

カビ第二段階試験報告書

シリアル番号 XXXXXxx
管理番号 SIID 00000
作業完了日 202x 年 xx 月 xx 日
報 告 日 202x 年 xx 月 xx 日

極秘資料

本報告書の使用にあたっての確認事項

1. 本報告書は株式会社テクノスルガ・ラボ 技術責任者による承認済みです。
2. 研究発表（論文投稿）や特許明細書への転用を除き、本報告書の一部または全部をそのままあるいは改変して第三者へ転用などされた場合には、株式会社テクノスルガ・ラボは一切の責任を負いかねます。
3. 当社受託サービス等は、試験・研究用途を目的として販売しております。当社受託サービスを医療や臨床診断などの試験・研究目的以外へご使用される場合、これに起因する損失・損害等については、当社では一切の責任を負いかねます。

技術責任者

印

株式会社テクノスルガ・ラボ 研究センター 技術部

〒424-0065 静岡県静岡市清水区長崎 388 番地の 1

TEL : 054-349-6211 FAX : 054-349-6121

Mail : tsl-contact@tecsrg.co.jp

検体情報

検体名	SIID	受取日
SAMPLE	00000	202x 年 xx 月 xx 日
備考:		

目的

巨視的および微視的形態観察を行い、得られた結果から検体の帰属分類群を推定します。

方法

検体は *Aspergillus* 属の 1 種と推定されていることから、*Aspergillus* 属の各種文献^{1) 2)} を参考に以下の条件で培養した菌株を供試菌体としました。

1. 培養条件

- ・ 培地 Czapek Yeast Agar (CYA)
Malt Extract Agar (MEA)
Czapek Yeast Agar with 20% Sucrose (CY20S)
- ・ 培養温度 25°C (CYA のみ 37°C も実施)
- ・ 培養期間 1 ~ 4 週間
- ・ その他条件 好気培養

2. 試験内容

平板培地に培養後、コロニーの直径・色調 (コロニー表面および裏面)・表面性状・可溶性色素産生の有無等に関して、巨視的観察を行ないました。コロニー色調に関する記述は Kornerup and Wanscher³⁾ に準拠しました。また、以下をもちいて形態観察を行ないました。

- ・ 培養期間 1 ~ 4 週間
- ・ 顕微鏡 光学顕微鏡 BX51 (Olympus, Japan) (微分干渉観察含む)
実体顕微鏡 SMZ800 (Nikon, Japan)
- ・ マウント液 ラクトフェノール液

* 会社名、製品名は一般に各社の日本および各国での商標または登録商標です。

結果

1. 巨視的観察

観察の結果、各平板培養物には表 1 に示す特徴が認められました。各平板培地の巨視的観察像を図 1 に示します。

表 1. 巨視的観察結果 (1 週間)

培地	コロニー 直径 (mm)	色調※	表面性状	可溶性色素*
CYA (25℃)	65-75	表面 : Brown (5F5-6) 裏面 : Greyish yellow(2BC-5)	ビロード状 放射状のしわを形成 中心部に菌核様構造 を形成	Greyish yellow (2BC-5)
CYA (37℃)	40-46	表面 : Olive (2E-3)～ Greysih yellow (2C-3) 裏面 : Olive (2F3-5)	ビロード状 放射状のしわを形成	Greyish yellow (2B-6)
MEA	50	表面 : Olive (3F-3)～ Olive grey (3F-2) 裏面 : Yellowish white (4A-2)	ビロード状	—
CY20S	65-75	表面 : Brown (5F-4)～ Brownish grey (5F-2) 裏面 : Greyish yellow (2B-4)～ Pastel yellow (2A-4)	ビロード状	—

