

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
研究代表者 前川 純子 国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官

分担研究報告書
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 本研究では、浴槽水、シャワー水およびカラン水における *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、平板培養法で調査した。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、*Lp1* 抗血清で感作した免疫磁気ビーズ（*Lp1*-IMB）を用いて選択的に濃縮する方法について検討した。

Legionella 属菌が検出されたのは、浴槽水で 10/49 検体（20.4%）、シャワー水で 4/28 検体（14.3%）、カラン水で 5/15 検体（33.3%）であった。エアロゾルの調査については、46 検体について検査した結果、いずれの検体からも *Legionella* 属菌は分離されなかった。

Lp1-IMB 法において、*Lp1* は浴槽水 3/49（6.1%）検体、シャワー水では 1/28（3.6%）検体、また、カラン水 1/15（6.7%）検体から分離された。検体の種類による *Lp1* の検出率に差は認められなかった。また、qPCR 法による *sg-1* 特異的遺伝子は、全体で 19/92 検体（20.6%）から検出された。その内訳は、浴用水 15/49 検体（30.6%）、シャワー水 2/28 検体（7.1%）、およびカラン水 2/15（13.3%）で、浴用水での検出率が高かった。*Lp1* について着目すると、通常培養法、*Lp1*-IMB 法、および *sg1*-qPCR 法の 3 法いずれにおいても *Lp1* が検出されたのは、浴用水、シャワー水それぞれ 1 検体のみであった。濾過濃縮（100 倍）を 5 倍希釈した検体（20 倍濃縮液）を用いた *Lp1*-IMB 濃縮法による *Lp1* の検出結果では、100 倍濃縮液で 2/8（25.0%）、20 倍濃縮液では 5/8（62.5%）と、20 倍濃縮液で検出率が高かった。

一方、濃縮検体を用いない検査法である「Legiolert」で *Lp* 陽性となったのは 100ml 検体で供試した場合 3/29（10.3%）検体、10ml 検体で供試した場合 8/63（12.7%）検体であった。

以上の結果から、感染源となり得る環境（エアロゾル）検体から *Legionella* 属菌を分離することができなかったが、ヒトへの感染経路の一端を解明することが必要であると思われる。*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。*sg1* qPCR 法と組み合わせることで、感染源調査に有用となると考えられた。

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、2018年の全国での届出数が未確定ながら2,130件と、統計を取り始めた2000年から19年間でもっとも多かった¹⁾。富山県においてもレジオネラ症の届出は全国と同様な状況となっているが、加えて、レジオネラ症罹患率(対人口10万人)は全国の中でもっとも高く¹⁾、散发事例での感染源は特定されることは極めて少ないという状況が続いている。

そこで、レジオネラ症の発生予防を目的とし、感染源を明らかにするため、富山県の公衆浴場の浴槽水、シャワー水およびカラン水の*Legionella*属菌の棲息状況を調査した。また、これまでの調査で*Legionella*属菌が検出された環境検体について、ヒトへの感染様式を明らかにするため、検体採取近辺で空気中に浮遊する*Legionella*属菌を調査した。一方、感染源特定のために必要となる感染源疑いの環境検体から、患者検体で最も多く分離されている*Legionella pneumophila*血清群1(以下*Lp1*)を効率よく検出するため、*Lp1*で感作した免疫磁気ビーズ(*Lp1*-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、シャワー水およびカラン水)

検体

調査対象は、公衆浴場の浴槽水、シャワー水およびカラン水とした。浴槽水、シャワー水およびカラン水については、対象施設の選定と採水を厚生センター職員に依頼した。

調査期間と試料

浴槽水、シャワー水およびカラン水の試料は、それぞれ49、28および15検体、計92検体である。シャワー水およびカラン水については、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。

*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^{2,3)}に準じて行なった(通常培養法)。

濃縮方法:浴用水(1,500 ml)、シャワー水(1,500 ml)およびカラン水(1,500 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、そのフィルターを100倍濃縮液となるように滅菌蒸留水で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、シャワー水およびカラン水は、100倍濃縮液について未処理、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7日間培養した。ただし、酸処理検体は、200 μlについて同様に培養した。非濃縮検体については、未処理の100 μlをGVPC培地にコンラージ棒で広げて、35℃で7日間培養した。

