

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）

研究報告書

公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究

#### 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

研究協力者 小澤 賢介 デンカ生研株式会社

研究要旨 本研究では、浴槽水、シャワー水および市中河川水における *Legionella* 属菌の汚染状況調査と、感染源となり得る環境検体周辺の空気中の *Legionella* 属菌の棲息状況について、直接平板培養法だけでなく、アメーバ共培養法も併用して調査した。また、患者検体から最も多く分離されている *Legionella pneumophila* 血清群 1（以下 Lp1）を環境検体から効率よく検出するため、抗 Lp1 抗体で感作した免疫磁気ビーズ（LP1 IMB）を用いて Lp1 を選択的に濃縮する方法について検討した。

*Legionella* 属菌の検出率は、浴槽水で 8/40 検体（20.0%）、シャワー水で 10/29 検体（34.5%）であった。アメーバ共培養法による分離結果は、浴槽水、シャワー水あわせた 69 検体中 10 検体（14.5%）で、平板培養法の 18 検体（26.1%）に比べ、アメーバ共培養法で低かった。河川水からは 3/4 回の調査で *Legionella* 属菌が分離され、その検出率は浴槽水やシャワー水より高かった。エアロゾルの調査については、道路沿い 99 検体、浴室内 16 検体から、直接培養法およびアメーバ共培養法において *Legionella* 属菌は分離されなかった。しかしながら、遺伝子検査法では道路沿い検体で 69.7%（69/99 検体）、浴室内検体で 75.0%（12/16 検体）から *Legionella* 属菌の遺伝子が検出された。その 16S rRNA 遺伝子のコピー数（copies/m<sup>3</sup>）は、道路沿い検体で 60.6、浴室内検体で 71.0 であった。降水量が 10 mm 以上の日で遺伝子量が多い傾向であった（t 検定 = 0.073）。Lp1 IMB を用いた Lp1 の選択的濃縮については、Lp1 の回収率が 25.0～50.0%であったのに対し、Lp6、Lp5 では 7.1%、9.6%、*L. bozemanii* や *L. cherii*、*L. anisa* については、0.0～0.01%と、Lp1 で高かった。また、直接平板培養法で Lp1 が分離されなかった実際の浴槽水検体から、IMB 法で Lp1 を分離することができた。

以上の結果から、道路沿いのエアロゾルは浴室内のそれと同様のリスクを含むことを示したものと考える。今後、条件を変えながら検討することで、レジオネラ症の罹患のリスクの一端が明らかになるものと期待できる。一方、Lp1 IMB 法については、Lp1 の選択的濃縮に有用であることが示された。雑菌を除去する工程を加えるなど、検出感度をあげることができれば、感染源の特定に有用な方法となることが期待される。

## A. 研究目的

レジオネラ症は、感染症発生動向調査によると、平成 27 年の全国での届出数が 1,587 件と、統計を取り始めた 2000 年からの 16 年間でもっとも多かった。本疾患は 2003 年の尿中抗原検査の保険適用により全国的に届出数が増加傾向を示し始めたが、それから既に 10 年以上が経過した現在でも増加傾向は続いている<sup>1)</sup>。一方、富山県におけるレジオネラ症の発生状況は全国と同様の傾向であるだけでなく、その罹患率は全国の中でもっとも高い状況が続いている<sup>1)</sup>。そして、本疾患の感染源は、富山県でも、全国でも特定された事例は多くはない。

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浴槽水とシャワー水、河川水中の *Legionella* 属菌の棲息状況を調査した。今年度はアメーバ共培養法についても検討した。また、これまでの調査で *Legionella* 属菌が検出された環境検体からの感染様式を明らかにするため、検体採取近辺で空气中に浮遊する *Legionella* 属菌を調査した。一方、患者検体から最も多く分離されている *Legionella pneumophila* 血清群 1 (以下 Lp1) を環境検体から効率よく検出するため、抗 Lp1 抗体で感作した免疫磁気ビーズ (IMB) を用いて選択的濃縮法による Lp1 の分離について検討した。

