目的に応じて、結果の判定を行います。

## ■ 定量値(コピー数)の算出

キットに付属の陽性コントロールを用いた定量解析により、リアルタイムPCR結果(Ct値)から算出された**定量値(16S Positive Controlコピー数換算値)**を得ることができます。

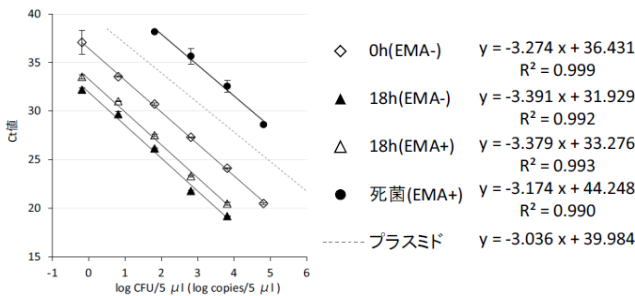
Sample Type	Sample ID	Ct Avg.(CP)	Ct SD(CP)	Qty Avg.(CP)	Qty SD(CP)
UNKN	11	37.33	1.061E-001	3.220E+000	2.938E-001
UNKN	14	38.70	9.617E-001	1.156E+000	8.616E-001
UNKN	17	--	--	--	--
UNKN	20	--	--	--	--
UNKN	26	36.41	2.121E-001	7.126E+000	1.295E+000
UNKN	38	33.84	1.202E-001	6.512E+001	6.731E+000



※Thermal Cycler Dice Real Time Systemの場合

## ● 定量値(コピー数)から菌数(CFU)相当への換算

LC EMA-qPCRの結果として得られた16S rDNAのコピー数を用いて、菌数(CFU)相当への換算ができます。



18時間培養+EMA処理後の

**レジオネラ属菌は、1 CFUあたり、**

$2^{(39.984 - 33.276)} = 104.5 \approx 100$  **コピー となります**

「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 平成24年度分担研究報告書」より引用

< アメーバ培養レジオネラ属菌のLC EMA-qPCR検量線 >

## ● 定性判定への応用

全国6か所の地方衛生研究所における、平成26~27年度に浴用施設から採取された518検体の試験実績として、平板培養法(10 CFU/100 ml)とLC EMA-qPCR法(1 CFU/100 mlを基準)には高い相関があった。

a. LC EMA qPCR法のカットオフ値1 CFU/100 ml相当

		平板培養法		計
		≥10	<10	
LC EMA qPCR法	≥1	125	82	207
	<1	15	296	311
計		140	378	518

感度 89.3%、 特異度 78.3%

「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 平成25~27年度分担研究報告書」より引用

< 平板培養法とLC EMA-qPCR法との比較 >

### 留意事項

令和元年9月19日に、厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について」(薬生衛発0919第1号)が発出されました。これは、基準項目の一つであるレジオネラ属菌の具体的な検査方法に言及されたもので、従来の培養検査法に加えて、遺伝子検査法のLC EMA-qPCR法とqPCR法が記載されました。ただし、公衆浴場のレジオネラ検査は各自治体の条例等で培養法が規定されており、遺伝子検査の結果は補助的に用いられます。遺伝子検査法の特性を有効活用する場としては、洗浄・消毒後の検水におけるレジオネラ属菌の陰性確認、平時の汚染の有無や増減を調べるといった、スクリーニング検査としての利用が挙げられます。すなわちこれらの迅速検査法は、施設が自主的な検査で衛生管理の状態を把握する方法として有用と考えられます。

# ウェブサイトのご紹介

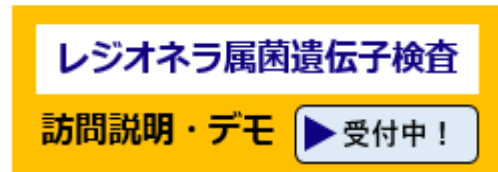
## ★ LC EMA-qPCR実験動画



実験動画はQRコードから ▶

## ★ 訪問説明・デモンストレーション

ご希望の方は右のバナーをクリックし、お申込みください。▶



## 参考情報

### <厚生労働省通知>

1. 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について」(薬生衛発0919第1号)

### <厚生労働科学研究費補助金 分担研究報告書>

2. 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) 公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究 令和2年度分担研究報告書
3. 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 平成24年度分担研究報告書
4. 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 平成25～27年度分担研究報告書

### <指針>

5. 第5版レジオネラ症防止指針(公益財団法人日本建築衛生管理教育センター)

## 遺伝子検査の活用事例

- 清掃・消毒管理された検水におけるレジオネラ属菌の陰性を確認する場合
- レジオネラ属菌の存在履歴を確認する場合
- 平板培養法と併用したスクリーニング検査として利用する場合
- レジオネラ症患者発生時における感染源追及のための検査をする場合

## <製品一覧>

	製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)	qPCR法	LC EMA-qPCR法
液体培養	<b>Legionella LC Medium Base Ver.2</b>	液体培養に使用する培地のBase	93.52 ml	9017	¥24,000		○
EMA処理	<b>Viable Legionella Selection Kit for LC EMA-qPCR</b>	LC EMA-qPCR 専用のEMA処理試薬	50回	7730	¥44,000		○
	<b>LED Crosslinker 30</b>	EMA処理用光照射装置	一式	EM300	¥200,000	○	
DNA抽出	<b>Lysis Buffer for Legionella Ver.2</b>	レジオネラ属菌専用の簡易DNA抽出試薬	50回	9183	¥21,000	○	○
	<b>NucleoSpin® Tissue XS</b>	水質によるPCR反応阻害が予想される検体に	10回	740901.10	¥8,500	(○)	
			50回	740901.50	¥38,000		
250回	740901.250	¥168,000					
リアルタイムPCR	<b>CycleavePCR™ Legionella (16S rRNA) Detection Kit</b>	リアルタイムPCR試薬。レジオネラ属菌の16S rRNA遺伝子を検出	25回	CY240S	¥42,000	○	○
			50回	CY240	¥73,000		
リアルタイムPCR装置	<b>Thermal Cycler Dice® Real Time System IV with PC</b>	標準4色、オプションで5色の同時検出に対応	一式	TP1010	¥4,500,000	○	○

※「第5版レジオネラ症防止指針」記載のEMA-qPCR用製品もご用意しています。詳しくは弊社ウェブサイトをご覧ください。

### ★ Thermal Cycler Dice® Real Time System IV なら・・・



- 基本表示もレポート出力も日本語の「完全日本語サポート」
- 検査現場での使いやすさを追求した「食品環境検査用ソフトウェア」搭載
- 出力ファイルは、「専用解析ツール」でらくらく解析！

リアルタイムPCR装置の実機を用いたデモを受付中です。お気軽にお問い合わせください。

・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。  
 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。  
 ・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。  
 ・本パンフレットに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。  
 ・本パンフレット記載の価格は2026年1月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2026年1月作成N

## タカラバイオ株式会社

営業部(東京) TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282  
 営業部(本社) TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995  
 テクニカルサポートライン TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995  
 Website <https://www.takara-bio.co.jp>  
 公式X @Takara\_Bio\_JP / [https://x.com/Takara\\_Bio\\_JP](https://x.com/Takara_Bio_JP)

取扱店