外部環境からの混入防止対策はもちろんのこと、現時点では適切に日常的な塩素消毒を行うことが不可欠であると考える。特に本施設で検出された *L.micdadei* は、遊離残留塩素濃度 0.15mg/L で検出されていることからも、湯口水及び浴槽水の遊離残留塩素濃度を常時 0.20mg/L 以上保持しなければならないと考える。

なお、本調査においてレジオネラ属菌が検出された施設は、所管保健所により適切な衛生管理指導が行われている。

【その他】

今回調査対象とした施設の大半が、通常の衛生管理の一環で行うレジオネラ属菌の自主検査においては検出されなかった施設であった。しかしながら、少なくとも本調査で湯口、浴槽水ともに検出された 4 施設では、恒常的にレジオネラ属菌が浴槽水に存在していた可能性が高いと言わざるを得ない結果と考える。施設管理者は自主検査の結果を指標に、自施設の衛生管理方法の善し悪しを判断している場合が多いことから、今後、各検査機関における検査手技の統一などを含め、的確な精度管理が今日的な課題と思われる。

また、現在は、指定管理者により管理されている施設が増えている。今回アンケート調査により自施設の衛生管理状況の回答を求めたが、施設間において衛生管理に対する意識に大きな違いが認められた。

近年、入浴施設のレジオネラ症集団感染事例が続発し、平成１５年に公衆浴場における衛生管理要領等が改正された。このため、循環式浴槽では浴槽水の消毒方法が明記され、レジオネラ属菌の規制が徹底された。しかしながら、掛け流し式温泉では、泉質により塩素消毒が行えない場合があり、安全性の確保がはかられているか不確定な要因がある。

厚生労働省が示している「循環式浴槽おけるレジオネラ症防止対策マニュアル」によれば、酸性泉にはレジオネラは棲息しないとの記述や、「レジオネラの知識と浴室管理」では、酸性域（PH5.0 以下）ではレジオネラが棲息しにくいと記述されている。循環系を持たない温泉施設でレジオネラ属菌の増殖を抑える管理方法を構築する一助として、酸性泉を利用する掛け流し式温泉の実態調査をおこなった。

調査対象

管内の酸性ー硫酸塩泉２カ所、単純硫黄泉１カ所、酸性・含硫黄ー硫酸塩泉６カ所の計９カ所の温泉施設において浴槽水・湯口水を採取し検査を実施した。細菌検査については、掛け流し式温泉実態調査　細菌検査マニュアルに従い実施した。有機物の指標として TOC（全有機炭酸）及び過マンガン酸カリウム消費量を上水試験法に準じて測定した。湯口水の泉質分析についてはアクアス株式会社つくば総合研究所に依頼した。また、拭き取りが可能な施設については、湯口周辺、浴槽表面を拭き取りＡＴＰ簡易測定器（ルミテスターPD-10N キッコーマン）を用いて ATP を測定した。

結果および考察

採水した温泉のｐＨを測定した結果、９箇所の浴槽水（湯口）の pH は平均 2.6±0.3 であり、浴槽水湯温の平均温度は 43.0±2.1℃であった。

細菌検査の結果、浴槽水及び湯口水からはレジオネラ属菌、アメーバ、抗酸菌及び緑膿菌は検出されなかった。また、大腸菌及び大腸菌群は、すべての検体が 3MPN/100ml 未満であった。一般生菌数も、浴槽水及び湯口水のすべての検体が 30CFU/ml 未満であった。従属栄養細菌（42℃）は、湯口水の７検体（77.8%）、浴槽水の７検体(77.8%)から検出された。それぞれの平均菌数は、$3.0\times10^{5}$CFU/ml 及び $1.0\times10^{6}$CFU/ml であった。

黄色ブドウ球菌は、３施設から（浴槽水２検体及び湯口水１検体）検出されたが、MPN 値は最大で 15MPN/100ml であった。TOC 値は、浴槽水で 1.1±0.3mg/L、湯口水では 1.0±0.3mg/L でありいずれも 0.5mg/L 以上であった。また、過マンガン酸カリウム消費量は、浴槽水 12.8±1.8mg/L、湯口水 12.1±2.0mg/L であった。

湯口水の泉質分析の結果、全硬度は 347.9±65.5mg/L、硫酸イオンは 504.4±97.2mg/L 、シリカは 118.0±62.9mg/L、銅は 0.05mg/L 未満、溶存酸素 1.7±1.0mg/L であった。一方、鉄は 1.1±1.3mg/L、マンガンは 3.6±1.5mg/L、亜鉛は 0.2±0.1mg/L であった。泉質分析の結果から、全硬度及び硫酸イオンの数値が高く、マンガンと亜鉛を含むことからレジオネラ菌が検出されにくいものと考えられた。　ATP 量を測定した結果、湯口周辺の RLU 値は平均 85746.0±111185.0、浴槽表面は、74168.0±92210 と極めて高い値であったことから、清掃が十分おこなわれていないことが考えられた。

今回調査を実施した温泉施設のほとんどは、貯湯タンクを持たずに、源泉から湯を引き、掛け流す方式を取っており、一部の源泉の温度が高い場合には、沢水を加水していた。浴槽水の完全換頻度は一部施設を除くと１週間に１回はおこなっていたが、浴槽水の TOC 値は高い値を示していた。また、浴槽水の次亜塩素酸ナトリウム等の薬剤を用いた消毒はおこなっていなかったが、レジオネラ属菌及び宿主アメーバ等が検出されなかった。このことから、利用源泉がｐH3 以下の酸性泉を利用する施設については、十分な湯量をもって従来の掛け流し式をとっていれば、浴槽水の消毒をおこなわなくても管理目標値を達成していることがわかった。

しかしながら、湯口水及び浴槽水から従属栄

養細菌が検出されることや、レジオネラ菌が検出される傾向にある TOC 値 0.5mg/L 以上の検体がみられることから、レジオネラ属菌が増殖するための要因は揃っていると考えられた。また、浴槽の材質が木製であたり、清掃しにくい石岩を組んだ構造であるにもかかわらず、清掃方法がブラシ清掃のみであったため、ATP 簡易測定器を用いた値でも高い RLU 値を示す施設がほとんどであった。今回、酸性泉を利用する施設であっても、浴場及びその付帯設備の衛生管理及び維持管理について注意し、潜在的な危害の排除することは必要であると考えられた。

