

## E. 結論

408 株の *L. pneumophila* 血清群 1 環境分離株の遺伝子型別結果を用いて、MST 法による解析を行ったところ、遺伝子型により、B1、B2、B3、C1、C2、S1、S2、S3、U の大きく 9 つのグループに分けられ、B グループは浴槽水分離株を多く含み、C グループは冷却塔水分離株を多く含み、S グループは土壌および水溜り分離株を多く含んでいた。U グループはさまざまな由来の株を含んでいた。また、臨床分離株も多くはいずれかのグループに属しており、土壌から感染した可能性がある場合、菌の遺伝子型が S1 グループに属していた。

## 謝辞

今回解析した分離株を分与くださった井上浩章（アクアス株式会社）、内田順子（香川県環境保健研究センター）、江川武（文京区保健所）、笠原ひとみ（長野県環境保全研究所）、勝川千尋（大阪府立公衆衛生研究所）、金澤祐子（和歌山市衛生研究所）、金谷潤一（富山県衛生研究所）、川口定男（板橋区保健所）、清水麻衣（京都市衛生環境研究所）白木豊（岐阜県保健環境研究所）、鈴木裕（山形県衛生研究所）、土屋祐司（浜松市保健環境研究所）、富田敦子（静岡市環境保健研究所）、富田隆弘（千葉県衛生研究所）、中嶋洋（岡山県環境保健センター）、林千尋（尼崎市立衛生研究所）、藤本仁美（世田谷区保

健所）、村上光一（福岡県保健環境研究所）、柳本恵太（山梨県衛生環境研究所）、吉田英弘（福岡市保健環境研究所）（敬称略）の諸氏に感謝いたします。

## F. 参考文献

- 1) 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 22～平成 24 年度総合研究報告書. 研究代表者: 倉 文明
- 2) Gaia V, Fry NK, Afshar B, Lück PC, Meugnier H, Etienne J, Peduzzi R, Harrison TG. 2005. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila*. J. Clin. Microbiol. 43:2047-52.
- 3) Ratzow S, Gaia V, Helbig JH, Fry NK, Lück PC. 2007. Addition of *neuA*, the gene encoding N-acetylneuraminyl transferase, increases the discriminatory ability of the consensus sequence-based scheme for typing *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains. J. Clin. Microbiol. 45:1965-8.
- 4) Kanatani J, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, Watahiki M. 2013. Close genetic relationship between *Legionella pneumophila*

serogroup 1 isolates from sputum specimens and puddles on roads, as determined by sequence-based typing. Appl. Environ. Microbiol. 79:3959-66.

- 5) Amemura-Maekawa J, Kikukawa K, Helbig JH, Kaneko S, Suzuki-Hashimoto A, Furuhashi K, Chang B, Murai M, Ichinose M, Ohnishi M, Kura F; Working Group for *Legionella* in Japan. 2012. Distribution of monoclonal antibody subgroups and sequence-based types among *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates derived from cooling tower water, bathwater, and soil in Japan. Appl. Environ. Microbiol. 12:4263-70.

#### G. 研究発表

##### 邦文発表

- 1) 松田正法、重村久美子、徳島智子、吉田英弘、佐藤正雄、廣瀬みよ子、門司慶子、石津尚美、竹中 章、前川純子. 2015. 病院内冷却塔からのレジオネラ感染疑い事例—福岡市. 病原微生物検出情報. 36:13-4.
- 2) 笠原ひとみ、関口真紀、中沢春幸、藤田 暁、畔上由佳、高山 久、千秋智重、関 年雅、池田元彦、前川純子、倉 文明. *Legionella pneumophila* 血清

群 9 の症例について. 病原微生物検出情報. 36:14-5.

##### 学会発表

- 1) 前川純子、倉 文明、渡辺祐子、金谷潤一、磯部順子、田中 忍、中嶋 洋、吉野修司、大西 真：新しい *neuA* プライマーによる *Legionella pneumophila* 臨床分離株の sequence-based typing (SBT). 第 88 回日本感染症学会. 平成 26 年 6 月、福岡.
- 2) 前川純子：レジオネラ症とレジオネラ属菌. 平成 26 年度レジオネラ属菌汚染防止対策講習会. 平成 26 年 7 月、宮崎.
- 3) 前川純子：感染源調査に係る遺伝子型別の最新情報. 平成 26 年度生活衛生関係技術担当者研修会. 平成 27 年 2 月、東京.
- 4) 前川純子：*Legionella pneumophila* の遺伝子型別から得られる知見. 平成 26 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会. 平成 27 年 2 月、岡山.
- 5) 前川純子：レジオネラ. 平成 26 年度希少感染症技術研修会. 平成 27 年 2 月、東京.

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

レジオネラの遺伝子型別:臨床分離株、多様な生息環境由来株の収集と型別、感染源調査  
川崎市におけるプール採暖槽水由来株等の SBT 法による型別

研究協力者: 淀谷 雄亮 川崎市健康安全研究所

#### A. 研究目的

レジオネラの遺伝子型別の研究に本年度より研究協力者として参加した。レジオネラ属菌は土壌や環境水など多様な環境に生息しているが、レジオネラ症例の感染源は不明であることが多く、感染源の推定のために環境由来株の遺伝型別を把握しておくことは重要である。当研究所において市内プール採暖槽水から分離された *Legionella pneumophila* SG1 を中心として Sequence-based typing (SBT)法にて型別を行ったので報告する。

#### B. 研究方法

##### 1. 対象

平成 23 年から平成 26 年までに当研究所に搬入されたプール採暖槽水及び浴槽水から分離された *Legionella pneumophila* SG1 計 11 株を対象とした。

##### 2. 方法

採水後の 500ml 検水を孔径 0.2  $\mu\text{m}$  のポリカーボネートタイプメンブレンフィルター (アドバンテック) で吸引ろ過し、フィルターを滅菌蒸留水 5 ml で 1 分間攪拌し懸濁液とした。5 分間の酸処理の後、レジオネラ GVPC 寒天培地 (日研生物) に塗布し 7 日間培養した。L-システイン要求性のコロニーをレジオネラ属菌として分離し、レジオネラ免疫血清 (デンカ生研) spanning tree 解析においては、おおむね浴槽

にて血清群を決定した。SBT 法については EWGLI (European Working Group of Legionella Infections) が公開しているプロトコールに従い、シークエンスにて *flaA*、*pilE*、*asd*、*mip*、*mompS*、*proA*、*neuA* 遺伝子の一部領域の塩基配列を決定し、遺伝子型別を行った。