※() 内は Kornerup and Wanscher ³⁾ で用いられている「色」の Code No. を示します。

*「可溶性色素」の欄内の「—」は観察されなかったことを示します。

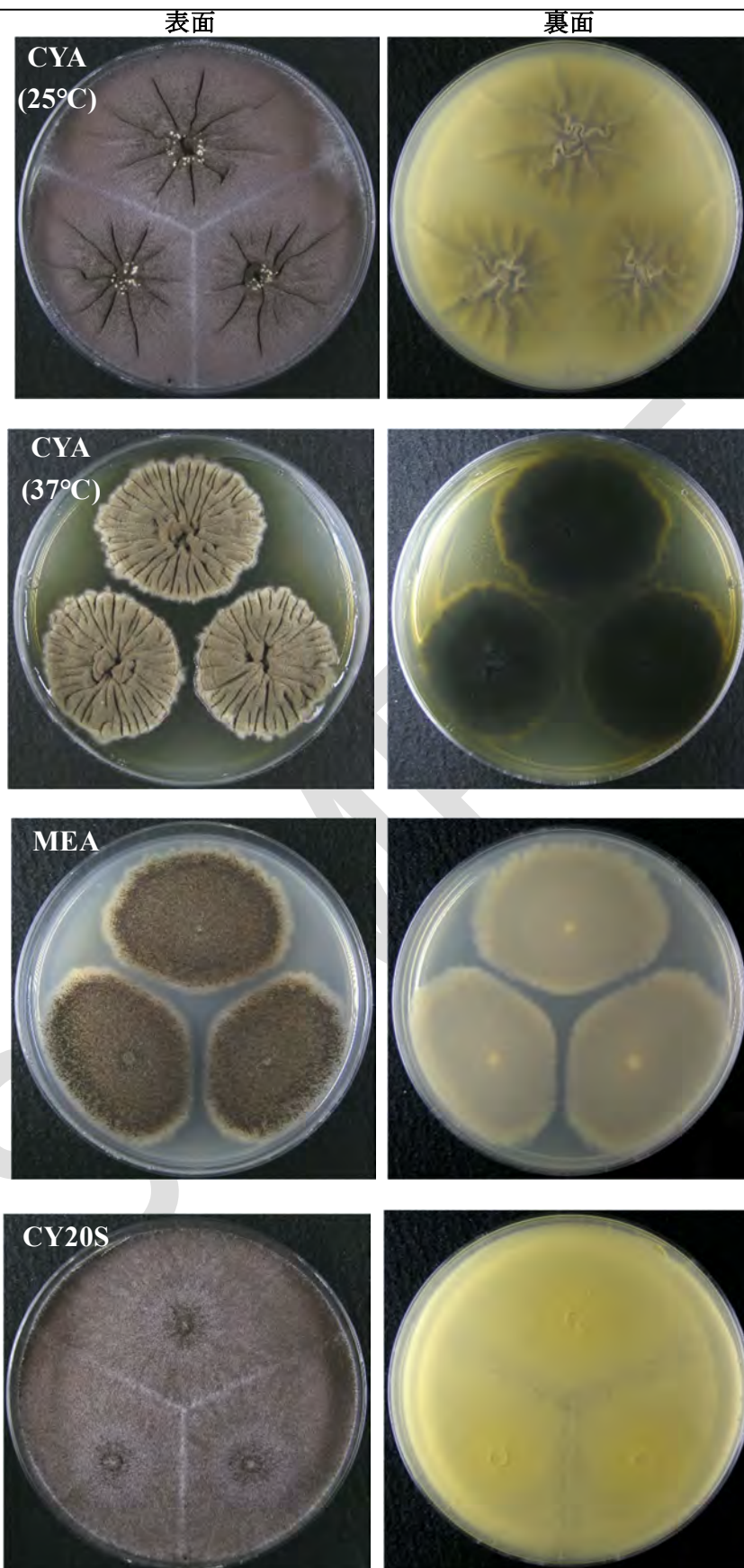


図 1. 各平板培地の巨視的観察像 (1 週間)

2. 微視的観察（形態観察）

・栄養菌糸

菌糸は寒天表面上もしくは寒天内に形成され、無色～茶褐色、有隔壁菌糸の形成が認められました。

・無性生殖器官

1) 分生子頭および柄

分生子頭は暗褐色～黒褐色、球形～亜球形になる様子が観察されました。柄（分生子柄）は栄養菌糸から直立し、高さ $100-300 \times 10 \mu\text{m}$ 、非分岐、無隔壁で、表面は平滑、無色～やや着色していました（図 2, 3）。柄の基部には L 字型から T 字型の柄足細胞の形成が認められました。頂囊は球形～亜球形、幅 $30-50 \mu\text{m}$ の形状を示しました（図 2, 3）。頂囊のほぼ全縁から分生子形成細胞であるフィアライドが形成される単列アスペルジラムの構造を示しました（図 2, 3, 4）。