＜自治体実態調査報告書５＞

## １．調査の目的

掛け流し式温泉において、浴槽水が最も汚染された状態の病原微生物量及び有機物量を把握することを目的として、微生物学的検査、現地調査、及び泉質調査項目の検査等を行った。

## ２．検査項目

微生物学的検査（レジオネラ属菌、アメーバ、一般細菌数、従属栄養細菌、大腸菌、大腸菌群、抗酸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌）、現地調査（湯温、pH、残留塩素、溶存酸素、遊離二酸化炭素）、泉質調査項目（pH、電気伝導率、全硬度、Ca 硬度、Mg 硬度、鉄、マンガン、塩化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオン、亜硝酸イオン、シリカ、アンモニウムイオン、銅、亜鉛、TOC、遊離二酸化炭素）

## ３．採取検体

管内の掛け流し温泉２施設

A 施設

浴槽水（内湯）、湯口水

B 施設

浴槽水（露天風呂）、湯口水

## ４．泉質（源泉温度）

A 施設

単純泉（59.5℃）

B 施設

酸性・含硫黄-アルミニウム・カルシウム硫酸塩泉（51.0℃）

## ５．調査及び方法

本研究班作成マニュアルに基づき、施設調査及び細菌検査、温泉分析検査を行った。

## ６．結果

### ①施設状況

A 施設

浴槽の材質が木であるが、浴槽は小さい。配湯管は GPN 管。ブラシ清掃及び水洗い、薬剤使用で清掃状態良好。換水時間１時間、換水率 100%

B 施設

硫黄泉（硫化水素型）であるため、源泉から木製桶を流下させ、空気に触れることにより、硫化水素ガスを抜いている。このため、浴槽湯口では湯温が下がっており、加水はしていない。浴槽の材質が石であり、配湯管は木管。ブラシ清掃及び水洗い、薬剤使用で清掃状態良好。換水時間３時間、換水率 100%

### ②細菌検査結果

表１に示すようにいずれの検体からもレジオネラ属菌及び抗酸菌は検出されなかった。A 施設の浴槽水からアメーバ、大腸菌、大腸菌群、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌が検出された。

## ７．まとめ

A 施設

浴槽温度が高いので、ホースで水道水を導入し、入浴者が適宜加水を行っている。また、浴槽が小さく、ブラシ、薬剤等を使用し、清掃状況は良好であった。浴槽の材質は木で配湯管は定期的に水圧洗浄されている。このように、衛生管理が十分におこなわれているためか、レジオネラ属菌は検出されなかった。しかし、

人由来微生物の緑膿菌や黄色ブドウ球菌などは検出されている。

B 施設

源泉温度は高いが、源泉から浴槽までの配湯管が長く、その行程において温度が下がり、浴槽での加水は行っていない。硫化水素濃度が高いため、浴室は開放で露天風呂のような状態になっている。ブラシ、薬剤等を使用し、清掃状況は良好であった。浴槽水の pH が 2.8 と酸性が強く、従属栄養細菌以外の微生物はレジオネラ属菌を含めすべて未検出であった。

今回調査を行った 2 施設においては、衛生管理は良好に行われていた。

表 1　施設の検査結果（抜粋）

| 施設 | 採取場所 | レジオネラ属菌 CFU/100mL | アメーバ PFU/100mL | 一般細菌 CFU/mL | 従属栄養細菌 CFU/mL | 大腸菌 MPN/100mL | 大腸菌群 MPN/100mL |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 湯口 | <10 | <2 | $1.1\times10^{2}$ | $1.5\times10^{3}$ | <3 | <3 |
| | 浴槽 | <10 | 4 | $1.8\times10^{3}$ | $9.3\times10^{3}$ | 9.2 | 23 |
| B | 湯口 | <10 | <2 | 0 | $7.2\times10$ | <3 | <3 |
| | 浴槽 | <10 | <2 | 0 | $3.6\times10^{3}$ | <3 | <3 |

| 施設 | 採取場所 | 抗酸菌 CFU/100mL | 緑膿菌 MPN/100mL | 黄色ブドウ球菌 MPN/100mL | TOC mg/L | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 湯口 | 0 | <3 | <3 | 1.4 | 6.9 |
| | 浴槽 | 0 | 150 | 28 | 2.7 | 7.0 |
| B | 湯口 | 0 | <3 | <3 | 0.5 | 2.7 |
| | 浴槽 | 0 | <3 | <3 | 1.0 | 2.7 |

<自治体実態調査報告書6>

## 1. 調査対象および検体採取

管内における掛け流し式温泉施設を対象として、注湯口水、浴槽水の微生物実態調査を行った。

検体採取期間：平成18年12月

対象施設：掛け流し式温泉公衆浴場　7施設

供試検体：各施設から、それぞれ注湯口水（施設によっては源泉）、浴槽水を合わせて2～5検体、合計20検体を供試した。

## 2. 検査方法

掛け流し温泉実態調査細菌検査マニュアルに従い、レジオネラ属菌、アメーバ、大腸菌、大腸菌群、抗酸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌の検査を行った。

## 3. 結果

1) レジオネラ属菌の検出結果

レジオネラ属菌は7施設中2施設(28.6%)、浴槽水13検体中2検体(15.4%)から検出された。源泉2検体、注湯口水5検体からは検出されなかった。分離されたレジオネラ属菌はすべて *Legionella pneumopila* であり、血清型は施設BからⅠ型、施設DからⅣ、Ⅴ型が検出された。菌数は、10～40 CFU/100ml であった。

2) アメーバの検出結果

アメーバ：7施設中7施設（100%）、浴槽水13検体中11検体（84.6%）から検出された。源泉、注湯口水からは検出されなかった。検出されたアメーバ類として *Hartmannella*、*Naegleria*、*Vannellan* が多く見られ、菌数は3～45 PFU/100ml であった。

3) その他の微生物の検出結果

- 一般細菌数：浴槽水13検体のうち、細菌数$10^4$/ml が3検体、$10^3$/ml が4検体、$10^2$/ml が4検体であった。
- 従属栄養細菌数：浴槽水13検体のうち、細菌数$10^4$/ml が8検体、$10^2$/ml が4検体であった。
- 大腸菌/大腸菌群：7施設中6施設、浴槽水13検体中10検体からそれぞれ検出された。
- 抗酸菌：検出されなかった。
- 緑膿菌：7施設中5施設、浴槽水13検体中9検体から検出された。
- 黄色ブドウ球菌：7施設中7施設、浴槽水13検体中10検体から検出された。