#### C. 結果及び考察

遺伝子型別の結果を表 1 に示す。採暖槽水由来株は 5 種の遺伝子型となり、ST1 以外は全て異なる遺伝子型であった。採暖槽由来株である No.2、No.6、No.7 については同一施設からの分離であり、ほぼ 1 年ごとに採取された検体から分離されたものである。検出された施設については、保健所の指導により設備の洗浄等を実施後、当所での再検査にてレジオネラ属菌の培養不検出を確認しているが、毎年同一の遺伝子型が検出される原因として洗浄・消毒が不十分であるか、施設付近に何らかの汚染源があることが考えられた。Minimum spanning tree 解析の結果、採暖槽水由来菌株については浴槽水グループに含まれる型 (ST552)、近い型 (ST1091)、冷却塔水グループに含まれる型 (ST1)、土壌・水溜り分離株グループに含まれる型 (ST48、ST384) に属するなど多様な ST 型を示した。

浴槽水由来菌株の遺伝子型については ST1、ST552、ST1021、ST1151 であった。Minimum 水グループ (ST552、ST1151) に含まれる結果と

なった。

D. まとめ

川崎市においてプール採暖槽由来のレジオネラ属菌を中心に SBT 法で型別したところ、臨床分離例及び環境分離例の多い ST1 が分離され<sup>1)</sup>、プール採暖槽についてもレジオネラ症の感染源となりうることが示された。また、同一施設から同一の ST 型が検出されたため、当該施設の管理についてはより詳細に調査する必要があると考えられる。今後もさまざまな環境由来のレジオネラ属菌について ST 型を調査し環境中のレジオネラ属菌の分布状況を把握することで、レジオネラ症の感染源調査や新たな感染源の推定に寄与していきたい。

E. 参考文献

1) 前川純子ら：レジオネラ臨床分離株の型別—レファレンスセンター活動報告として (IASR Vol. 34 p. 161-162: 2013 年 6 月号)

F. 健康危険情報

なし

G. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 SBT 法による ST 型

No.	施設	検体種別	ST	<i>flaA</i>	<i>pilE</i>	<i>asd</i>	<i>mip</i>	<i>mompS</i>	<i>proA</i>	<i>neuA</i>	Group
1	スポーツ施設	採暖槽水	48	5	2	22	27	6	10	12	S2
2	スポーツ施設	採暖槽水	1	1	4	3	1	1	1	1	C1
3	スポーツ施設	採暖槽水	384	2	3	9	10	2	1	10	S1
4	スポーツ施設	採暖槽水	552	7	6	17	3	13	9	11	B2
5	スポーツ施設	採暖槽水	1091	7	10	17	13	14	11	11	(B2)
6	スポーツ施設	採暖槽水	1	1	4	3	1	1	1	1	C1
7	スポーツ施設	採暖槽水	1	1	4	3	1	1	1	1	C1
8	高齢者福祉施設	浴槽水	552	7	6	17	3	13	9	11	B2
9	高齢者福祉施設	浴槽水	1	1	4	3	1	1	1	1	C1
10	高齢者福祉施設	浴槽水	1021	31	10	20	10	21	4	11	N
11	スポーツ施設	浴槽水	1151	7	43	31	3	48	15	40	(B1)

研究報告書

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

富山県の不明感染源解明のための環境調査

研究分担者 磯部 順子 富山県衛生研究所

研究協力者 金谷 潤一 富山県衛生研究所

研究要旨 富山県で多く発生するレジオネラ感染症の感染源として、浴用水以外の感染源を探求するため、環境中の *Legionella* 属菌の生息状況を平成 24 年より調査している。今年度の調査対象はシャワー水 34 検体、河川水 34 検体、河川水周辺の土壌 64 検体とした。シャワー水については平成 24, 25 年分も含め、3 年間で得られた 94 検体について解析した。*Legionella* 属菌の検出率はシャワー水 32/94 検体 (34.0%)、河川水 15/34 検体(44.1%)、土壌 25/64 検体(39.1%)であった。シャワー水では、水源の種別の *Legionella* 属菌の検出率は、水道水に比べ、井戸水、湧水や温泉水などで高かった。土壌では、*Legionella* 属菌の検出率は、道路沿いの土壌で 8/30 検体 (26.7%) に対し、河川付近では 17/34 検体 (50.0%) と、河川付近の土壌で *Legionella* 属菌の検出率が高かったが、個別に見ると、河川と土壌の関連性は明らかではなかった。分離された *Legionella* 属菌は *L. pneumophila* がもっとも多く、それらの血清群はシャワー水では SG5、河川水では SG3、そして土壌では SG8 が多かった。また、河川水と土壌から分離された *Legionella* 属菌では型別不能 (UT) も多く分離された。今年度の調査では富山県特有の ST505 の *Legionella pneumophila* SG1 は河川水・土壌およびシャワー水から分離されなかった。

今年度は、*Legionella* 属菌の自動車のウインドウォッシャー液中での生残性について、*L. pneumophila* SG1, SG5, SG14 および *L. rubrilucens* を用いて調べた。市販のウインドウォッシャー液中ではどの株も 24h 後に生存株は認められなかった。これに対し PBS 中でのこれらの株はおよそ 50%が生残した。この結果から、ウインドウォッシャー液を使用することで、レジオネラ感染症に対するリスクを軽減することが示された。

A. 研究目的

富山県におけるレジオネラ症の発生状況は、平成 25 年の届出数が 39 件で、平成 18～25 年の 8 年間でもっとも多かった。加えて対人口 10 万人の届出数は 2.8 と全国平均

(0.9)より 3 倍以上と、きわめて多い状況が続いている。感染源については患者の行動様式や職業などから、およそ 35%が浴用水との関連が推定されたが、46%は感染源が不明であった (図 1)。レジオネラ症は尿中

抗原検査の保険適用などの影響により全国的に届出数が増加傾向にあり<sup>1)</sup>、平成26年はその数はこれまででもっとも多かった。しかしながら、富山県と同様に、感染源が特定できない事例も多い<sup>2)</sup>。そして、感染様式や起病菌である *Legionella* 属菌の病原性など未だ解明されていないことが多いのが現状である。

そこで、レジオネラ症の発生を予防するため、感染源を明らかにすることを目的として、富山県の公衆浴場のシャワー水を含む環境中の *Legionella* 属菌の分布状況と棲息状況を調査した。シャワー水については平成24年から3年間分をまとめて述べる。また、これまでの調査で感染源となりうる事が明らかとなった<sup>3)</sup>ウインドウォッシャー液について、*Legionella* 属菌の生残性について調べた。