## B. 研究方法

### 1. 感染源調査 (浴槽水・シャワー水・河川水)

#### 検体

調査対象は、公衆浴場の浴槽水、シャワ

ー水および河川水とした。浴槽水とシャワー水については、対象施設の選定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、富山市の街の中心部を流れる 4 河川を対象とした。

#### 調査期間と試料

浴槽水とシャワー水の試料は、平成 28 年 9 月～12 月に 11 施設で採取された 40 検体および 29 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 秒間流出させた後、容器に採取した。河川水の試料は、富山市内を流れる 4 河川 5 地点 (図 1) で 5, 6, 9, 10 月に採取した 20 検体である。

#### *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>2)</sup>に準じて行なった。

濃縮方法：浴用水 1,200 ml、シャワー水 500 ml、河川水 1,000 ml は、メンブランフィルター (直径 47 mm, 0.2 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。

培養法：浴槽水、シャワー水は濃縮、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 5 分間静置)、加熱処理 (50℃ 20 分アルミバスで加熱) を行い、その 100 μl を GVPC 培地 (日水製薬) 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 μl

について同様に培養した。また、濃縮液 1 ml に PYGC 培地で 30 1 週間培養したアメーバ増菌液（古畑らの報告<sup>3)</sup>）を添加し、35 で 1 か月培養した（アメーバ共培養法）。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 培地にコンラージ棒で広げて、35 で 7 日間培養した。河川水は、濃縮検体 5 ml について、上記に示したアメーバ共培養法を実施した。

#### 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>4)</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（ピオメリュー）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。

Sequence-Based Typing 法による遺伝子型（ST）の決定は、European Working Group for *Legionella* Infections の方法に従って実施した

([http://www.hpa-bioinformatics.org.uk/legionella/legionella\\_sbt/php/sbt\\_homepage.php](http://www.hpa-bioinformatics.org.uk/legionella/legionella_sbt/php/sbt_homepage.php))。

## 2. エアロゾル調査

主に雨天の日の道路沿い 99 検体および浴用施設の浴室内 16 検体について、エアースンプラ（コリオリス  $\mu$ ）を用いてエアロゾルを捕集した。道路沿いのエアロゾルについては、6 月～11 月にかけて、県内 12 地点で捕集した。浴室内のエアロゾルについては、10 月～12 月にかけて 12 施設で捕集した。なお、12 検体は 9 施設のミスト発

生装置（稼働中）周辺の浴槽水付近で捕集した。15 ml の溶液（0.005% Tween 80 液）中に 300 l/min の条件で 10 分間捕集した。

遺伝子検査法は、捕集液 2 ml を用いて行った。15,000 rpm で 5 分間遠心後の沈殿に 100  $\mu$ l のキレックス溶液を添加し、100 で 10 分加熱後、遠心上清を DNA 溶液とした。定量 PCR は、Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit（タカラバイオ）を用いた。

直接培養法による検査は、捕集液 100  $\mu$ l を GVPC 培地（日水製薬）にコンラージ棒で広げて、35 で 7 日間培養した。

アメーバ共培養法による検査は、浴用水・シャワー水・河川水と同様に行った。

## 3. 免疫磁気ビーズによる Lp1 の選択的濃縮法の検討

### 免疫磁気ビーズ作製方法

Lp1 IMB はデンカ生研で作製した。Lp1 以外の血清群に対する交差反応を吸収後、硫酸分画にて粗精製し、至適感作濃度（ビーズに結合しやすい抗体の濃度）とした抗体を磁気ビーズに感作し、Lp1 免疫磁気ビーズ（Lp1 IMB）とした。

### 使用菌株と菌懸濁液作製法

菌株は表 1 に示した。これらの菌を滅菌生理食塩水にてマックファーランド 2.0 に調整し、その -5 乗もしくは -6 乗まで 10 倍段階希釈し、検体とした。菌懸濁液 100  $\mu$ l を BCYE- $\alpha$  培地（ピオメリュー）にコンラージ棒で広げ、35 で 7 日間培養し、菌数を測定した。