2) 分生子形成細胞（フィアライド）

フィアライドは首の短いアンプル形で、 $4-5 \times 3-4 \mu\text{m}$ でした（図 3, 4）。

3) 分生子

分生子はフィアロ型分生子で、球形～亜球形、 $3-4 \times 3-4 \mu\text{m}$ 、1 細胞、表面は微棘状～粗面、無色～茶褐色でした（図 5）。

4) 菌核

菌核は CYA 培養平板の中心部の培地表面上に形成され、黄白色～白色、球形～亜球形で径約 $1000 \mu\text{m}$ でした（図 1）。

・有性生殖器官

約 1 ヶ月間の培養検体からは有性生殖器官の形成は確認出来ませんでした。



図 2. 微視的観察像 (スケールバーは 100 μm)



図 3. 微視的観察像 (スケールバーは 50 μm)

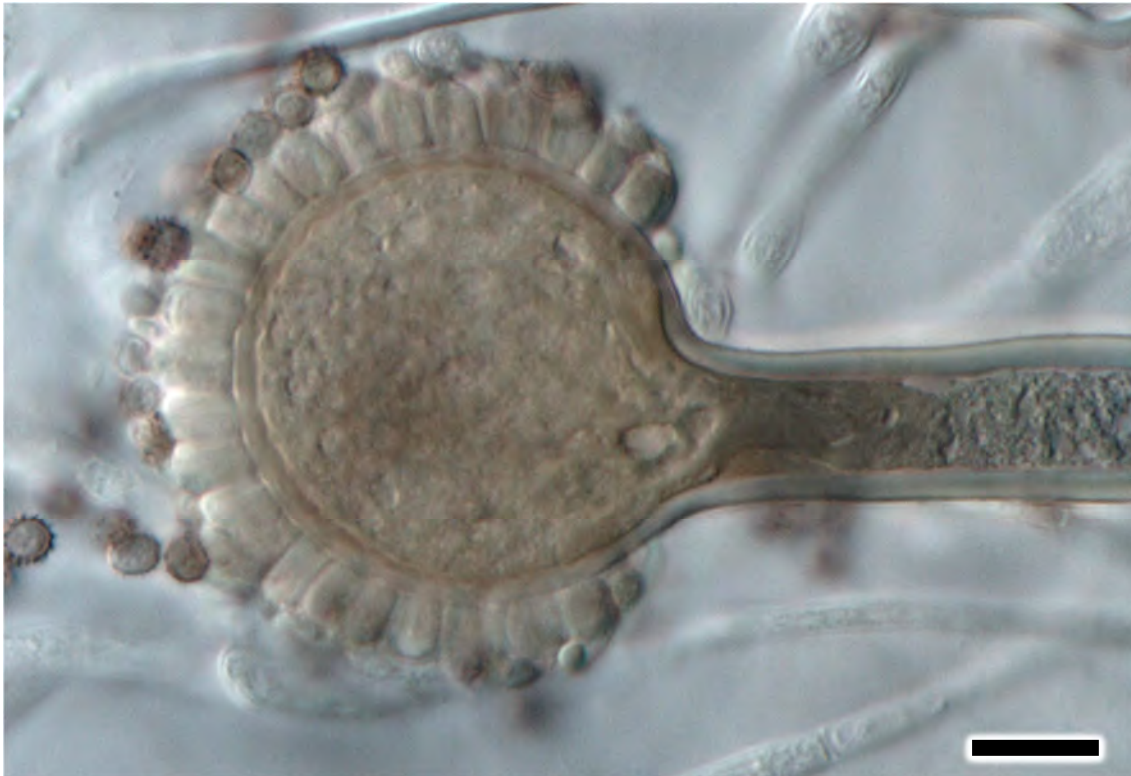


図 4. 微視的観察像：分生子形成構造（スケールバーは 10 μm ）

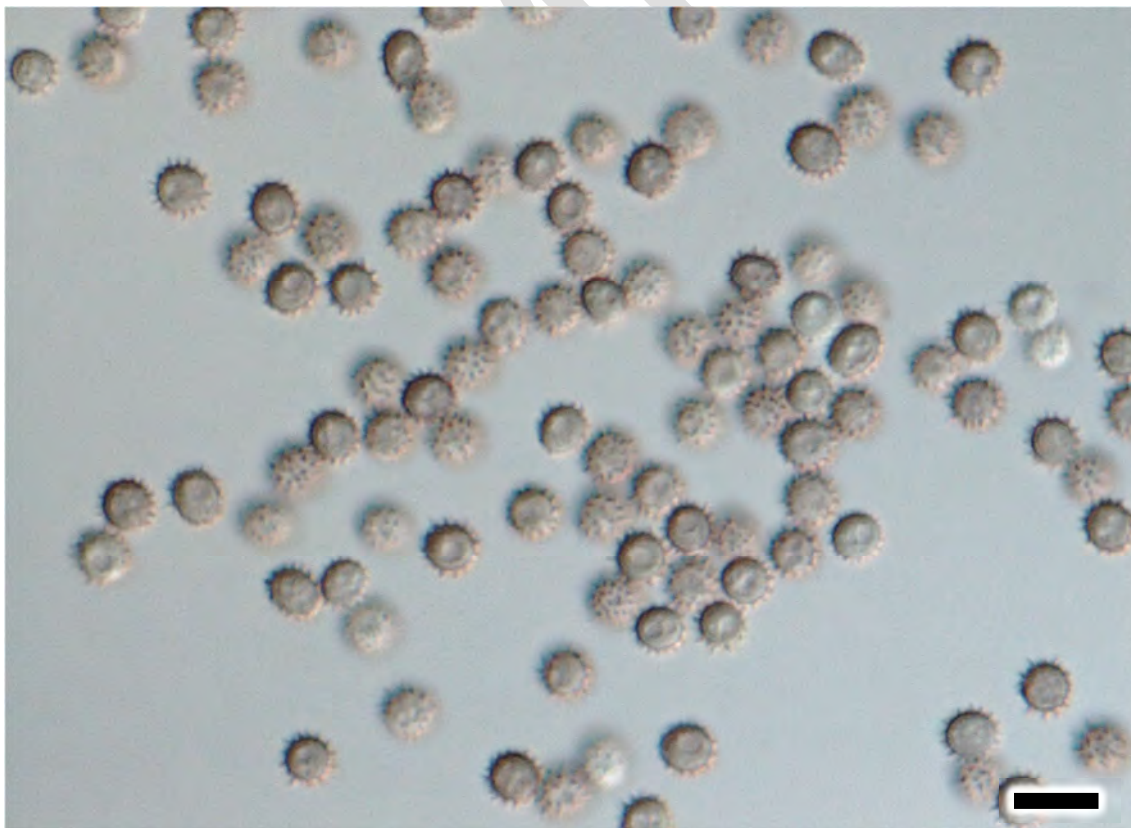


図 5. 微視的観察像：分生子（スケールバーは 5 μm ）

考察

巨視的観察および形態観察の結果、検体は各種平板培地で茶褐色またはオリーブ色、ビロード状、裏面が灰黄色～灰白色に着色するコロニー性状を示しました (図 1、表 1)。分生子頭は暗褐色～黒褐色、球形～亜球形になる様子が観察されました。