## B. 研究方法

### 1. 感染源調査対象

感染源調査は、公衆浴場のシャワー水、河川水および土壌を対象とした。シャワー水については、対象施設の選択と採水を厚生センター職員に依頼した。河川水については、昨年の調査で選んだ *Legionella pneumophila* serogroup 1 (SG1) の Sequence-Based Typing (SBT)<sup>4)</sup>による Sequence Type (ST) ST505 が分離された県西部地域にある浴用施設の近くを流れる河川に加え<sup>5)</sup>、県東部地域の河川についても対象とした。土壌はそれらの河川付近で採取した(図2)。また、浴場のシャワー水がレジオネラ症の感染源として報告<sup>6)</sup>されたことを受けて、平成24昨年度より対象としている。

### 2. 調査期間と試料

シャワー水の試料は、今年度の34検体を含む、平成24年9月～平成26年11月に採取された94検体である。シャワー水については、温度を40℃に設定後、約10秒間流出させ、容器に採取した。河川水と土壌の試料は、平成26年4月～平成26年10月の8か月間、西部地域を流れる庄川に設定した4地点と東部地域を流れる2河川に設定した3地点、およびそれらの河川の間設定した6地点(図2)で採取した河川水34検体、土壌64検体である。また、車のウインドウォッシャー液の生残性試験に供試した *Legionella* 属菌は、平成24年もしくは25年にウインドウォッシャー液から分離された *L. pneumophila* SG5、*L. rubrilucens* に加え、浴用水から分離された *L. pneumophila* SG14 および *L. pneumophila* SG1 ATCC33152 である。

### 3. *Legionella* 属菌の分離

*Legionella* 属菌の分離は、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)「公衆浴場等における *Legionella* 属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」の精度管理ワーキンググループが推奨する浴用水の方法<sup>7)</sup>に準じて行なった。

①濃縮方法：試料は、シャワー水(400 ml)と河川水(1,000 ml)は、メンブランフィルター(直径47 mm, 0.22 μm, ミリポア社ポリカーボネート ISOPORE)で吸引ろ過し、フィルターを100倍濃縮量となる滅菌蒸留水で、1分間ボルテックスしたものを試料とした。ただし、シャワー水については平成24, 25年のボルテックスの時間は5分間、平成26年には100mlを非濃縮検

体として供試した。

②培養法：シャワー水は、平成 24、25 年では濃縮検体について、酸処理 5 分のみで培養検査を実施した。平成 26 年においては、濃縮、非濃縮検体いずれについても、未処理、酸処理（0.2M KCl-HCl, pH2.2 で等量混合後 4 分間静置）、加熱処理（50℃ 20 分アルミバスで加熱、一部 30 分加熱）を行い、その 100  $\mu$ l を GVPC 培地（日研生物）にコンラージ棒で広げて 35℃ で培養した。ただし、酸処理検体は、200  $\mu$ l について同様に培養した。

河川水および土壌検体は、アメーバを用いて共培養した。河川水は濃縮検体 5 ml、土壌は約 50 g に滅菌蒸留水 100 ml を加えた試料に、古畑らの報告<sup>8)</sup>にしたがって調整したアメーバ培養液 200  $\mu$ l を添加後、35℃ で 1 か月間培養した。培養液を酸処理液（0.2M KCl-HCl, pH2.2）と等量混合後、室温で 15 分静置した。混合液 200  $\mu$ l を GVPC 培地（日研生物）2 枚にコンラージ棒で広げて、35℃ で 7 日間培養した。

③分離された *Legionella* 属菌の同定：同定は、平板に発育した *Legionella* 属菌様のコロニーについて、森本の報告<sup>9)</sup>した斜光法で特異的な形態を観察し、血液寒天培地と BCYE- $\alpha$  培地（ビオメリュー）に移植し、システインの要求性を確認した。次に BCYE- $\alpha$  培地にのみ発育したコロニーについて、レジオネララテックステスト（OXIDO）とレジオネラ免疫血清（デンカ生研）により血清群を決定した。

④SBT：*L. pneumophila* SG1 について、ST を決定した。方法は前川の報告に準じて行なった<sup>4)</sup>。

⑤ *lag-1* 遺伝子：分離された *L.*

*pneumophila* SG1 11 株について、*lag-1* 遺伝子の保有率を調べた。Kozak らの報告<sup>10)</sup>したプライマー *lag-F*：5' -CTCACAACAAGTCA AGCAAC-3' および *lag-R*：5' -AAACCATAC CAAA GCAACAT-3' を用い、GoTaqHS（プロメガ）10  $\mu$ l に *lag-F*、*lag-R*（2  $\mu$ M）をそれぞれ 2  $\mu$ l、テンプレート 1  $\mu$ l を加え、20  $\mu$ l になるよう H<sub>2</sub>O を加え反応液とした。PCR は 95℃ 2 分の熱変性後、94℃ 30 秒、57℃ 30 秒、72℃ 1 分を 30 サイクル、72℃ 5 分の条件で thermal cycler DICE（TaKaRa）でおこなった。

⑥ウインドウォッシャー液の *Legionella* 属菌の生残性：供試菌株は BCYE- $\alpha$ （ビオメリュー）で 35℃ 3 日間培養後、MacFarand2.0 となるよう生理食塩水に懸濁した。それを 10 倍段階希釈し、10<sup>-5</sup> 液 1ml をウインドウォッシャー液と PBS それぞれ 9ml に接種した。ボルテックスで混和したのち、経時的（0 分、10 分、30 分 60 分そして、24h 後）に、検水 100  $\mu$ l を BCYE- $\alpha$  2 枚にコンラージ棒で広げ、35℃ 7 日間培養し、菌数を測定した。この検討を 10 回実施した。

## C. 研究結果

### 1. シャワー水における *Legionella* 属菌検出状況

シャワー水から検出された *Legionella* 属菌の菌数を表 1 に示す。シャワー水 94 検体の *Legionella* 属菌の検出率は 32/94 検体（34.0%）であった。*Legionella* 属菌数もっとも多かったのは、12,600CFU/100ml、ついで 1,230CFU/10ml と多かったが、66% の検体では、この培養法における検出限界

値となる 10CFU/100ml 未満であった。シャワー水の *Legionella* 属菌の汚染状況を給湯設備別で見ると (表 2), その検出率は調節箱ありの検体で 12/32 検体 (37.5%) で、調節箱のない設備の 14/38 検体 (26.9%) より高かったが、有意差は認められなかった ( $p>0.05$ )。一方、水源の種別の *Legionella* 属菌の検出率 (表 3) は、水道水に比べ、井戸水、湧水や温泉水などで高かった。河川水から分離された *Legionella* 属菌の種別の検体数は、*L. pneumophila* がもっとも多く、中でも SG5 が分離されたのは 9 検体、次いで SG1 と SG6 が 6 検体であった。また、*L. pneumophila* 以外の *Legionella* 属菌が 13 検体から 17 株が分離された (表 4)。UT 株中 7 株が *L. rubrilucens* であった。また、これら *L. pneumophila* SG1 について SBT による遺伝子型を調べたところ、過去に患者喀痰から分離された *L. pneumophila* に認められた ST505 (SG1) と ST392 (SG4) がそれぞれ 1 株ずつ認められた (表 5)。