### IMB による Lp1 濃縮法

浴槽水検体もしくは菌懸濁液 1 ml に IMB 1 滴（およそ 25  $\mu$ l）を滴下し、10 分毎に転倒混和しながら 30 分間吸着させた。

ビーズを磁石で集め、滅菌生理食塩水で洗浄した。この操作（洗浄）を2回実施した後、最終的に生食 100 µl もしくは 200 µl に懸濁、ボルテックスでよく混和し、IMB 検体とした。この IMB 検体 100 µl を BCYE-α 培地、GVPC 培地のどちらか1枚もしくは両方にコンラージ棒で拡げ、35 で7日間培養した。

#### IMB の性能試験

- 5 乗、- 6 乗希釈したレジオネラ菌懸濁液 1 ml を の方法で濃縮分離した(単一血清群での回収率)。また、*L. pneumophila* の2血清群または *L. pneumophila* と他の菌種の懸濁液をそれぞれ 1:1 ,あるいは 1:9 に混合したものを検体とし、 の方法で Lp1 を濃縮分離した(混合血清群での回収率)。分離平板に発育した菌数を数え、 で求めた推定菌数に対する回収率を比較した。菌数が多い場合には 12~24 個のコロニーについて、レジオネラ免疫抗血清を用いて血清群別を行い、その比率から発育菌数を求めた。また、平板上で蛍光を発する菌については蛍光を指標として菌数を区別して数えた。

Lp1 IMB による浴槽水からの Lp1 検出

浴槽水検体を用いて、 に従い、Lp1 の分離を試みた。

#### (倫理面への配慮)

本研究は、研究機関内外の倫理委員会等における承認手続きが必要となる研究には該当しない。

### C. 研究結果

#### 1 .浴槽水・シャワー水における *Legionella* 属菌検出状況

浴槽水及びシャワー水から検出された *Legionella* 属菌の菌数および菌種(血清群)を表 2 に示した。*Legionella* 属菌が検出されたのは、浴槽水で 4/11 施設 (36.4%) から 8/40 検体 (20.0%)、シャワー水で 5/11 施設 (45.5%) から 10/29 検体 (34.5%) であった。*Legionella* 属菌数が 1,000 CFU/100 ml を越えたものは浴槽水 2 検体で、いずれも塩素注入されていない施設であった。*Legionella* 属菌が分離されたシャワー水の水質は 8 検体 (80%) が井戸水であった。その菌数が最も多かったのは温泉水を利用し、遊離残留塩素濃度(以下残塩濃度: mg/l)が 0.2 以下のシャワー水であった。浴槽水から分離された *Legionella* 属菌で最も多かったのは Lp6、次いで Lp1 であった。シャワー水で最も多かったのは Lp5 と Lp15 であった。

次に、今年度実施したアメーバ共培養法による *Legionella* 属菌の分離結果について、通常直接平板培養法と比較した結果を表 3 ~ に示した。*Legionella* 属菌の検出率(表 3 )は、69 検体中、平板培養法で 18 検体 (26.1%)、アメーバ共培養法で 10 検体 (14.5%) と平板培養法で高かった。*L. pneumophila* では、アメーバ共培養法でのみ検出された血清群は認められなかった(表 3 )。これ等の結果について表 3 で相関を見ると、平板培養法で *Legionella* 属菌のみ分離された検体が 10 件で、アメーバ共培養のみ陽性となった 2 検体はどちらもシャワー水で、分離されたのは Lp6 と UT であった。

河川水における *Legionella* 属菌の月別の検出率と分離された菌を表 4 に示す。6 月を除き、*Legionella* 属菌が検出され、その

検出率は浴槽水やシャワー水よりも高かった。データは示していないが、地点1で検出率(3/4検体, 75%)が高かった。また、分離されたのは、*L. pneumophila*が多かった。分離されたLp1のSTは、ST127であった。