2. エアロゾル調査

2018年5~8月に道路沿いの6地点で、慣性衝突法によるエアサンプラー(BIOSAMP, ミドリ安全株式会社)を用

いて、エアロゾルを計 46 サンプル捕集した。エアサンプラーに GVPC 培地(日水製薬)を設置し、100 l/min の条件で 5 および 15 分間(各 23 検体)捕集した。捕集後、GVPC 培地を 35 で 7 日間培養し、レジオネラ属菌を探索した。

3 .IMB による *Lp1* の選択的濃縮法の検討

Lp1-IMB 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* 免疫磁気ビーズとした。

Lp1-IMB による実検体からの *Lp1* 濃縮分離法

供試検体は、前述の感染源調査で 100 倍濃縮された浴槽水 49 検体、シャワー水 28 検体、カラン水 15 検体、計 92 検体とした。

Lp1-IMB 濃縮法：検体(100 倍濃縮液)を、希釈しない濃縮検体 1 ml と、滅菌生理食塩水で 5 倍希釈した希釈検体 1 ml の 2 通り準備した。これらの検体に *Lp1*-IMB 25 μ l を接種し、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 200 μ l 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 μ l を GVPC 培地にコンラージ棒で拡げるだけとし、表面に接種した検体が確認できなくなつてから 35 で 7 日間培養した。

Lp1 特異的遺伝子の検出 (sg1-qPCR 法)

DNA 抽出は、Loopamp レジオネラ検出試薬キット E (栄研化学) に添付の抽出試

薬を用い、取扱説明書に従い実施した。sg1-qPCR は M \acute{e} rault らの報告⁴⁾に従い、プライマーおよびプローブを作製し、反応試薬として Premix Ex Taq (Probe qPCR) (タカラバイオ)を用いて実施した。

ATP の測定

検水 100 倍濃縮液にルシパック Pen (キッコマン)の専用綿棒を浸して約 100 μ l を吸い取り、携帯用簡易測定器を用いて検水 10 ml 当たりの RLU 値を測定した。

非濃縮検体を用いた培養法による *L. pneumophila* 最確数の検討

検水を付属の滅菌容器入れ、そこに Legiolert (アイデックスラボラトリーズ)培地を入れ、試薬が完全に溶解するまで混和した。検水 100 ml で検査する場合は、硬度試験紙にて硬度を測定し、度合いに応じてサプリメントを添加した。10 ml で検査する場合は、滅菌水 90 ml を付属の容器に入れ、そこに検水 10 ml を添加しよく混和し、10 倍希釈検体とした。それを定量用のトレイ (Quanti-Tray/Legiolert : QT-L) に入れ、専用のゴムシートに装着したのち、専用シーラーで密封した。それを湿潤箱に入れ、乾燥しないように水を含ませたペーパータオル等と共に密閉し、39 で 7 日間培養した。

(倫理面への配慮)

本研究は、研究機関内外の倫理審査委員会等において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、シャワー水およびカラン水における *Legionella* 属菌検出状況

浴槽水、シャワー水およびカラン水から

検出された *Legionella* 属菌の菌数および菌種(血清群)を表 1(a.b)に示した *Legionella* 属菌が検出されたのは、浴槽水 10/49 検体 (20.4%), シャワー水 4/28 検体(14.3%), カラン水 5/15 検体 (33.3%) 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、*Lp1* および *Lp9* (3 検体) であった。

2. バイオエアロゾルにおける *Legionella* 属菌検出状況

46 検体について検査した結果、いずれの検体からもレジオネラ属菌は分離されなかった。

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 の分離

Lp1-IMB 法で *Lp1* は浴槽水 3/49 (6.1%) 検体から、シャワー水で 1/28 (3.6%) 検体から、また、カラン水では 1/15 (6.7%) 検体から分離され、検体の種類による差は認められなかった(表 2)。また、*Lp1* 以外に、浴用水 2 検体から *Lp9* が、また、シャワー水 1 検体から *Lp5*、1 検体から *Lp6* が分離された。