## 2. 河川水における *Legionella* 属菌検出状況

地点ごとの検出状況を表 6 に示した。*Legionella* 属菌の検出率は、全体で 15/34 (44.1%) であった。地点別に見ると、*Legionella* 属菌は東部の地点 G では 4 検体すべてにおいて分離されたのに対し、地点 B, C, D では各 1 検体から分離されたのみであった。月別では 4 月の検出率は 1/6 (16.7%) と低く、8 月の検出率は 5/7 (71.4%) と高かった (データ未掲載)。分離された *Legionella* 属菌の血清群別数は、*L. pneumophila* と UT がそれぞれ 10 検体から分離されたが、*L. pneumophila* の血清群には偏りは認められなかった (表 4)。UT

株には、土壌から分離報告の多い *L. longbeachae* が 2 株分離された。

## 3. 土壌における *Legionella* 属菌検出状況

地点ごとの検出状況を表 7 に示した。*Legionella* 属菌の検出率は、全体で 25/64 (39.1%) であった。月別では、調査したすべての月で *Legionella* 属菌が 3~5 地点で分離され、季節変動は認められなかった。地点別では、道路沿いの土壌での検出率は 8/30 検体 (26.7%) であったのに対し、河川付近での検出率は 17/34 検体 (50.0%) と、河川付近の土壌でレジオネラ属菌の検出率が高かった。しかしながら、河川付近の地点 12, 13 では *Legionella* 属菌は 1 回も分離されないなど、河川と土壌との関連性は明確ではなかった。土壌から分離された *Legionella* 属菌の種別の検体数は、*L. pneumophila* が 23 検体、UT が 20 検体であった。*L. pneumophila* の中では SG8 が 10 検体から、SG1 が 4 検体から分離された (表 4)。

## 4. *L. pneumophila* の SBT と *lag-1* gene 保有状況

本調査で河川水と土壌から分離された *L. pneumophila* SG1 の ST の結果を表 8 に示した。今年度の調査では ST505 は認められず、また ST に偏りは認められなかった。地点 D から分離された *L. pneumophila* 1 株が *lag-1* 遺伝子を保有していた。

## 5. ウィンドウウォッシャー液の *Legionella* 属菌の生残性

液体に接種した *Legionella* 属菌の経時ごとの菌数について、10 回の平均値を図 3 に示した。PBS 液中では、いずれの *Legionella* 属菌も PBS (図 3 a) では 1h 経過まではわず



かに減少し、24h 後でも接種菌数の 20～40%が生存した。これに対し、ウインドウ オッシャー液中では、すべての菌が 10 分経過後には 50%以下の菌数となり、24h に生存する株は認められなかった(図 3:b)。

#### D. 考察

富山県におけるレジオネラ症の報告数は平成 20 年以降、年間 20～30 名で推移していたが、平成 25 年はついに 30 名を大きく越え 39 名が届けられた。しかしながら、全国での届出数も増加傾向にあるため、人口対 10 万人の富山県の報告数が全国で一番という長い間の不名誉を他県に譲り、全国で 2 番目となった。このように増加傾向にある疾患にも関わらず、わが国におけるレジオネラ症患者の 8～9 割は男性という性差がはなはだしい理由が明確になっていないばかりでなく、多くの事例で感染源が特定されないのが現状である。理由のひとつとして、患者のほとんどが尿中抗原検査で診断され、喀痰培養試験により *Legionella* 属菌が分離されることは少なく、菌の分子疫学的解析等ができないことが挙げられよう。富山県では、患者のおよそ 4 割は浴用水に関連すると推定されるが、推定の域を出ないのが現状である。近年、喀痰から直接 DNA を抽出し、SBT 等により、感染した *Legionella* 属菌がどのような環境に棲息していたかを類推することが可能になっている<sup>11,12)</sup>。今後はこのような手技を活用して、感染源を探求する必要がある。

富山県では、レジオネラ症患者の感染源のひとつと指摘された公衆浴場のシャワー水に注目し、平成 24 年から 3 年間、その汚染実態を調査した。*Legionella* 属菌の検出

率は 38.9%、25.0%、29.8%、平均 31.0% となり、同年の浴用水からの *Legionella* 属菌検出率 26.7%、35.9%、22.7%、平均 28.4% よりわずかではあるが高かった。また、分離された *Legionella* 属菌には富山県西部地域の患者および浴用施設から複数分離されている *L. pneumophila* SG1 ST505<sup>2)</sup> や、人からの分離報告<sup>13)</sup> のある *L. rubrilucens* も認められ、シャワー水が感染源になりうることを示した。また、その *Legionella* 属菌数も多い場合には 12,600CFU/100ml を示し、この水をミストとして浴びることはいかにリスクが高いかは想像に難くない。シャワー水に水道水を使用している場合と湧水や温泉水を利用している場合では、*Legionella* 属菌の検出率に明らかな相違が認められた。このことは、データには示さなかったが、採水時の残留遊離塩素濃度が 0.1mg/L 以下の場合の *Legionella* 属菌検出率は 0.1 未満 mg/L に比べ、有意に高いこと ( $p<0.05$ ) からわかるように、水道水に含まれる遊離塩素が関わっていることを示していると思われる。従って、シャワー水の水質基準や衛生管理手法について、早急に規定され、その管理方法等についても通知されることを強く望む。

本研究では、富山県における患者報告数の地域差の原因を追究するため、レジオネラ症の新しい感染源を調査している。昨年度は患者の多い西部地域における患者発生地域付近の河川水や土壌を調査してきたが、今年度、東部地域へと範囲を広げたところ、河川水では東部地域を流れる河川水での検出率が高かった。一方、それら河川付近の土壌では *Legionella* 属菌の検出率は、河川水からのそれとは関連しなかった。従って、

河川水や土壌がレジオネラ症の感染源として、大きく関与するかは明らかにならなかった。しかしながら、*L. pneumophila* SG1をはじめとする *Legionella* 属菌が複数の河川水および土壌から分離され、さらに、臨床分離株の大半が保有している *lag-1* 遺伝子を保有している株も土壌から検出された。今後さらに検対数を増やして関連性ととも、富山県内の河川水および土壌由来株の遺伝的な特徴についても調査したい。