## 2. バイオエアロゾル *Legionella* 属菌検出状況

道路沿い99検体、浴室内16検体について調査した結果、直接培養法およびアメーバ共培養法において *Legionella* 属菌は分離されなかった(表5)。しかしながら遺伝子検査法においては、道路沿い検体で69.7%(69/99検体)、浴室内検体で75.0%(12/16検体)から *Legionella* 属菌の遺伝子が検出された。16S rRNA 遺伝子のコピー数(copies/m<sup>3</sup>)は、道路沿い検体で60.6、浴室内検体で71.0であった。

道路沿い検体について、降水量、平均気温、平均湿度ごとの検出率などを比較した(表6)。エアロゾル捕集当日の降水量が10mm未満と以上の日で、コピー数の幾何平均が49.7と88.1となり、10mm以上の日で遺伝子量が多い傾向であった(t検定=0.073)。

## 3. 免疫磁気ビーズによるLp1の選択的濃縮法の検討結果

Lp1を含む供試菌(表1)のLp1 IBMによる回収率結果を表7に示した。全体としてみると、Lp1の回収率が25.0~50.0%であったのに対し、Lp6、Lp5では7.1%、9.6%、*L. bozemanii*や*L. cherokee*、*L. anisa*については、0.0~0.01%と低かった。-5乗より-6乗希釈液での回収率が高い菌株が多く、50%を超える回収率が、菌株No. 3, 4, 5の希釈液で認められた。

Lp1とそれ以外の *Legionella* 属菌懸濁液を混合した場合の結果は図2, 3に示した。等量混合した場合(図2)では、Lp1の回収率は16回中12回(75.0%)で40.0%以上を示し、他の菌の回収率より高かった。しかしながら、7回目、15回目では、これらは同一日に実施しているが、Lp1は平板上にそれぞれ6個、2個のみ発育が認められただけで、その回収率は2%以下と低かった。

一方、Lp1と他の *Legionella* 属菌懸濁液を1:9で混合した場合、1~11回目(11/17, 64.7%)でLp1の回収率は40.0%以上であったが、14回目を除き、12~17回目の試験では回収率は10%以下と低かった。12, 13回目は前述の等量混合の7, 15回目と同一日に実施した。6回目の実験も同一日に実施したが、Lp1の回収率は10.6%と高くはなかった。表には記載していないが、13回目の実験は2重測定したが、もう一方の結果も9.1%と、10%以下の回収率であった。

次に、実際の浴槽水の100倍濃縮水にLp1 IMBを用いたときの培養結果について、直接培養法と比較した結果を表8に示した。IMBを用いた場合にLp1が分離されたのは2検体で、逆に直接培養法のみでLp1が分離されたのも2検体であった。結果が異なった4検体の詳細を改めて表8の下段に示した。IMB法のみでLp1が分離された検体では、直接培養法の結果は、1検体が *Legionella* 属菌陰性、1検体(590 CFU/100 ml)はLp1は分離されなかったもののLp3, Lp4, Lp5が分離された。直接培養法のみでLp1が分離された2検体はどちらも *Legionella* 属菌の菌数は少なかった。

#### D. 考察

2007年から2016年にわが国におけるレジオネラ症患者から分離され、レファレンスセンターで解析されたレジオネラ属菌は、85.1%がLp1であった。そして、このLp1のSBTの遺伝子型をMinimum Spanning Treeで解析すると、129/410株(31.4%)は浴槽水グループに、165/410株(40.2%)は土壌・水溜り分離株グループに近いことがわかっている<sup>5)</sup>。しかしながら、実際には感染源が判明した事例は極めて少ない状況である。平成26年度のレファレンスセンター収集株の中で、推定感染源からの環境検体分離株のPFGEが臨床検体分離株と一致したのは6例のみであった<sup>6)</sup>。