## 4. 考察

今回の調査では、2施設（施設B・施設D）2検体からレジオネラ属菌が検出された。

ⅰ）アメーバとの相関について

レジオネラ属菌が検出された2検体ともにアメーバの検出が高く、レジオネラ属菌検出の要因となったものと考えられる。

ⅱ）その他の微生物との相関について

今回の調査では、比較的多くの検体から大腸菌/大腸菌群、緑膿菌、黄色ブドウ球菌などが検出された。検体によっては高値を示したものもあったが、レジオネラ属菌との明らかな相関は認められなかった。

ⅲ）残留塩素濃度について

今回調査した7施設中2施設（28.6%）が塩素消毒を行っており、そのうち1施設（施設D）からレジオネラ属菌が検出された。しかし、いずれの施設においても残留塩素濃度は0.1mg/L以下と低値であり、塩素消毒効果は低かったものと考えられる。

ⅱ）浴槽の材質について

7施設における浴槽の材質は、6施設がタイルや自然石、1施設が松板であった。そのうちレジオネラ属菌が検出されたのは施設B（タイル）と施設D（松板）であった。施設Dについては、松板間にレジオネラ属菌が住み着き、消毒や清掃によっても除去できなかったものと考えられる。

| 施設名 | 採取地点名称 | 微生物学的検査 | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | レジオネラ属菌 | | | アメーバ | 一般細菌数 | 従属栄養細菌(42°C) | 大腸菌 | 大腸菌群 | 抗酸菌 | 緑膿菌 | 黄色ブドウ球菌 |
| | | 菌数(CFU/100ml) | 種 | Lp血清型 | (PFU/100ml) | (CFU/ml) | (CFU/ml) | (MPN/100ml) | (MPN/100ml) | (CFU/100ml) | (MPN/100ml) | (MPN/100ml) |
| A | 湯口 | <10 | | | <2 | 7 | 6.0×101 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |
| | 浴槽水(浅湯) | <10 | | | 5 | 2.1×104 | 2.3×104 | 1100 | >1100 | <10 | 21 | 460 |
| | 浴槽水(深湯) | <10 | | | 5 | 1.6×104 | 1.9×104 | 93 | 240 | <10 | 23 | 27 |
| B | 湯口 | <10 | | | <2 | 0 | 1.2×101 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |
| | 浴槽水(内湯) | <10 | | | <2 | 2.1×104 | 2.8×104 | 9 | 23 | <10 | 23 | 9 |
| | 浴槽水(寝湯) | 10 | Lp | I群 | 24 | 3.0×103 | 2.6×104 | 9 | 9 | <10 | <3 | <3 |
| C | 源泉 | <10 | | | <2 | 2 | 5 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |
| | 浴槽水(家族風 | <10 | | | <2 | 7 | 2.2×102 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |
| | 浴槽水(男) | <10 | | | 7 | 6.7×103 | 2.6×104 | 43 | 93 | <10 | >1100 | 23 |
| | 浴槽水(女) | <10 | | | 4 | 7.7×103 | 4.0×104 | 43 | 43 | <10 | 10 | <3 |
| D | 湯口 | <10 | | | <2 | 0 | 0 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |
| | 浴槽水(男) | 40 | Lp | IV、V群 | 45 | 1.3×103 | 7.4×104 | 240 | 460 | <10 | 1100 | 460 |
| E | 源泉 | <10 | | | <2 | 0 | 5 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |
| | 浴槽水(男) | <10 | | | 3 | 3.1×102 | 8.0×102 | 43 | 93 | <10 | 7 | 8 |
| | 浴槽水(女) | <10 | | | 18 | 4.5×102 | 9.3×102 | 23 | 43 | <10 | 3 | 460 |
| F | 湯口 | <10 | | | <2 | 1 | 1 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |
| | 浴槽水(男) | <10 | | | 22 | 5 | 1.0×101 | <3 | <3 | <10 | <3 | 4 |
| G | 湯口 | <10 | | | <2 | 0 | 5 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |
| | 浴槽水(内湯) | <10 | | | 14 | 3.4×102 | 6.2×104 | 93 | 240 | <10 | 460 | 23 |
| | 浴槽水(露天) | <10 | | | 4 | 1.5×102 | 5.1×102 | <3 | <3 | <10 | <3 | <3 |

＜自治体実態調査報告書7＞

## 目的

掛け流し式温泉施設における微生物汚染の実態を明らかにするとともに、浴槽水の温泉成分との関係を明らかにすることを目的に、管内の掛け流し温泉1施設の浴槽水及び湯口の湯について調査を行った。

## 調査方法

平成18年10月15日（月）に管内の掛け流し温泉施設1施設の浴槽水及び湯口の湯を採取し、理化学検査及び細菌学的検査を実施した。

理化学検査の項目は、湯温、pH、残留塩素濃度（以上現地調査）、溶存酸素、遊離二酸化炭素、TOC、アンモニア、その他の温泉成分とし、後３者についてはアクアス（株）において実施された。細菌学的検査の項目は、レジオネラ属菌、宿主アメーバ、一般細菌数、従属栄養細菌数、大腸菌数、大腸菌群数、黄色ブドウ球菌数、緑膿菌数、抗酸菌とした。各菌種の検査法は、研究班で作成した細菌検査マニュアルに従った。

## 結果

結果の概要を表に示した。泉質はナトリウム塩化物炭酸水素塩で、加水及び加温はされておらず、湯口の湯温は48℃、浴槽水の湯温は39℃であった。浴槽水の塩素消毒は行っていないという聞取り調査どおり、残留塩素は浴槽水、湯口の湯ともに検出されなかった。

レジオネラ属菌は浴槽水、湯口の湯ともに検出されなかった。宿主アメーバ及び抗酸菌についても同様であった。一般細菌数については、浴槽水では湯口の湯に比べ高い値を示した。従属栄養細菌、大腸菌、大腸菌群、緑膿菌、黄色ブドウ球菌については、湯口の湯では検出されなかったが、浴槽水では検出された。

## 考察

今回、出来るだけしまい湯の時点での採水が望ましいとされていたが、入浴者数があまり多くない平日の午後の採取となり、レジオネラ属菌は不検出という結果であった。しかし、一般細菌数や大腸菌数が多いことから、浴槽水はかなり汚染されていると考えられる。今回の調査ではレジオネラ属菌は検出されなかったが、浴槽水からその他の細菌はかなり多く検出されたことから、清掃方法や消毒方法について再考すべきと思われる。