ウインドウォッシャー液については、近年 Wallensten<sup>14)</sup>や Palmer<sup>15)</sup> がレジオネラ症患者の発生とウインドウォッシャー液に界面活性剤を使用していないことを関連付けて報告している。また、オーストラリアにおいてもレジオネラ症患者の疫学解析結果<sup>16)</sup>から、運転手との関連性が示唆され、車のウォッシャー液など、車が関連する環境調査の必要性が示されている。本調査でも、平成 24, 25 年にウインドウォッシャー液から *L. pneumophila* SG5 と *L. rubrilucens* を分離し、ウォッシャー液が *Legionella* 属菌の生息環境のひとつとなることを示してきた。今年度の調査で界面活性剤の入ったウインドウォッシャー液の中で *Legionella* 属菌は 24 時間後にはまったく生残しなかったことを示した。これは界面活性剤を使用することで、ウインドウォッシャー液におけるレジオネラ症の感染リスクを低くできることを改めて示した。

#### 結語

これまでの環境調査から、富山県におけるレジオネラ症発生が多い理由を明らかにすることはできなかった。しかしながら、患者から分離されている ST の *L. pneumophilla* や *L. rubrilucens* などが分

離されたことから、シャワー水や河川水も感染源となりうることが示された。とりわけ、ミスト発生が多いシャワー水における *Legionella* 属菌の検出率、種類、ST など、浴用水のそれと大きく異なることがなかったことから、きわめてリスクが高く、注意を要することが改めて示された。得られた結果を広く広報し、予防につなげることが重要である。

謝辞 本実態調査を実施するにあたり、富山県生活衛生課、各厚生センター、富山市保健所の担当者および採水にご協力いただいた浴用施設の皆様に深謝いたします。

#### E. 参考文献

- 1). 国立感染症研究所厚生労働省健康局結核感染症課. 2008. レジオネラ症 2003.1～2008.9. 病原微生物検出情報. 29: 327-328.
- 2) Kanatani *et al.* 2013. Molecular epidemiology of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates identify a prevalent sequence type, ST505, and a distinct clonal group of clinical isolates in Toyama Prefecture, Japan. *J. Infect. Chemother.* 19: 644-652
- 3).磯部順子, 金谷潤一: 富山県の感染源解明のための環境調査: 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 *Legionella* 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 22～24 年度総合研究報告書. pp.117-127.
- 4)Amemura-Maekawa *et al.*, 2010. Characterization of *Legionella pneumophila* isolates from patients in

- Japan according to serogroups, monoclonal antibody subgroups and sequence types. *J. Med. Microbiol.* 59: 653–659.
- 5) 磯部順子, 金谷潤一: 富山県の不明感染源解明のための環境調査: 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 年度総括・分担研究報告書 pp.171-179.
- 6) 国立感染症研究所厚生労働省健康局結核感染症課. 2010. シャワー水を感染源としたレジオネラ症例について. 病原微生物検出情報. 31: 331-332.
- 7) 森本 洋, 磯部順子, 大屋日登美, 緒方喜久代, 中島 洋他: Legionella 属菌検査法の安定化に向けた取り組み: 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 Legionella 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 年度総括・分担研究報告書 pp.93-131
- 8) 古畑 勝則 他. 2002. 土壌からの Legionella 属菌の分離状況. 防菌防黴誌. 30: 555-561.
- 9) 森本 洋. 2010. 分離集落の特徴を利用した Legionella 属菌分別法の有用性. 日本環境感染誌 25: 8-14.
- 10) Kozak et al., 2009. Distribution of lag-1 alleles and sequence-based types among Legionella pneumophila serogroup 1 clinical and environmental isolates in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 47: 2525–2535.
- 11) Amemura-Maekawa et al., 2012. Distribution of monoclonal antibody subgroups and sequence-based types among Legionella pneumophila serogroup 1 isolates derived from cooling tower water, bathwater, and soil in Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 4263–4270.
- 12) M. Mentasti, et al. 2012. Application of Legionella pneumophila-specific quantitative real-time PCR combined with direct amplification and sequence-based typing in the diagnosis and epidemiological of Legionnaires' disease. *Eur. J. Clin. Infect. Dis.* 31. 2018-2028.
- 13) Matsui et al. 2010. Isolation of Legionella rubrilucens from a pneumonia patient co-infected with Legionella pneumophila. *J. Med. Microbiol.* 59: 1242–1246.
- 14) Wallensten et al., 2010. Windscreen wiper fluid without added screenwash in motor vehicles: a newly identified risk factor for Legionnaires' disease. *Eur. J. Epidemiol.* 25: 661–665.
- 15) Palmer et al., 2012. Legionella pneumophila found in windscreen washer fluid without added screenwash. *Eur. J. Epidemiol.* 27: 667.
- 16) Lucinda Franklin. 2013. Commercial driving as a risk factor for Legionellosis in Victoria. The 8th International Conference on Legionella. Melbourne, October - November. Poster session 1, No. 23.

F. 研究発表

#### 学会発表

金谷潤一，磯部順子，木全恵子，清水美和子，増田千恵子，倉 文明，佐多徹太郎，綿引正則：富山県内の浴用施設におけるシャワー水のレジオネラ属菌分離状況．日本防菌防黴学会第 41 回年次大会，2014 年 9 月，東京．  
磯部順子，金谷潤一，木全恵子，清水美和

子，増田千恵子，倉 文明，佐多徹太郎，綿引正則：ウインドウウォッシャー液のレジオネラ属菌による汚染実態調査．日本防菌防黴学会第 41 回年次大会，2014 年 9 月，東京．

G.知的財産権の出願・登録状況  
なし

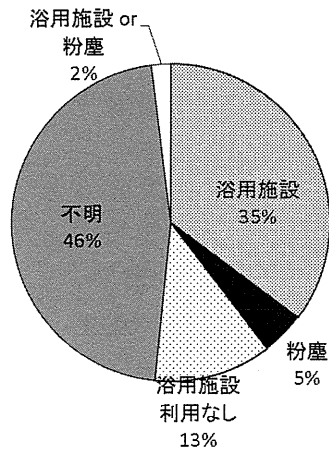


図1 レジオネラ症患者の感染源調査 (推定) 250人 (1999年～2014年, 富山県内)

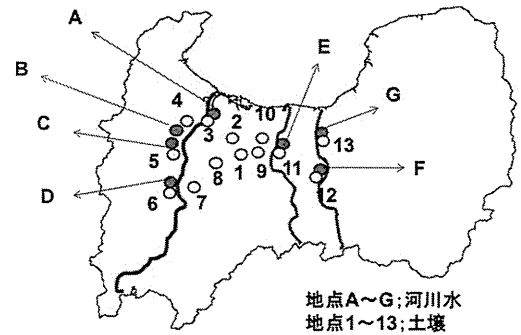


図2 河川水および土壌調査地点

表1. シャワー水におけるレジオネ属菌

菌数	検体数 (%)
10 未満	62 (66.0)
10 - 99	19 (20.2)
100 - 999	11 (11.7)
1,000 以上	2 (2.1)
合計	94 (100)