このような背景を踏まえ、本研究では、実際に感染源となり得る環境検体中のエアロゾルまたはミスト中の*Legionella*属菌を証明し、とりわけ、水溜りなど、これまで直接的な感染源とは証明されていない環境のリスクを明らかにしようと試みた。残念ながら、直接平板培養、アメーバ共培養法、どちらの培養法でも*Legionella*属菌を分離することはできなかった。しかしながら、遺伝子検出法では60~70%の検体で陽性となり、空气中に*Legionella*属菌が浮遊していることが示唆された。また、興味あることに、道路沿いで採取した検体(69.7%)における*Legionella*属菌の遺伝子の検出率は、浴室内のミスト発生装置周辺で採取した検体(75.0%)と比較して大きな差は認められなかった。このことは、道路沿いのエアロゾルは浴室内のそれと同様のリスクを含むことを改めて示したものと考える。今後、晴天の日やエアロゾルの発生のない屋内における検出率や遺伝子量と比較する

ことで、雨天の日の道路沿いや浴用施設の浴室内におけるレジオネラ症罹患のリスクが明らかとなる可能性が示唆された。なお、アメーバ共培養については、これまでの報告<sup>7)</sup>でも直接培養法に比べ、検出率が低いと報告されており、本年の結果もそれと同様の結果であった。この原因は明らかではないが、環境中ではアメーバへの感染が増殖の重要な過程となっていることから、共培養については検査法の検討が必要であると思われる。

レジオネラ症の感染源を特定することは、感染拡大を防止するために重要となる。そのためには、患者喀痰から多く分離されるLp1を標的として分離を試みる必要がある。しかしながら、感染源となるような、すなわち衛生管理の不十分な浴槽水はLp1だけでなく、他の血清群の*L. pneumophila*をはじめ、いわゆる雑菌も多く検出される場合が多いため、標的とするLp1の検出が困難となる場合が多い。一部の*Legionella*属菌は選択分離培地上で蛍光を発するなど、視覚的に鑑別可能であるが、多くはコロニー形状だけでLp1と特定することはできない。そのため、Lp1を検出するには多くのコロニーについて血清群を調べるなど、時間と労力がかかることが大きな課題である。本年度、Lp1を標的としたIMBを用いた選択的濃縮分離法は、一部で十分な回収率が得られなかったが、多くの場合で本法が有用であることを示した。回収率が低かった実験結果の原因は不明であるが、ある特定の日の実験では、ビーズ濃縮法を用いない培養平板でも菌数が少なく、菌の状態に問題があった可能性があり、結果として回収率が低くなったのかもしれない。IMB法は

これまでも様々な菌種での検査法<sup>8)</sup>に採用されている事からも、その有用性が高いという結果は信頼できるものとする。本年の実際の浴槽水において Lp1 IMB を使用した培養法で、従来の直接平板培養法で検出できなかった Lp1 を検出した意義は大きい。残念ながらこの Lp1 は患者由来株と SBT が異なっていたため、感染源特定には至らなかったが、この IMB 法はレジオネラ症の感染源の特定に一助となることが明らかとなった。さらに検出感度を高めるため、Lp1 以外の菌を除去する方法として、酸処理法や熱処理法などを検査工程に加える検討が必要と思われる。

#### 結語

感染源となり得る環境（エアロゾル）検体から *Legionella* 属菌の遺伝子を検出し、ヒトへの感染経路の一端を証明することができた。しかしながら、直接、菌を分離することはできなかったため、継続した調査が必要である。一方、IMB については、感染源調査に有用と思われるため、検出感度の向上を目指し、実用化に向けて具体的な使用手順などの検討が必要である。

#### 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) 国立感染症研究所感染症発生動向調査週報。  
[http://www.nih.go.jp/niid/ja/allarticles/sur](http://www.nih.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/239-idwr/data/6998-idwr-sokuh)

[veillance/239-idwr/data/6998-idwr-sokuh-o-data-j-1652.html](http://www.nih.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/239-idwr/data/6998-idwr-sokuh-o-data-j-1652.html) .

2) 森本 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 93-131 .

3) 古畑 勝則, 他. 2002. 土壌からの *Legionella* 属菌の分離状況. 日本防菌防黴学会誌. 30:555-561 .

4) 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 .

5) レジオネラレファレンスセンター会議報告. 2016 年. 衛生微生物技術協議会第 37 回研究会 .

[http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H28\\_Legionnaires.pdf](http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H28_Legionnaires.pdf) .