また、浴槽水中の一般細菌数、従属細菌数等が、高値にもかかわらず、レジオネラ属菌が検出されなかった原因については不明である。緑膿菌が多数検出されたことと何らかの関わりがあることも考えられる。

表　実態調査の結果

| 試料No. | | 1 | 2 |
|---|---|---|---|
| 施設名 | | A | A |
| 採取地点名称 | | 浴場(男) | 浴場(男)注湯口 |
| 種類 | | 浴槽水 | 注湯口 |
| 湯温 | (℃) | 39 | 48 |
| pH | | 7.1 | 6.7 |
| 残留塩素濃度 | (mg/L) | <0.1 | <0.1 |
| 溶存酸素 | (mg/L) | | 2.82 |
| 遊離二酸化炭素 | (mg/L) | | 164.8 |
| レジオネラ属菌 | (CFU/100ml) | <10 | <10 |
| アメーバ | (PFU/100ml) | <1 | <1 |
| 一般細菌数 | (CFU/ml) | 15000 | 6 |
| 従属栄養細菌(42℃) | (CFU/ml) | 11000 | <0.1 |
| 大腸菌 | (MPN/100ml) | 930 | <3 |
| 大腸菌群 | (MPN/100ml) | 930 | <3 |
| 抗酸菌 | (CFU/100ml) | <1 | <1 |
| 緑膿菌 | (MPN/100ml) | 240 | <3 |
| 黄色ブドウ球菌 | (MPN/100ml) | 4 | <3 |

<自治体実態調査報告書 8>

【方法】調査対象施設は、循環系の配管を持たない毎日完全換水をしている管内 10 施設（A～J）とした。調査は平成 18 年 10 月～11 月に行った。検査材料は理化学検査用として人の入浴の影響を受けていない換水直後の浴槽水を採水し、細菌学的検査用として入浴者のピーク時の浴槽水およびその湯口を採水した。

検査項目はレジオネラ属菌、一般細菌数、従属栄養細菌数、大腸菌群数、大腸菌数、緑膿菌数、黄色ブドウ球菌数、抗酸菌、アメーバ数とした。検査方法は掛け流し式温泉実態調査　細菌検査マニュアルに準じて行った。ただし、レジオネラ属菌の濃縮にはフィルターろ過法を用い、分離培養平板として WYOα寒天平板、GVPC 寒天平板、MWY 寒天平板を併用した。

理化学検査については、アクアス株式会社つくば総合研究所に委託した。

【結果】結果の概要を表 1 に示した。10 施設中 7 施設（70%）、20 検体中 9 検体（45%）からレジオネラ属菌が検出された。浴槽水は 10 検体中 6 検体（60%）、湯口は 10 検体中 3 検体（30%）から検出され、このうち 2 施設は浴槽水と湯口ともに検出された。分離されたレジオネラ属菌は、B 施設以外はすべて *L.pneumophila* であった。主な血清群は SG1、SG 6 が 4 ヶ所から、SG5 が 3 ヵ所から、SG3、SG4 が 1 ヵ所から検出された。（同一施設から複数の血清群が検出されている。） B 施設から検出されたレジオネラ属菌は、国立感染症研究所において *L.sainthelensi* と同定された。本菌は WYOα寒天平板には発育不良で、GVPC 寒天平板、MWY 寒天平板からよく検出され、培養日数も 7 日以上を要した。

一般細菌数、従属栄養細菌数は、全施設で浴槽水に比べ湯口の菌数は少なかったが、湯口から従属栄養細菌が $10^3$～$10^4$/ml 検出される施設が 4 施設あった。

大腸菌群、大腸菌ともに湯口からは検出されなかった。浴槽水からの大腸菌群は、3MPN/100ml 未満が 3 施設、100MPN/100ml 以上検出される施設が 4 施設あった。一方、大腸菌は、3MPN/100ml 未満が 4 施設、100MPN/100ml 以上検出される施設が 3 施設あった。大腸菌群、大腸菌ともに検出された施設は 6 施設あった。

緑膿菌については、3MPN/100ml 未満が 4 施設、100MPN/100ml 以上検出される施設が 2 施設あった。浴槽水、湯口ともに検出された施設が 1 施設あった。

黄色ブドウ球菌については、湯口からは検出されず、すべて浴槽水からの検出であった。3MPN/100ml 未満が 4 施設、100MPN/100ml 以上検出される施設が 3 施設あった。D 施設からはエンテロトキシン A 産生、H 施設からはエンテロトキシン C 産生株が検出された。分離された株はすべて MSSA であった。

抗酸菌は、3 施設（30%）の浴槽水から検出された。

アメーバは 6 施設（60%）から検出されたが、レジオネラ属菌が検出された施設とは一致しない施設があった。

【考察】今回は、秋の行楽客の入浴者が数多く見込まれる夕方から夜にかけて採水し、調査を実施した。レジオネラ属菌は 7 施設から検出され、pH1.4 の酸性泉の浴槽水、湯口からも検出された。浴槽水と湯口とのペア検体での調査結果から、浴槽水の汚染の約 60%は浴槽洗浄等のバイオフィルム対策が不十分であることが推測された。一方、1 施設の湯口から緑膿菌が検出された以外、湯口から大腸菌群、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌は検出されなかったのに対し、多くの浴槽水からはこれらの菌が検出された。これらの菌は入浴者が持ち込むものと考えられており、今回の調査でもそのことが裏付けられる結果が得られた。浴槽でのバイオフィルム定着を防止するためには、浴槽の材質と泉質に応じた洗浄方法の確立が望まれる。