Lp1 特異的遺伝子の検出 (sg1-qPCR 法)

Lp1 特異的遺伝子は、全体では 19/92 検体 (20.6%) から検出された。その内訳は、浴用水 15/49 検体 (30.6%), シャワー水 2/28 検体 (7.1%) およびカラン水 2/15 検体 (13.3%) で、浴用水での検出率が高かった。

ATP 値

ATP 値は、浴用水 49 検体で 58,161 RLU/10 ml がもっとも高く、平均値は

2,334 RLU/10 ml、シャワー水 28 検体で 279 RLU/10 ml がもっとも高く、平均値は 47 RLU/10 ml、カラン水 15 検体では高くても 75 RLU/10 ml で、平均値は 14 RLU/10 ml であった(データ未掲載)。

方法別レジオネラ属菌の検出状況

~ に示した *Lp1*-IMB 濃縮法、通常培養法、sg1-qPCR 法および ATP 値の結果について、いずれかの方法で *Legionella* 属菌が検出された検体を表 4 に示した。*Lp1*-IMB 法、sg1-qPCR 法は、*Lp1* を選択的に検出する方法であることから、*Lp1* について着目すると、3 法すべてで *Lp1* が検出されたのは、浴用水、シャワー水それぞれ 1 検体 (No.2 と No.20) のみであった。浴用水の No.6 と No.15 では、*Lp1*-IMB 濃縮法および sg1-qPCR 法で *Lp1* が検出されたが、通常培養法では *Lp1* は検出されず、それぞれ *Lp6* (10 cfu/100 ml)、*Lp9* (190 cfu/100ml) が検出された。No.15 の検体では *Lp1*-IMB 濃縮法においても *Lp9* が検出された。また、浴用水の No.18 では、sg1-qPCR 法陽性であったが、*Lp1*-IMB 濃縮法および通常培養法で検出されたのは *Lp9* であった。他に、*Lp1*-IMB 濃縮法で *Lp1* 以外のレジオネラ属菌が検出されたのは、No.21、No.23 のシャワー水で、それぞれ *Lp6*、*Lp5* が検出された。検体 No.14 では *Lp1*-IMB 濃縮法では、*Legionella* 属菌は検出されなかったが、通常培養法、sg1-qPCR 法で *Lp1* 陽性となった。一方、sg1-qPCR 法が陽性となった 19 検体のうち、通常培養法、*Lp1*-IMB 法それぞれ 15 検体で *Lp1* は検出されなかった(表 5)。いずれの方法も sg1-qPCR 法に対して、感度 21.1%、特異度 98.6%、一致率 82.6%であ

った。遺伝子検査法と培養法での *Lp1* の分離結果が異なった検体において、ATP との間に相関は認められなかった。

20 倍濃縮液を用いた *Lp1*-IMB 濃縮法による *Lp1* の検出

Lp1-IMB 濃縮法によって *Lp1* が検出された浴用水 5 検体について、100 倍濃縮液と、それを 5 倍希釈した 20 倍濃縮液における検出結果を比較した (表 6)。 *Lp1* は 20 倍濃縮液すべてから検出されたのに対し、100 倍濃縮液では 3 検体から検出されたのみであった。

非濃縮検体を用いた培養法による *L. pneumophila* 最確数の検討

Legiolert で *Lp* 陽性となったのは 100 ml 検体で 3/29 (10.3%) 検体、10ml 検体で 8/63 (12.7%) 検体であった。これを通常培養法と比較すると、100ml、10ml 検体を用いた結果の特異度はそれぞれ 95.8%、96.0%、感度は 40.0%、43%であった (表 7-a,b)。感度は高くなかったが、特異度は高く、陰性をよく予想できる結果であった。これを、浴用水検体のみに限って見ても同様の傾向であった。通常培養法で陽性、Legiolert 陰性となった 11 検体および Legiolert 陽性、通常培養陰性となった 3 検体を表 8 示した。通常培養で 550 cfu/100 ml、Legiolert で 126 MPN/100 ml であるにも関わらず、一方の培養法で *Legionella* 属菌が検出されない原因は明らかにはならなかった。