6) レジオネラレファレンスセンター会議報告. 2015 年. 衛生微生物技術協議会第 36 回研究会 .

[http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H27\\_Legionnaires\\_2.pdf](http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H27_Legionnaires_2.pdf) .

7) Akiko Edagawa et al. 2015.

Investigation of *Legionella*

Contamination in Bath Water Samples by Culture, Amoebic Co-Culture, and Real-Time Quantitative PCR Methods.

Int J Environ Res Public Health.

12:13118-13130.

8) 工藤由起子, 他. 2015. 腸管出血性大腸菌 O26, O103, O111, O121, O145 および O157 の食品からの検出における選択増菌培地および酵素基質培地の検討. 日本食

品微生物学会誌 . 32:60-66 .

F . 研究発表

論文発表

Jun-ichi Kanatani, Junko Isobe, et al.  
2017. Prevalence of *Legionella* Species  
Isolated from Shower Water in Public  
Bath Facilities in Toyama Prefecture,  
Japan. J Infect Chemother. Epub ahead  
of print. doi: 10.1016/j.jiac.2017.01.002.

報告

磯部順子 , 金谷潤一 , 他 : 富山県における  
浴用水中 Legionella 属菌の分離状況( 2015  
年 ) 富山県衛生研究所年報.39,61-67 ,2016.

G.知的財産権の出願・登録状況

なし



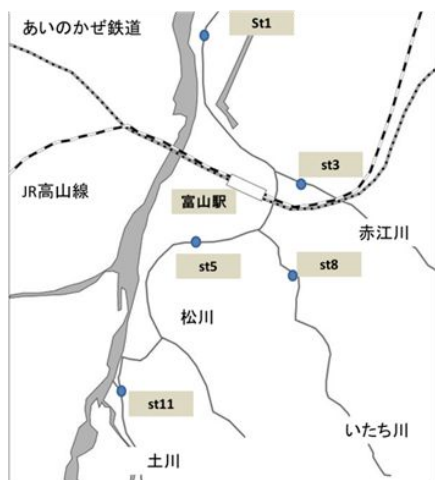


図1 平成28年度市中河川水採水地点

表1. 免疫磁気ビーズ法の検討に供試した菌株

	<i>Legionella</i> spp. (serogroup)	<i>lagI</i> 遺伝子	SBT
1	<i>L. pneumophila</i> (1)	+	ST 505
2	<i>L. pneumophila</i> (1)	+	ST 644
3	<i>L. pneumophila</i> (1)	+	ST UT
4	<i>L. pneumophila</i> (1)	-	ST 644
5	<i>L. pneumophila</i> (1)	-	ST 1094
6	<i>L. pneumophila</i> (1)	-	ST UT
7	<i>L. pneumophila</i> (6)	NT	
8	<i>L. pneumophila</i> (5)	NT	
9	<i>L. bozemanii</i>	NT	
10	<i>L. cherii</i>	NT	
11	<i>L. anisa</i>	NT	

表2. 浴槽水・シャワー水における*Legionella*属菌検出状況

		浴槽水	シャワー水	計
	施設数	11	11	11
	検体数	40	29	69
	陽性数	8	10	18
	検出率(%)	20.0	34.5	26.1
レジオネラ属菌数別 検体数	10未満*1	32	19	51
	10-99	4	4	8
	100-999	2	6	8
	>1000	2	0	2
分離された レジオネラ属菌の 血清群	Lp1*2	3	1	4
	Lp3	2		2
	Lp5		4	4
	Lp6	4	3	7
	Lp9	1		1
	Lp15		4	4
	UT		1	1