表1　細菌汚染実態調査

| 施設名 | 泉質 | PH | 採水箇所 | レジオネラ属菌 CFU/100ml | WYOα CFU/100ml | 一般細菌数 CFU/ml | 従属栄養細菌数 CFU/ml | 大腸菌群 MPN/100ml | 大腸菌 MPN/100ml | 緑膿菌 MPN/100ml | 黄色ブドウ球菌 MPN/100ml | 抗酸菌 | アメーバ /ml |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | マグネシウム・ナトリウム炭酸水素塩泉 | 6.7 | 浴槽 | 100 | 0 | 15,000 | 32,000 | 240 | 240 | <3 | 15 コV;Ent(-) | 検出せず | 2 |
| | | | 湯口 | <10 | 0 | 440 | 490 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |
| B | 酸性-含硫黄・鉄・アルミニウム-カルシウム-硫酸塩泉 | 1.4 | 浴槽 | 30 | 0 | 680 | 890 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出 | 0 |
| | | | 湯口 | 15 | 0 | 1 | 310 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |
| C | 単純温泉 | 7.8 | 浴槽 | 10 | 0 | 64,000 | 48,000 | 43 | 43 | 93 | <3 | 検出 | 14 |
| | | | 湯口 | <10 (5) | 0 | 230 | 10,000 | <3 | <3 | 43 | <3 | 検出せず | 0 |
| D | 単純温泉 | 8.4 | 浴槽 | 500 | 0 | 13,000 | 80,000 | 23 | 23 | 38 | 240 コIV;EntA | 検出 | 18 |
| | | | 湯口 | <10 | 0 | 910 | 18,000 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |
| E | マグネシウム・ナトリウム-炭酸水素塩・硫酸塩泉 | 6.8 | 浴槽 | 50 | 雑菌 | 5,100 | 580,000 | 460 | 240 | 9.2 | 240 コIII, V;Ent(-) | 検出せず | 0 |
| | | | 湯口 | <10 | 0 | 2 | 80 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |
| F | カルシウム・ナトリウム・マグネシウム-炭酸水素塩・硫酸塩泉 | 6.3 | 浴槽 | <10 (5) | 0 | 28 | 130 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |
| | | | 湯口 | <10 | 0 | 6 | 1 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |
| G | マグネシウム・ナトリウム炭酸水素塩泉 | 6.5 | 浴槽 | <10 | 0 | 38 | 65 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 4 |
| | | | 湯口 | <10 | 0 | 26 | 8 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 3 |
| H | 単純温泉 | 8.2 | 浴槽 | 分離不能 | 雑菌 | 66,000 | 860,000 | ≧2400 | 93 | ≧2400 | 240 コIII, V;Ent(-) コVII;EntC | 検出せず | 4 |
| | | | 湯口 | 25 | 0 | 52 | 9,800 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |
| I | 単純温泉 | 8.1 | 浴槽 | <10 | 雑菌 | 470 | 37,000 | 240 | 240 | 240 | 23 コIII;Ent(-) | 検出せず | 0 |
| | | | 湯口 | <10 (5) | 0 | 1 | 20 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |
| J | 単純温泉 | 7.8 | 浴槽 | 500 | 1500 非:6,UT | 3,700 | 74,000 | 9.2 | <3 | 3.6 | 3.6 コIV;Ent(-) | 検出せず | 2 |
| | | | 湯口 | 500 | 1500 非:5,6,UT | 44 | 14,000 | <3 | <3 | <3 | <3 | 検出せず | 0 |

<自治体実態調査報告書 9>

## はじめに

複数県が関係するレジオネラ属菌感染症事例が発生し，感染が疑われたかけ流し式温泉施設のレジオネラ属菌の検索とその分離株と患者株との PFGE 及び RAPD による泳動パターンの比較を行った。また，レジオネラ属菌の検索では，培養法の検討及び LAMP 法との比較を行ったのであわせて報告する。

## 事件の概要と研究方法

①概要

A 県在住の男性 E が，B 県の温泉旅館に 6 月 1 日～2 日に 1 泊 2 日の社員旅行（65 名）に行った。男性 E は，引き続き 6 月 3 日～4 日にかけて同僚と本県，C 県，D 県に出張し，本県の温泉施設に宿泊した。男性 E は同 6 日から微熱，13 日から体調不良のため医療機関受診を受診，腎不全のため転院後，発熱（38.5℃），重症肺炎，腎不全，肝機能不全に至り，レジオネラ尿中抗原陽性となり，15 日に A 県にレジオネラ属菌感染患者発生届出がされた。なお，男性 E からは *L.pneumophila* SG1 が検出された。

②施設の概要

深　　度：800m

泉　　質：アルカリ性単純温泉（pH9.8）

源泉の温度：32℃

分湯施設：8 施設（うち男性 E が入浴したのは F 施設）で各施設は独自にボイラー加熱している。なお，塩素等による殺菌は行っていない。

③検査方法

培養法：検体を無処理，酸処理，熱処理の 3 系列に分け，それぞれを MWY 寒天培地及び BCYE-α 寒天培地に 100μl 接種した。また，検体 500ml を 0.2μm のポリカーボネート製フィルターで吸引ろ過した後，フィルターを 5ml の検体ろ過液に浸し，フィルターが細かくちぎれる程に手で 10 分間，強く振とうし，100 倍濃縮検体を調整した。それを非濃縮系と同様に，無処理，酸処理，熱処理の 3 系列に分け，MWY 及び BCYE-α に 100μl 接種した。培養は 35℃，2 週間で行い。

LAMP 法：Loopamp　レジオネラ検出試薬キット E（栄研化学）の検査手順書に準じて行った。

PFGE 法：源泉，貯湯槽，浴槽から分離した *L.pneumophila* SG1（5 株）と患者株 *L.pneumophila* SG1（1 株）について，解析を行った。また，比較対照として，過去に本県内の温泉水等から分離した *L.pneumophila* SG1（3 株）を用いた。なお，制限酵素は *Sfi* I を用いた。

RAPD 法：分離した *L.pneumophila* SG1（5 株）と患者株 *L.pneumophila* SG1（1 株）について，解析を行った。なお，primer は AP42 及び AP43 を使用した。

## 結　果

①培養法結果

・6 月 15 日搬入分

貯湯槽

菌　　　数：20CFU/100ml

菌　　　種：*L.pneumophila*

総コロニー数：3 株（SG1 群=1 株・1～6 群以外 2 株）

F 施設本館浴槽内

菌　　　数：160CFU/100ml

菌　　　種：*L.pneumophila*

総コロニー数：26 株（SG5 群=12 株・SG6

群=2 株・1～6 群以外 12 株)