D. 考察

医療機関等で分離され、レファレンス事業として収集された臨床分離株について *Lp1* の SBT の遺伝子型を Minimum

Spanning Tree で解析した結果では、これらの由来は土壌・水溜り分離株グループに多く属する傾向が報告された⁵⁾。このデータは、レジオネラ症の患者の感染源を特定するため、検体を絞込むことが困難であることを示すものである。すなわち、現在のように浴用施設に着目しているだけでは、感染源を特定するのは困難であると思われる。

このような背景を踏まえ、本研究では、これまで報告されていない感染源を探求した。そして、環境検体から発生する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。

今年度は、エアーサンプラーで捕集したエアロゾルを直接培地に吹き付けるタイプの機器を使用した。しかしながら、昨年度と同様 *Legionella* 属菌を分離することはできなかった⁶⁾。

一方、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 (臨床分離株) 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、86.7%が *Lp1* であった⁷⁾。従って、分子疫学的解析を実施し、感染源を特定するには、環境検体から *Lp1* を検出することが重要となる。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用水は *Lp1* だけでなく、他の血清群の *L. pneumophila* をはじめ、他の *Legionella* 属菌種もしばしば検出される。従って、培地上の *Legionella* 属菌を形状だけで *Lp1* と特定するのは不可能であることから、*Lp1* を見落とすことが懸念される。また、夾雑菌による *Lp1* の発育抑制 (マス

キング)も課題である。本年度は、このマスキングに対応するため、一度濃縮した検体を5倍に希釈して、すなわち希釈率を変更して免疫磁気ビーズを試行したところ、濃縮検体そのまま検査した時より検出数が多かった。感染源調査などの場合には検討すべき方法であると思われた。一方、sg-1特異的遺伝子を標的としたPCR法と比較すると、Lp1-IMB法での検査法でLp1を検出できていないと思われる検体が認められた。一部はPCR法で死菌のDNAを検出している場合も考えられるが、一部は通常培養法でもLp1が検出されていることから、Lp1-IMB法の感度を上げる必要が示された。これらの結果から、感染源調査においては、qPCR法でLp1陽性となった検体を対象に、検体の希釈倍率を段階的にする、培地枚数を増やすなどの工夫が必要である。qPCR法は、前年度の研究報告書⁶⁾において報告したように、感度を上げる必要から、コンベンショナルPCR法に代えて、プローブを用いた方法である。その結果、Lp1特異遺伝子の検出率は昨年度、5/86(5.8%)検体であったのに対し、qPCR法を用いた今年度の検出率は19/92(20.6%)と高かった。検体が異なることから、単純に比較はできないが、昨年度の検体について、保管していたDNA抽出液でqPCR法を実施したところ、さらに6検体でsg-1特異遺伝子が検出された。これはプローブ法への変更で感度が高くなったことを示すものである。本法がスクリーニングと成りうるかについて、検体数を増やして、検討すべきと思われた。

通常培養法とLp1-IMB法で結果が異なった検体では、Lp1の菌数が10~30

cfu/100 mlと検出限界に近いものであった。1検体では、sg1-qPCR法の結果も陰性であった。したがって、この相違は供試した検体にLp1が含まれる確率の問題によることが考えられる。今年度は、5倍希釈した濃縮試料(20倍濃縮)を用いてIMB法を実施したところ、Lp1の分離数が希釈前の濃縮試料に比べ多かった。夾雑菌が多い試料では、磁気ビーズへの接着が阻害されることを示すデータであると考えられる。しかしながら、夾雑菌の量を確認する方法として考えられるATPの値が、その指標になるか、さらなる検討が必要かもしれない。IMB法はこれまでも様々な菌種での検査法⁸⁾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考えられる。