\*1: CFU/100ml

\*2: *Legionella pneumophila* serogroup 1

表3. 浴槽水・シャワー水における平板培養法とアメーバ共培養法との比較

①レジオネラ属菌の検出率

	検体数	陽性数	検出率(%)
平板培養法	69	18	26.1
アメーバ共培養法	69	10	14.5

②分離されたレジオネラ属菌の血清型

	Lp1*1	Lp3	Lp5	Lp6	Lp9	Lp15	UT
平板培養法	4	2	4	7	1	4	1
アメーバ共培養法	1		1	5			3

\*1: *L. pneumophila* serogroup 1

③両法の相関

		アメーバ共培養法		
		陽性	陰性	計
平板培養法	陽性	8	10	18
	陰性	2	49	51
計		10	59	69

表4. 市中河川水におけるアメーバ共培養法による*Legionella*属菌の月別検出率

調査月	陽性数／検体数 (陽性率%)	分離された <i>Legionella</i> 属菌
5月	3/5 検体 (60.0)	Lp 1 <sup>*1</sup> 、Lp 6、Lp 15
6月	0/5 検体	
9月	2/5 検体 (40.0)	Lp 2、 <i>L. waltersii</i>
10月	1/5 検体 (20.0)	Lp 2、 <i>L. longbeachae</i>
6/20 検体 (30.0)		

\*1: *L. pneumophila* Serogroup 1

表5. エアロゾル中の*Legionella*属菌検出状況

		道路沿い	浴室内
検体数		99	16
培養陽性検体数	直接法	0	0
	アメーバ増菌法	0	0
遺伝子陽性検体数	リアルタイムPCR法(%)	69 (69.7)	12 (75.0)
	コピー数の幾何平均(copies/m <sup>3</sup> )	60.6	71.0

表6. 道路沿いエアロゾルにおける*Legionella*属菌検出状況

		リアルタイムPCR			カイ二乗 検定	コピー数の幾何平均 (copies/m <sup>3</sup> )	t検定
		n	陽性数	検出率 (%)			
降水量	10 mm未満	69	45	65.2	P=0.141	49.7	P=0.073
	10 mm以上	30	24	80.0			
平均湿度	70%未満	18	15	83.3	P=0.164	25.9	P=0.373
	70%以上	81	54	66.7			
平均気温	20度未満	24	19	79.2	P=0.246	58.5	P=0.990
	20度以上	75	50	66.7			

表7. IMBによる*Legionella*属菌(単一血清群)の回収率

	全体			-5希釈液			-6希釈液		
	測定 回数	回収率 平均	実測値 平均	測定 回数	回収率 平均	実測値 平均	測定 回数	回収率 平均	実測値 平均
<i>L. p.</i> SG1 ST505 (+)	5	37.6%	506	2	38.2%	1032	3	37.2%	155
<i>L. p.</i> SG1 ST644 (+)	4	30.4%	304	2	15.3%	401	2	45.6%	21
<i>L. p.</i> SG1 ST:UT (+)	3	49.8%	248	1	34.7%	327	2	57.4%	208
<i>L. p.</i> SG1 ST644 (-)	2	50.2%	863	1	46.3%	1158	1	54.1%	569
<i>L. p.</i> SG1 ST1094 (-)	3	46.0%	593	1	34.6%	1348	2	51.7%	216
<i>L. p.</i> SG1 ST:UT (-)	3	25.0%	110	1	6.8%	125	2	34.1%	103
<i>L. p.</i> SG6	6	7.1%	58	1	3.8%	194	5	10.1%	31
<i>L. p.</i> SG5	3	9.6%	61				3	9.6%	61
<i>L. bozemanii</i>	1	0.0%	9						
<i>L. cherii</i>	1	0.0%	0						
<i>L. anisa</i>	4	0.1%	26	3	1.3%	35	1	0.0%	0