F 施設別館浴槽内

菌　　　数：40CFU/100ml

菌　　　種：*L.pneumophila*

総コロニー数：9 株（SG1 群=4 株・1～6 群以外 5 株）

・6 月 16 日搬入分

源泉

菌　　　数：40CFU/100ml

菌　　　種：*L.pneumophila*

総コロニー数：6 株（SG5 群=1 株・1～6 群以外 5 株）

F 本館浴槽 2 回目（温泉水入り口）

菌　　　数：20CFU/100ml

菌　　　種：*L.pneumophila*

総コロニー数：2 株（1～6 群以外）

F 別館浴槽 2 回目（温泉水入り口）

菌　　　数：30CFU/100ml

菌　　　種：*L.pneumophila*

総コロニー数：3 株（1～6 群以外）

以上の検査で 5 株の *L.pneumophila* SG1 を分離した。

②PFGE による解析

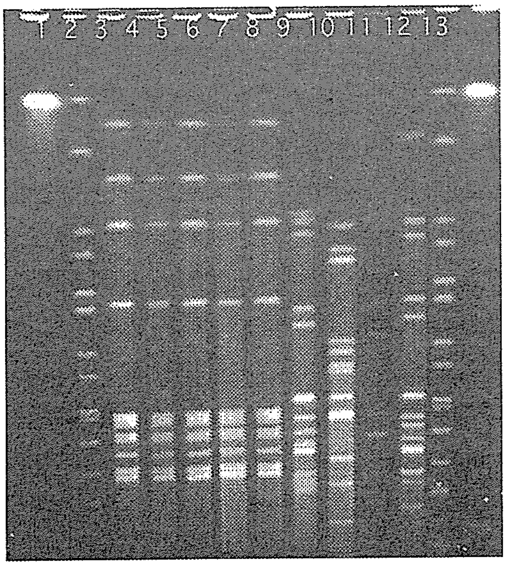


**図 1　PFGE の泳動像**

**表 1　PFGE に用いた分離株**

| Lane No. | 由来 | 血清型 |
|---|---|---|
| 1, 13 | λ ladder | |
| 2, 12 | *S.braenderup* | |
| 3 | 貯湯槽 | SG1 |
| 4 | F 施設浴槽 | SG1 |
| 5 | F 施設浴槽 | SG1 |
| 6 | F 施設浴槽 | SG1 |
| 7 | F 施設浴槽 | SG1 |
| 8 | 患者分離株 | SG1 |
| 9 | 本県分離株 | SG1 |
| 10 | 本県分離株 | SG1 |
| 11 | 本県分離株 | SG1 |

PFGE による泳動パターンは，貯湯槽及び F 施設分離株（Lane No.3～7）と患者株（Lane No.8）は一致しなかった。

③RAPD による解析

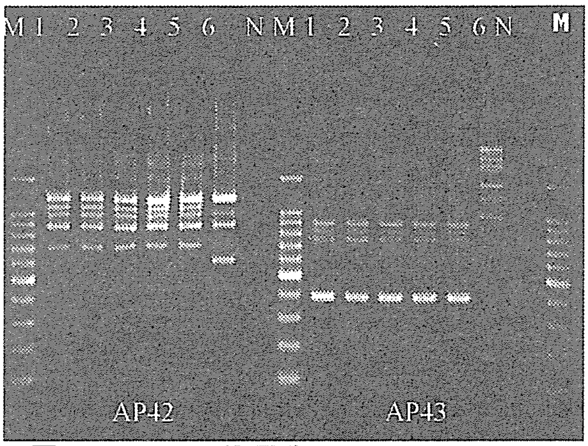


**図 2　RAPD の泳動像**

**表 2　RAPD に用いた分離株**

| Lane No. | 由来 | 血清型 |
|---|---|---|
| 1 | 貯湯槽 | SG1 |
| 2 | F 施設浴槽 | SG1 |
| 3 | F 施設浴槽 | SG1 |
| 4 | F 施設浴槽 | SG1 |
| 5 | F 施設浴槽 | SG1 |

| | | |
|---|---|---|
| 6 | 患者株 | SG1 |

2 種類の primer を用いて比較解析を行った結果，貯湯槽及びF施設分離株 5 株は，全て同一のパターンを示した。一方，患者株は，分離株 5 株とは異なったパターンを示した。

なお，今回の事例で関係した B 県の施設からは *L.pneumophila* SG1 は検出しなかったとの連絡があった。

④培養法と LAMP 法との比較

今回の事例で採取した関係施設 10 ヶ所（2 ヶ所は採水日が違うため再掲）及び源泉と貯湯槽計 12 ヶ所の検体を使って，培養法と LAMP 法（100 倍濃縮検水から 2,000 倍濃縮サンプルとしたものを 4℃で保存して 1 日に 3 回実施）と比較した結果を表 3 に示す。

**表 3　培養法と LAMP 法の比較**

| | LAMP 法 | | | 培養法 |
|---|---|---|---|---|
| | 1 回目 | 2 回目 | 3 回目 | (/100ml) |
| 原水 | ＋ | － | － | 40 |
| 貯湯槽 | ＋ | － | ＋ | 20 |
| 施設① | ＋ | ＋ | ＋ | 160 |
| 施設② | ＋ | ＋ | ＋ | 40 |
| 施設③ | ＋ | ＋ | ＋ | 100 |
| 施設④ | ＋ | ＋ | ＋ | 130 |
| 施設⑤ | ＋ | ＋ | ＋ | 480 |
| 施設⑥ | ＋ | ＋ | ＋ | 120 |
| 施設⑦ | ＋ | ＋ | ＋ | 1,120 |
| 施設⑧ | ＋ | ＋ | ＋ | 150 |
| 施設⑨ | － | － | ＋ | 20 |
| 施設⑩ | ＋ | ＋ | ＋ | 30 |

## 考　察

PFGE 法は，原因施設を特定するうえでは重要な手がかりとなるが，純培養のコロニーから出発した場合でも最低 3 日は必要である。しかし，RAPD 法は，数時間で判定が可能であり，今後，検証すべき点はあるがスクリーニングとして利用できる可能性があると思われた。

培養法と LAMP 法との比較では，培養法ではすべて陽性であったが，12 検体中 3 例で，LAMP 法の結果にバラツキがみられた。3 例とも培養法の結果が 50 CFU/100ml 以下の検体であり，今回の検体に限っていえば LAMP 法の検出限界は 50CFU/100ml とみられた。

今回のレジオネラ属菌感染症事例では，関係する温泉関係施設が，2 県に跨っており，それぞれの自治体で調査を行ったが，結果的に原因施設の特定までには至らなかった。レジオネラ属菌感染症発生の原因施設を温泉施設のみに限定することはできないが，温泉地を巡回するツアーはよく見受けられるため，今後もこのような事例はあるものと思われる。このような場合，関係自治体の連携が重要であり，その意味では今回は関係する A，B 県及び本県の情報も検査機関に速やかに伝達された例であった。