表2. 給湯設備別シャワー水のレジオネラ汚染状況率

	検体	陽性	陰性	陽性率 (%)
調節箱あり	32	12	20	37.5
調節箱なし	52	14	38	26.9
未調査等	10	6	4	60.0
計	94	32	62	31.0

表3. 水源種別 Legionella 属菌検出率

	検体	陽性	陰性	陽性率 (%)
水道水	29	3	26	10.3
井戸水	54	22	32	40.7
その他(湧水、温泉水など)	9	7	2	77.8
不明	2	0	2	0.0
計	94	32	62	34.0

表4. シャワー水から分離された Legionella 属菌の種別

菌種	検体数			
	シャワー水	河川水	土壌	
<i>L. pneumophila</i>	SG 1	6	2	4
	SG 3	2	3	2
	SG 4	4		
	SG 5	9	1	3
	SG 6	6	1	2
	SG 8	3		10
	SG 9	4		1
	SG10		1	
	SG12		1	
	SG14			
	SG 15	3		1
	その他のレジオネラ属菌		1	
	UT	13	10	20

表 5.シャワー水から分離された  
*L. pneumophila* の ST

分離株数	遺伝子型 (ST)
3	ST68 (SG 6) ST579 (SG 1,SG 3)
2	ST1032 (SG 5) ST1591 (SG 5)
1	ST505 (SG 1) ST392 (SG 4) その他 (21 STs)
33	27 STs

表 6 河川水における *Legionella* 属菌検出

地点	河川	陽性数 / 検体数
A	庄川	3 / 5
B	庄川	1 / 5
C	庄川	1 / 5
D	庄川	1 / 5
E	神通川	3 / 5
F	常願寺川	2 / 5
G	常願寺川	4 / 4
計		15/34

表 7.土壌における *Legionella* 属菌検出

地点		陽性数 / 検体数
1	道路沿い	0 / 5
2	道路沿い	0 / 5
3	庄川付近	4 / 5
4	庄川付近	5 / 5
5	庄川付近	2 / 5
6	庄川付近	1 / 5
7	道路沿い	3 / 5
8	道路沿い	1 / 5
9	道路沿い	3 / 5
10	道路沿い	1 / 5
11	神通川付近	5 / 5
12	常願寺川付近	0 / 5
13	常願寺川付近	0 / 4
		25/64

表 8.河川水及び土壌から分離された *L. pneumophila* の ST

由来	分離年月	地点	ST	lag-1 gene
河川水	2014/8	庄川	1599	-
	2014/8	神通川	1139	-
土壌	2014/4	C(庄川付近)	48	-
	2014/4	D(庄川付近)	739	-
	2014/5	D(庄川付近)	1224	+
	2014/7	E(庄川付近)	739	-

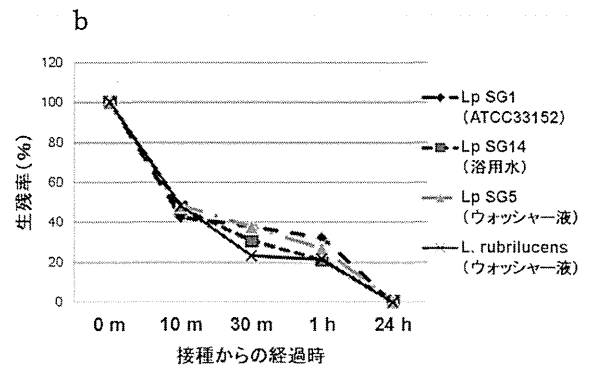
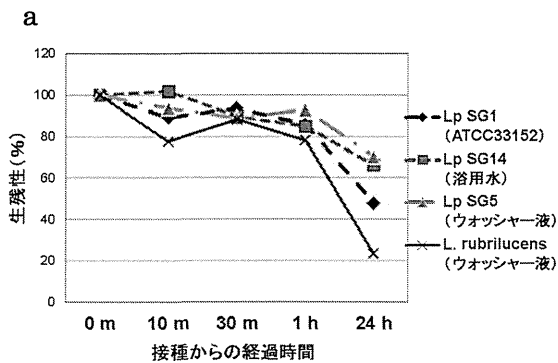


図 3. *Legionella* 属菌のウインドウオッシュャー液中での生残性  
接種液 : a;PBS b;ウインドウオッシュャー液

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  
地域特異的な感染源不明クラスターに関する調査(平成 26 年度)

研究分担者 中嶋 洋 岡山県環境保健センター

## 研究要旨

県内で発生したレジオネラ症患者の分離株を収集し、sequence-based typing (SBT) 法による型別を実施している。このうち *L.pneumophila* (Lp) 血清群(SG) 3 は、9 株すべてが sequence type (ST) 93 で、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による遺伝子パターンも一致した。本菌及び Lp SG1(ST609、1077)は、地域特異的にはほぼ県内のみで検出され、本年度収集した Lp SG1(ST1845、ST1846、ST1847)も、他に分離報告のない新規遺伝子型であった。本年度の環境検体の調査結果は、浴槽水等 105 検体中 31 検体(29.5%)からレジオネラが検出された。また、保健所等が分離したレジオネラ 119 株を収集・解析し、今までに浴槽水等から分離された 146 株の LpSG3 について、PFGE 法による解析を行った。その結果、72 パターンに分類されたが、いずれの菌株も患者分離株のパターンとは異なっていた。今後も感染源究明のため、より多様な検体について、継続した調査が必要である。

### A.研究目的

当センターでは、レジオネラレファレンスセンター活動の一環として、平成 19 年より岡山県内のレジオネラ症患者分離株を収集し、血清群別及び遺伝子解析を行っている。また、浴槽水等環境検体のレジオネラ汚染調査を継続実施しており、患者分離株との関連を検討している。患者分離株のうち、*L.pneumophila* (以下、Lp) 血清群(以下、SG) 3<sup>1)</sup>は、すべての株が sequence type (ST)93 で一致しており、同一菌あるいは同一の感染源による感染の可能性が示唆された。本菌は、岡山県以外では未検出であり、地域特異的なレジオネラであることが確認されている。また、患者由来の Lp SG1 の中にも地域特異性の高い株(ST609 及び 1077)があるため、これらの感染源究明と県内の環境

検体におけるレジオネラ汚染実態の把握を目的として、継続した調査を実施している。本報告では、平成 26 年度の調査結果を報告する。

### B.研究方法

#### (1)材料

平成 26 年度は、県内のレジオネラ症患者から分離されたレジオネラ 5 株を、収集した。環境検体は、浴槽水等 105 検体を採取し、レジオネラの検査を実施した。また、保健所等が浴槽水等から分離したレジオネラ 119 株を収集し、同定および血清群別を実施した。Lp SG3 と同定された株は、過去の調査で分離された Lp SG3 と