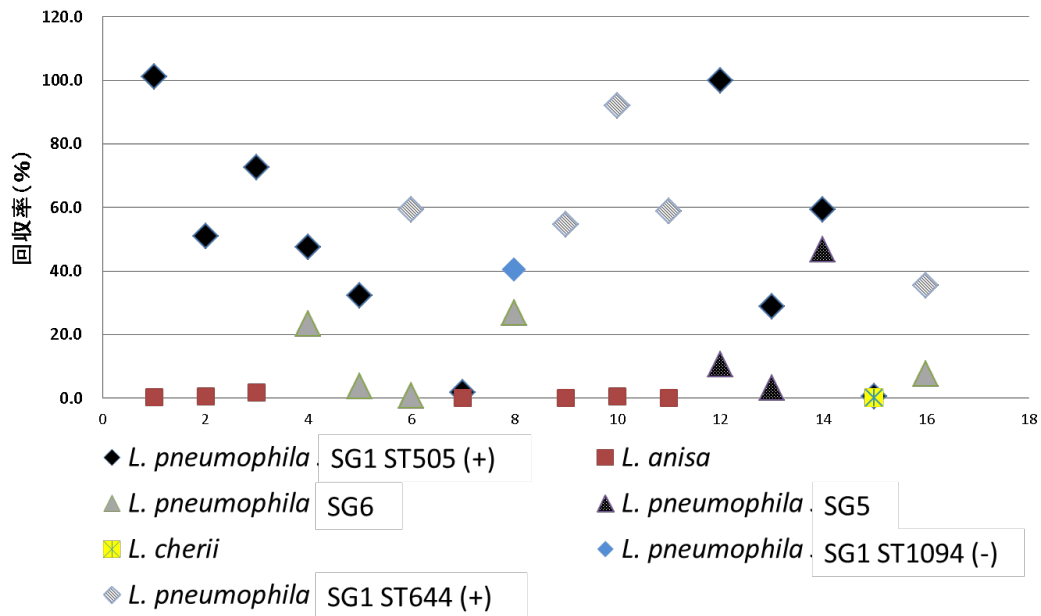


図2. 2つの菌を等量混合した場合の回収率の比較

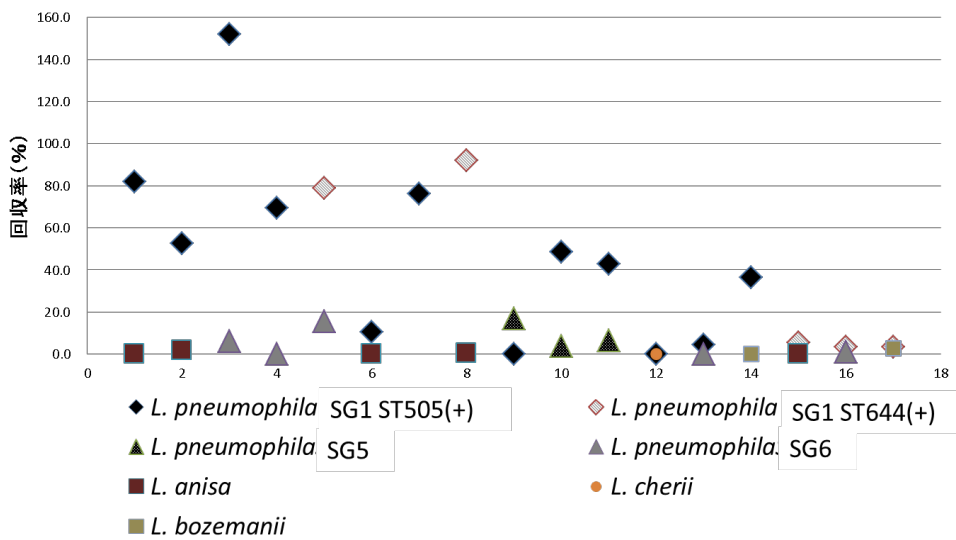


図3. Lp1 菌の混合比を 1/10 にした場合の回収率の比較

**表 8 . 実検体（浴槽水）における Lp1 の分離状況  
（免疫磁気ビーズと通常培養法との比較）**

		ビーズ法	
		Lp1+	Lp1-
培養法	Lp1+	3	2 <sup>*3,4</sup>
	Lp1-	2 <sup>*1,2</sup>	47

<i>Legionella</i> 属菌分離状況		
IMB法	直接培養法	菌数(cfu/100ml)
*1 Lp1, Lp5	Lp3,Lp4,Lp5	590
*2 Lp1	ND	<10
*3 ND	Lp1	20
*4 ND	Lp1,Lp9	10