（資料3）レジオネラ属菌の培養方法について

A．研究目的

現在「公衆浴場における水質基準等に関する指針」では、レジオネラ属菌の検査法について、“冷却遠心濃縮法又はろ過濃縮法のいずれかによること”とだけ記載されているが、これは検査法（培養方法）の一部（濃縮方法）である。今回我々は、培養方法の精度向上を図るため、掛け流しの温泉水を利用し、これら濃縮方法の違い、さらには、使用する分離培地の違いにより、検査結果に差が認められるかどうかを検討した。

B．研究方法

管内の掛け流し温泉を有する8施設の湯口および大浴場の温泉水を検体に供した。各検体を遠心法及びろ過法で濃縮後、それらを前処理（未処理、熱処理、酸処理）し、ビオメリュー社のBCYEα及びGVPC生培地、オキソイド社のBCYEα及びMWY培地（要事調整）に接種し、37℃、10日間培養後（毎日観察）、出現したレジオネラ属菌集落のカウントおよび同定を行った。得られた結果から、濃縮方法、使用培地等による検討を行った。

C．研究結果

濃縮方法の違いによるレジオネラ属菌の検査結果では、レジオネラ属菌が検出された検体のうち約85%において、4～60倍、ろ過濃縮法を利用した方が、レジオネラ属菌数が多かった。また、確認される種類も多かった。遠心濃縮法ではレジオネラ属菌が検出されなかった（<10CFU/100ml）検体で、ろ過濃縮方法では検出（20CFU/100ml）された事例もあった。

使用分離培地の違いによるレジオネラ属菌の検査結果では、レジオネラ属菌が検出された全検体において、各分離培地により菌数や種類に違いが認められた。しかしながら、この違いは前処理との組合せによる影響も大きいと思われた。*Legionella spiritensis* が検出された事例では、使用した4種類の培地のうち、1種類（GVPC生培地）で検出することができなかった。また、非選択性分離培地であるBCYEα培地で菌数の最大値が確認された事例があった。

D．考察

遠心濃縮とろ過濃縮法では、検出されるレジオネラ属菌数や種類が大きく異なる場合があった。本実験では、ろ過濃縮法において確認された菌数及び種類も多かったことから、精度の高い結果を得ることができる濃縮法であることが示唆された。しかしながら、浮遊物が多く、ろ過が難しい検体についての検討が必要である。

使用した分離培地では、レジオネラ属菌の種類によって、発育しにくい分離培地があることが示唆された。さらには、レジオネラ属菌の種類と分離培地及び前処理との組合せにより、発育しやすさ、出現の早さ、発育の良さ等に違いがあり、このことが検査結果に大きな違いを与えることがあると考えられた。また、選択分離培地と非選択分離培地であるBCYEα培地との併用がより精度を高める結果につながると思われた。しかしながら、レジオネラ属菌と同時に濃縮されたその他の細菌を、分離培地上で効率良く区別するための検討が必要である。

E．結論

温泉施設が衛生管理を行うために不可欠であるレジオネラ属菌の自主検査の精度を

高め、また、レジオネラ症が発生した場合の疫学調査に役立てるためにも、今後より詳しい検討を行い、精度の高い培養方法の提言を行う必要があると思われた。

平成18年度厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
分担研究報告書

# 温泉の泉質等に対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究

## 浴槽水からの抗酸菌検出株の同定

主任研究者　倉　文昭　国立感染症研究所　細菌第一部
分担研究者　山崎　利雄　国立感染症研究所　ハンセン病研究センター病原微生物部

概要：種々の泉質の循環式でない温泉を利用する公衆浴場における浴用水の衛生管理を検討する上に、浴槽水中にいかなる抗酸菌が存在するかの調査を行った。113 検体中、3 検体から抗酸菌 3 株が分離された。分離菌の内訳は、*Mycobacterium gordonae* 1 株、*M. phlei* 1 株が同定された。残り一株は、検査中である。結核菌(*M. tuberculosis* )は、検出されなかった。

### A．研究目的

結核菌以外の抗酸菌は、自然界に広く分布している。抗酸菌の中には、何らかの原因で細胞性免疫力が低下している人に感染して発病させる抗酸菌が存在するが、健常人にとっては、ほとんどが日和見感染菌である。従って抗酸菌が分離されたからといって即臨床的に問題とはならないが、以前、家庭用の 24 時間風呂から分離された抗酸菌が原因とされた例も存在するので、種々の泉質の循環式でない温泉を利用する公衆浴場における浴用水の衛生管理を検討する上において、浴槽水中にいかなる抗酸菌が存在するかを明らかにすることは重要である。そこで、種々の泉質の循環式でない温泉を利用する公衆浴場における浴槽水より抗酸菌の分離を行い、分離された抗酸菌の同定を行い、抗酸菌の汚染状況を調査し、適切な衛生管理手法確立のための一助とすることを目的とした。

### B．研究材料と研究方法

#### 1．菌の分離と増菌培養

平成 18 年 9 月～平成 19 年 1 月において、全国の循環式でない温泉を利用する公衆浴場等 48 施設の浴槽水 113 検体ついて、抗酸菌の汚染状況を調査した。

抗酸菌の分離培養は、採取された浴槽水 100ml を 9,000rpm、30 分間遠心後の沈渣を、1ml の滅菌精製水に再懸濁した。この懸濁液 1ml に等量の 4%NaOH を加えて、室温で 20 分間処理後、このアルカリ処理液 0.1ml ずつを 2ー3 本の 2%小川培地に接種し 36±1℃で培養し、コロニーの出現状況を毎週観察した。コロニー陰性の場合には 8 週間まで培養した。検出された菌を、チール・ネルゼン染色法で抗酸菌である事を確認後、滅菌精製水で微濁浮遊液を 10 倍希釈系列で希釈し、それぞれの 0.1ml ずつを Middlebrook 7H10 寒天培地に接種し、5%$CO_2$ フランキ内で 36±1℃で 2～3 週間培養後、単コロニーを釣菌し、1%小川培地にて増菌した。

#### 2．抗酸菌の同定試験

生化学的検査法による同定試験は、極東抗酸菌鑑別セット（極東製薬工業）を用いた。試験操作法、観察判定日、観察判定法は、使用説明書にしたがった。抗酸菌鑑別セット使用による同定試験は、発育速度、集落性状、着色、光発色性試験、p-ニトロ安息香酸（PNB）500μg/ml 含有培地上の発育、エタンブトール（EB）5μg/ml 含有培地上の発育、ピクリン酸(PA)0.2%含有培地上の発育、p-アミノサリチル酸（PAS）2mg/ml 含有培地の黒変、塩酸ヒドロキシルアミン(HA) 500μg/ml 含有培地上の発育、硝酸塩還元試験、Tween80 水解試験である。さらに、アリルスルファターゼ試験を追加した。これらの生化学的検査法の他、主な抗酸菌 18 菌種の同定が可能な DNA-DNA ハイブリダイゼーション（DDH）試験キット（極東製薬工業）を用いた。DDH 試験法の操作は、使用説明書に従った。