柄 (分生子柄) は栄養菌糸から直立し、高さ $100-300 \times 10 \mu\text{m}$ 、非分岐、無隔壁で、表面は平滑、無色～やや着色していました (図 2, 3)。柄の基部には L 字型から T 字型の柄足細胞の形成が認められました。頂囊は球形～亜球形、幅 $30-50 \mu\text{m}$ の形状を示しました (図 2, 3)。頂囊のほぼ全縁から分生子形成細胞であるフィアライドが形成される単列アスペルジラムの構造を示しました (図 2, 3, 4)。フィアライドは首の短いアンプル形で、 $4-5 \times 3-4 \mu\text{m}$ でした (図 3, 4)。分生子はフィアロ型分生子で、球形～亜球形、 $3-4 \times 3-4 \mu\text{m}$ 、1 細胞、表面は微棘状～粗面、無色～茶褐色でした (図 5)。菌核は CYA 培養平板の中心部の培地表面上に形成され、黄白色～白色、球形～亜球形で径約 $1000 \mu\text{m}$ でした (図 1)。検体は *Aspergillus* 属の 1 種と推定されていることから、検体で観察された形態的特徴を踏まえて、*Aspergillus* 属の各種文献^{1) 2) 4) 5) 6) 7)}に記載されている検索表により、本検体の種までの帰属分類群を推定致しました。その結果、検体は *Aspergillus* 属の中でも *Aspergillus* 属 *Circumdati* 亜属 *Nigri* 節の 1 菌種 *Aspergillus aculeatus* の特徴^{4) 6) 7)}にほぼ一致していると考えられました。