合わせて、計 146 株について遺伝子解析を行った。

## (2)方法

環境検体のレジオネラ検査は、濾過法により 100 倍濃縮後、等量の 0.2M HCl・KCl 緩衝液 (pH2.2) で前処理を行い、GVPC 寒天培地及び WYO  $\alpha$  寒天培地あるいは MWY 寒天培地に塗抹した。36°C で 7 日間培養し、その間に発育したコロニーを斜光法により観察して、血液寒天培地と BCYE  $\alpha$  寒天培地に接種してスクリーニングした後、血清群別 (レジオネラ免疫血清: デンカ生研) 及び PCR 法 (*mip* 遺伝子及び 5S rRNA 遺伝子) を実施し、同定した。菌株の遺伝子解析による比較は、パルスフィールドゲル電気泳動 (以下、PFGE) 法を用いて、改良プロトコールによる 2 日間の方法<sup>2)</sup> で実施した。また、sequence-based typing (以下、SBT) 法による sequence type (以下、ST) の型別と、ST を用いた minimum spanning tree による解析は、国立感染症研究所で実施した。

(倫理面への配慮)

患者株の収集・解析にあたっては、個人を特定できないように、最低限の患者情報のみを収集・表示した。

## C. 研究結果

公衆浴場の浴槽水等 105 検体を検査し、その結果を表 1 に示した。

レジオネラは 31 検体 (29.5%) から検出され、浴槽水は内湯 16 検体 (33.3%) と露天風呂 6 検体 (31.6%)、ジャグジー水 3 検体 (37.5%)、シャワー水 1 検体 (9.1%)、堆肥 5 検体 (55.6%) であった。足湯及びペット湯の浴槽水、原水、

注湯口水及び冷却塔水からは、検出されなかった。分離菌の血清群は、浴槽水由来株は Lp SG1、2、3、5、6、7、8、9、10、群別不能、ジャグジー水由来株は Lp SG3、6、シャワー水由来株は Lp SG3、堆肥由来株は *L.londiniensis* とレジオネラ属菌であった。

保健所等が分離したレジオネラを収集し、血清群別を実施した結果を、表 2 に示した。収集したレジオネラは 119 株で、浴槽水、原水、シャワー水、ジャグジー水、トイレ給湯口水から分離された株であった。検出された株の菌種と血清群は、浴槽水は Lp SG1、3、5、6、8、9、10、群別不能と、*L.micdadei* 及び他のレジオネラ属菌であった。原水は Lp SG1、3、8 とレジオネラ属菌、シャワー水は Lp SG1、5、ジャグジー水は Lp SG1、3、5、6、9、トイレ給湯口水は Lp SG1 であった。

現在までに収集したレジオネラ症患者分離株を、表 3 に示した。平成 26 年度は Lp SG1 を 4 株、Lp SG9 を 1 株収集し、過去 8 年間の合計株数は 33 株になり、すべての株が Lp であった。血清群は、SG1 が 20 株、SG2 が 1 株、SG3 が 9 株、SG9 が 2 株、SG10 が 1 株であった。患者の症状について、Lp SG1 感染患者は重症化する傾向が見られ、発熱、咳嗽、頭痛、下痢などの症状以外に、呼吸困難、意識障害、肺炎などが多くの患者で見られた。これに対し、Lp SG3 感染患者は比較的軽症で、胸部異常影のみ観察された患者が、9 名のうち 4 名であった。また、糖尿病を基礎疾患に持つ患者では、死亡例が見られた。

SBT 法による解析結果は、患者由来の Lp SG1 の株は多種類の ST に分類されたが、SG3 の 9 株はすべて同じ ST93 に型別され、PFGE 法による遺伝子パターンも同一であっ



た。Lp SG1(ST609、ST1077)及びLp SG3(ST93)の各菌株は、国内ではほぼ県内のみで地域特異的に分離されている。本年度収集したLp SG1の4株のうち3株は、他に報告のない新規遺伝子型(ST1845、ST1846、ST1847)であった。また、本年度浴槽水から分離されたLp SG1も新規遺伝子型(ST1948)であった。

患者由来のLp SG3(ST93)と、今までに分離された環境由来のLp SG3株について、PFGE法を用いた遺伝子解析を行い、その結果を表4及び図1に示した。

浴槽水等由来株146株のPFGEパターンは72パターンに分類されたが、患者分離株の遺伝子パターンと一致する株は無かった。

minimum spanning tree(MST)による解析の結果は、Lp SG3については昨年度の結果に、SBT法に必要な7つの遺伝子のうち、flaAだけの塩基配列を調べた本年度分離株の結果を加えて、図2に示した。患者由来のST93株は、flaA3のグループに属していたが、clonal complexは形成しなかった。本年度分離された浴槽水由来株は他のflaAグループに属した。Lp SG1については、本年度分離された環境由来9株(6種類のST株)について、MSTにおける相対的な位置を、図3に示した。新規遺伝子型の浴槽水由来株ST1948は、地域特異的に検出された患者由来株のST609やST1077と同じgroup Uに属す株であった。また、新規遺伝子型の患者由来株は、ST1845がgroup N(いずれのグループにも属さないもの)、ST1846とST1847はgroup S1に属した。

#### D. 考察

当センターでは、レジオネラレファレンスセンター活動の一環として、平成19年より患者由来株を収集している(表3)。収集した患者由来株はすべてLpであり、SG1(20株)、SG3(9株)の順に検出頻度が高い。患者分離株の遺伝子解析の結果、Lp SG3はいずれもST93であり、PFGEパターンも一致したため、同一菌あるいは感染源が同じである可能性が高いことが推察された。しかし、現在までのところ、環境由来のLp SG3株とPFGEパターンが一致したものはない。特に、浴槽水由来株については、109株について解析し60パターンに分類されたが、すべて患者由来株とはPFGEパターンが異なっていた。また、SBT法による解析結果でも、ST93やさらに他地域の臨床分離株(STがすべて異なるLp SG3)も、県内で主に浴槽水から分離された環境由来株と、STが一致する株はなかったことから、浴槽水が感染源である可能性は低いものと思われた。一方、患者由来のLp SG1は多種類のSTに型別され、このうちST609、ST1077は、SG3のST93と同様に、地域特異的な株であることが確認されている。MST解析の結果では、患者由来のSG3のST93株、SG1のST609、ST1077及び浴槽水由来のST1948株は、いずれもgroup U(感染源 unknown)に属していた。このことから、患者由来株のうち、group Uに属する株の感染源の究明に当たっては、浴槽水以外の給湯水、シャワー水、修景水など、より多様な環境検体についても調査が必要であると思われた。