３．分離抗酸菌の 16S-rDNA のシークエンス

生化学的検査法や DDH 試験法において、同定不能と判定された菌株および同定結果を再確認するために、分離菌 1 白金耳量を TE-緩衝液 100μl に懸濁し、100℃30 分間加熱して DNA を抽出し、16S-rRNA を標的としたプライマー 16Ss(5' GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3')と 16Sas(5' TGCACACAGGCCACAAGGGA 3')を用いて 94℃1 分間のプレヒーティングの後、94℃30 秒、60℃30 秒、72℃1 分の条件で 30 サイクルの PCR を行い、PCR プロダクトを High pure PCR product Purification kit（ベーリンガーマンハイム社）を用いて精製後、Dye terminator cycle sequencing 法にて DNA を標識し、スピンカラム法により未反応の蛍光色素を取り除いた後、ABI310 シークエンサーにてシークエンスをおこなった。得られた結果を Ribosomal Differentiation of Medical Microoganisms(RIDM)あるいは、NCBI の nucleotide-nucleotide BLAST のデーターベースと比較して、菌種の決定を行った。

ヒトや実験動物の材料は、含まれていない。また、分離施設は特定できないようデーターを整理したので、倫理面の配慮はなされている。

C．研究結果

１．抗酸菌の汚染状況

浴槽水 113 検体中 3 検体（2.7%）から抗酸菌が分離された。

２．抗酸菌の同定

浴槽水 113 検体中 3 検体（2.7%）から抗酸菌 3 株が分離され、それぞれ増菌培養後、同定試験を行った。1 株は、増殖が悪く、現在増菌培養中である。抗酸菌 3 株全てが着色菌であり、2 株は、光発色性を持たず、PNB 培地に増殖したので、結核菌群（*M. tuberculosis* complex）を否定した。この抗酸菌 3 株の生化学的検査法と DDH 法による同定結果を表 1 に示した。生化学的検査法では、*Mycobacterium gordonae* と判定された菌株は、DDH 法では同定不能と判定された。迅速発育菌 1 株は、生化学的検査法では、*M. phlei* と同定されたが、DDH 法では同定不能と判定された。これらの同定結果を 16S-rRNA を標的とした PCR 産物の DNA シークエンスによって確認した。

D．考察

今回の調査による抗酸菌の検出率は、113 検体中 3 検体（2.7%）であった。この結果は、掛け流

し式浴槽の浴槽水調査の平成 17 年度成績では、220 検体中 7 検体（3.2%）であり、若干低い検出率であった。また、ある県内の循環式浴槽の浴槽水調査成績（平成 16 年度 23.3%　平成 17 年度 13.2%、平成 18 年度 3.6%）に比べて低かった。調査対象が、全国の循環式でない温泉を利用する公衆浴場等の浴槽水としたため、妥当な結果であった。

*M. tuberculosis* による新規登録の全結核患者数は、平成 17 年度には 28,319 人で罹患率（人口 10 万対）は 22.2 であり、結核死亡者数は 2,295 人で死亡率（人口 10 万対）は 1.8 で死亡原因の 25 位であった。今回の浴槽水調査でも循環式浴槽或は掛け流し式浴槽と同様、結核菌（*M. tuberculosis*）は、検出されなかった。このことは、浴槽水から結核菌に感染する可能性はほとんどないと考えられた。

今回の調査では、*M. gordonae* 1 株と *M. phlei* 1 株が同定されている。また、1 株は、1％小川培地を用いて、37℃で増殖速度が非常に遅いオレンジ色を呈する菌株が分離されたが、現在増菌培養中のため、今年度中には菌種同定まで行かなかった。*M. phlei* は、ヒトに対し病原性は無いと言われている菌種である。*M. gordonae* は、健常人に対しては、病原性は低いが、免疫力の低下したヒトに *M. gordonae* 症を引き起こす抗酸菌である。また、他の調査では、浴槽水から *M. avium*、*M. scrofulaceum*、*M. fortuitum* と言った病原性のある菌種が分離されている。非結核性抗酸菌は、自然界に広く分布しているが、健常人にとっては、ほとんどが日和見感染菌である。したがって、菌が分離されたからといって、即病気を起こす原因とは言い切れない。しかし、かつて、家庭用の 24 時間風呂の浴槽水から感染したと考えられる *M. avium* による皮膚感染症例が報告されているため、浴槽内や配管等の清掃や消毒により、抗酸菌症の原因となりうる菌を排除することは重要であろう。

## E．結論

健常人にとっては、ほとんどが日和見感染菌である抗酸菌は、自然界に広く分布している。今回の調査では、113 検体中 3 検体（2.7%）が分離された。非結核性抗酸菌は、非結核性抗酸菌症の感染源となり得るので、浴用水の衛生管理を適切に行うことが重要である。

## F．研究発表

1．論文発表

なし

2．学会発表

1）　山崎利雄、入浴施設の浴槽水における抗酸菌の検出、第 81 回日本結核病学会総会、2006、4 月、仙台

2）山崎利雄、東日本地区の温泉浴槽水からの抗酸菌の分離状況、第 35 回　結核・非定型抗酸菌治療研究会、2006、6 月、東京

## G．　知的所有権の取得状況

なし

表1　浴槽水由来抗酸菌の同定試験結果

| 菌株 No. | 発育 速度 | 集落性状 | | 同定結果 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 型 | 色 | 生化学的検査法 | DDH**法 | シークエンス法 |
| 1 | Slow | Smooth | オレンジ色 | *M. gordonae* | 判定不能(⑧⑦) | *M. gordonae* |
| 2 | Rapid | Rough | オレンジ色 | *M. phlei* | 判定不能(⑯⑮) | *M. phlei* |
| 3* | Slow | Smooth | オレンジ色 | 未検査 | 未検査 | 未検査 |

*菌株No. 3は、増菌培養中

**DDH: DNA-DNA Hybridization法キット（極東製薬工業）による同定結果

⑦:*M. gordonae*, ⑧:*M. szulgai*, ⑮:*M. triviale*, ⑯:*M. fortuitum*