以上のことから、今回の形態観察の結果において、検体を *Aspergillus aculeatus* と同定いたします。

まとめ

検体名	SIID	帰属分類群	バイオセーフティレベル
SAMPLE	00000	<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka	レベル 1

バイオセーフティレベルについて

菌類についてのバイオセーフティレベルの分類指針は、菌株保存機関や文献により若干異なりますので、本報告書においては Atlas of clinical Fungi⁸⁾ を参考に示します。

レベル	内容
GRAS	食品にひろく応用利用されている危険性の少ない生物。
1	無脊椎動物に棲息、共生する腐生菌または植物病原菌。ヒト（動物）への感染は、偶発的、表在性であり、非深部性あるいは軽症である。
2	基本的には無脊椎動物に棲息するが、ヒト（動物）組織内においても比較的生育性を示す菌種。重度の免疫不全患者では、深部性かつ日和見感染性の真菌症を引き起こす。また、表在性の感染を引き起こす病原菌も、本レベルに分類される。
3	健常人でさえも、重篤な深在性真菌症を引き起こす可能性のある病原菌。

本報告書に付随する電子データ一覧

データ内容	形式
画像	jpg

補足

1. 本報告書における学名表記は Dictionary of the fungi 第 10 版⁹⁾ のウェブ版である Index Fungorum に基づいています。
2. バイオセーフティレベル (BSL) は、当該種に対し定められています。従って、本報告書で示す検体の BSL はあくまでも目安であり、お預かりした検体の帰属分類群の推定が困難な場合には BSL が示せないこともあります。BSL は最低でもレベル 1 となりますが、レベル 1 であっても日和見感染が報告されている種もあり、その安全性を保障するものではありません。また、検体の近縁菌種の BSL が 2 以上である場合、その検体は同等の取扱いをされることをお勧めいたします。本報告書でお知らせした BSL は、菌株保存機関である ATCC (American Type Culture Collection)、CBS (Westerdijk Fungal Biodiversity Institute) および Atlas of clinical Fungi⁸⁾ に依ります。また、当該菌種の BSL に関する情報が見当たらない種については「不明」と表記しています。
3. 本報告書に関するご質問等につきましては、株式会社テクノスルガ・ラボ 研究センター 技術部までお問い合わせください。

引用文献

- 1) **Klich MA.** *Identification of common Aspergillus species.* Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures; 2002.
- 2) **Raper KB, Fennell DI.** 1965. *The genus Aspergillus.* Baltimore: Williams & Wilkins; 1965.
- 3) **Kornerup A, Wanscher JH.** *Methuen handbook of colour, 3rd edition.* London: Eyre Methuen; 1978.
- 4) **Al-Musallam A.** Revision of the black *Aspergillus* species. Ph.D. Thesis. University of Utrecht; 1980.
- 5) **Samson RA, Noonim P, Meijer M., Houbraken J, Frisvad JC, Varga J.** Diagnostic tools to identify black aspergilli. *Stud Mycol* 2007;59:129–145.
- 6) **Iizuka H.** Study on the morphology and classification of the violet-black Aspergilli. Part 1. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan* 1953;27:801–809.
- 7) **Tzean SS, Chen JL, Liou GY, Chen CC, Hsu WH.** *Aspergillus and related teleomorphs from Taiwan (Mycological Monograph No. 1).* Hsinchu: Food Industry Research and Development Institute; 1990.
- 8) **de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ.** *Atlas of clinical fungi, 2nd edition.* Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures; 2000.
- 9) **Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA.** *Dictionary of the fungi, 10th edition.* Wallingford: CAB International; 2008.