なお、本調査にご協力いただきました岡山市保健所、倉敷市保健所および岡山県健康づくり財団の関係者各位、患者株の分

与を戴きました倉敷中央病院検査課の藤井寛之先生、川崎医科大学附属病院検査課の黒川幸徳先生に、深謝いたします。

#### E. 結論

- 1) 平成 26 年度に、県内で発生したレジオネラ症の患者由来株について、Lp SG1 株 4 株と Lp SG9 株 1 株を収集した。
- 2) 患者由来株の LpSG1 のうち 3 株は、ST1845、ST1846、ST1847 の新規遺伝子型で、MST 解析で groupS1 及び N に分類された。
- 3) 浴槽水由来の Lp SG1 のうち 2 株は、ST1948 の新規遺伝子型の株で、MST 解析では group U に分類された。
- 4) 患者由来株のうち、地域特異的に分離された Lp SG1 の ST609、ST1077 や、Lp SG3 の ST93 について、継続して感染源の究明を行う必要がある。

#### F. 参考文献

- 1) 西山 明宏、石田 直、興梶 陽平、他：*Legionella pneumophila* serogroup 3 による呼吸器感染症の 4 症例. 感染症誌 2011; 85: 373-379.
- 2) 常 彬、前川 純子、渡辺 治雄: レジオネラを解析するパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 法の改良. IASR 2008; 29: 333-334.

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 検体別レジオネラ検出状況(平成 26 年度)

検体名	検体数	陽性検体数	検出率	検出菌種及び血清群	
浴槽水	内湯	48	16	33.3	<i>L.pneumophila</i> 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, UT
	露天風呂	19	6	31.6	<i>L.pneumophila</i> 3, 5, 6, 7, 10, UT
	足湯	1	0	0.0	
	ペット湯	1	0	0.0	
ジャグジー水	8	3	37.5	<i>L.pneumophila</i> 3, 6	
原水	4	0	0.0		
注湯口水	2	0	0.0		
シャワー水	11	1	9.1	<i>L.pneumophila</i> 3	
冷却塔水	2	0	0.0		
堆肥	9	5	55.6	<i>L.londiniensis</i> 1, <i>Legionella</i> spp.	
計	105	31	29.5		

\*:重複を含む。 UT:O 血清群別不能

表2 保健所等分離レジオネラ株 (平成 26 年度)

検体名	菌株数	検出菌種及び血清群
浴槽水	102	<i>L.pneumophila</i> 1, 3, 5, 6, 8, 9, 10, UT , <i>L.micdadei</i> , <i>Legionella</i> spp.
原水	4	<i>L.pneumophila</i> 1, 3, 8 , <i>Legionella</i> spp.
シャワー水	3	<i>L.pneumophila</i> 1, 5
ジャグジー水	9	<i>L.pneumophila</i> 1, 3, 5, 6, 9
トイレ給湯口水	1	<i>L.pneumophila</i> 1
計	119	

UT:O 血清群別不能

表3 県内で発生したレジオネラ症患者分離株（平成19年～26年）

菌株No	分離年	菌種	血清群	ST	PFGE パターン	年齢	性別	検体	症状					その他
									発熱	咳嗽	呼吸 困難	意識 障害	肺炎	
K9	2007	Lp	1	595		64	男	喀痰	●	●	●	●	●	
K11	2007	Lp	1	593		69	男	喀痰	●		●	●	●	
K105	2008	Lp	1	609		59	男	喀痰	●		●	●	●	頭痛
K117	2008	Lp	1	609		79	男	喀痰	●		●		●	
K118	2008	Lp	1	594		55	男	喀痰	●	●		●	●	
K090729	2009	Lp	1	550		37	男	喀痰	●	●		●	●	下痢
O100216	2009	Lp	1	23		54	男	喀痰	●		●		●	
K100118	2010	Lp	1	609		58	男	喀痰	●				●	
K100503	2010	Lp	1	42		69	男	喀痰	●			●	●	
K110728	2011	Lp	1	1077		55	女	喀痰	●		●		●	胸部異常影(糖尿病あり)
K111019	2011	Lp	1	120		78	男	喀痰	●		●		●	
KD111109	2011	Lp	1	120		78	男			●	●	●	●	腹痛、多臓器不全
K111117	2011	Lp	1	1077		91	男	喀痰	●	●			●	
K111213	2011	Lp	1	1077		69	男	喀痰	●	●		●	●	
K120214	2012	Lp	1	42		55	男	喀痰	●		●		●	
K121108	2012	Lp	1	530		71	男	喀痰	●		●		●	ICUに入院
K140618	2014	Lp	1	1845		53	男	喀痰	●	●	●		●	多臓器不全
K140624	2014	Lp	1	1847		50	男	喀痰	●				●	下痢
K140714	2014	Lp	1	23		68	男	喀痰	●				●	筋肉痛、全身倦怠感、下痢
K140904	2014	Lp	1	1846		49	男	喀痰	●				●	肝障害、腎不全
KD110625	2011	Lp	2	354		63	男		●	●			●	肺炎から死亡(糖尿病あり)
K79	2008	Lp	3	93	A	66	男	喀痰	●	●			●	
K86	2008	Lp	3	93	A	58	女	喀痰						胸部異常影、症状無し
K95	2008	Lp	3	93	A	79	女	喀痰						胸部異常影、症状無し
K100423	2010	Lp	3	93	A	60	女	肺胞洗滌液	●		●		●	
K100712	2010	Lp	3	93	A	74	男	喀痰	●				●	
K110707	2011	Lp	3	93	A	77	男	喀痰						胸部異常影、症状無し
K110908	2011	Lp	3	93	A	59	女	喀痰						胸部異常影、症状無し
K120831	2012	Lp	3	93	A	58	女	喀痰						胸部異常影、非定型肺炎疑い
K130920	2013	Lp	3	93	A	73	男	喀痰	●	●				
K130108	2013	Lp	9	1283		65	男	喀痰	●				●	全身倦怠感
K141119	2014	Lp	9	未実施		59	男	気管内 吸引痰	●			●	●	
KD120905	2012	Lp	10	1427		74	男	喀痰	●	●	●		●	ICUに入院、死亡(糖尿病あり)

表4 県内で分離された *L.pneumophila* SG3 株の PFGE パターン数

由来	菌株数	バンドパターン数
浴槽水	109	60
原湯	4	4
ジャグジー水	7	5
プール水	8	4
プールろ過水	1	1
フローミル水	9	1
ろ過水	4	1
冷却水	3	3
シャワー水	1	1
患者	9	1
計	155	

\*検体間の重複を含む