今年度、濃縮しないで用いる検査法について検討したが、通常培養法との相関は良くなかった。色の判定が難しかったことが一つの原因であると思われた。色の判定基準が必要と思われた。本法は*L. pneumophila*のみを検出するが、操作が非常に簡便であることから、特別な機器を使用する定量の系ではなく、より簡便な定性試験法となるような改良を加えることで、浴用施設で自主衛生管理に有用となると思われた。とりわけ、浴用水の検体については、検体数は少ないものの通常培養法と良い相関がみられたことから、検体数を増やして検討すべきと思われた。

結語

感染源となり得る環境(エアロゾル)検体から*Legionella*属菌を分離することはできなかったが、ヒトへの感染経路の一端を解明するため、継続した調査が必要である。

一方，*Lp*-1IMB 法については，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/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 年度分担研究報告書 93-131 .
- 3) 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 .
- 4) Mérault N, Rusniok C, et al. 2011. Specific Real-Time PCR for Simultaneous Detection and Identification of *Legionella pneumophila* Serogroup 1 in Water and Clinical Samples. *Appl Environ Microbiol.* 77:1708-1717.
- 5) 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/H28_Legionnaires_2.pdf .6)

6) 磯部 順子，他．レジオネラ属菌迅速検査法の評価．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」平成 29 年度分担研究報告書 45-51 .

7) レジオネラレファレンスセンター会議報告．2017．衛生微生物技術協議会第 38 回研究会．

http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H29_Legionnaires.pdf .

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

報告

磯部順子，金谷潤一，他．2018．富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況（2017 年）．富山県衛生研究所年報．41:32-37 .

学会発表

- 1) Junko Isobe, Jun-ichi Kanatani, Keiko Kimata, Kaoru Uchida, Masanori Watahiki, Fumiaki Kura, Kensuke Ozawa, Fumio Gondaira³, Junko Amemura-Maekawa : Evaluation of an immunomagnetic separation method to detect *Legionella pneumophila* serogroup 1 from environmental specimens. ESGLI 2018. Lyon. August 2018.

2) 磯部順子，金谷潤一，木全恵子，内田

薫，綿引正則，倉 文明，小澤賢介，権平
文夫，前川純子．浴用水から *Legionella*
pneumophila 血清群 1 を検出するための免
疫磁気ビーズによる濃縮分離法の検討 第
45 回日本防菌防黴学会 2018 年 11 月 東
京．

3) 金谷潤一，綿引正則，木全恵子，加藤
智子，内田 薫，倉 文明，前川純子，磯

部順子．大気エアロゾル中のレジオネラ属
菌検出状況 第 45 回日本防菌防黴学会
2018 年 11 月 東京．

G.知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1 . 浴用施設における *Legionella* 属菌検出結果

a . 陽性数および菌数

	施設数	検体数	陽性数	検出率 (%)	菌数		
					10 未満	10 - 99	100 - 999
浴槽水	12	49	10	20.4%	39	8	2
シャワー水	13	28	4	14.3%	24	3	1
カラン水	11	15	5	33.3%	10	5	0

b . 血清型別

	血清型別								
	<i>Lp1</i>	<i>Lp3</i>	<i>Lp4</i>	<i>Lp5</i>	<i>Lp6</i>	<i>Lp8</i>	<i>Lp9</i>	<i>L. londiniensis</i>	UT
浴槽水	3		1		2	2	3		
シャワー水	1		1	1	1				1
カラン水	1	1	1	2	1			1	

表 2 . 浴用施設における *Lp1* の分離状況 (IMB 法)

	施設数	検体数	<i>Lp1</i> -IMB 陽性数	検出率 (%)	<i>Lp1</i> 以外の 分離菌
浴槽水	12	49	3	4.7%	<i>Lp9</i>
シャワー水	13	28	1	3.6%	<i>Lp5</i> , <i>Lp6</i> ,
カラン水	11	15	1	6.7%	

表 3 . 浴用施設における *Lp1* の分離状況 (sg1-qPCR 法)

	施設数	検体数	sg1 qPCR 陽性数	検出率 (%)
浴槽水	12	49	15	30.60%
シャワー水	13	28	2	7.10%
カラン水	11	15	2	13.30%

表 4 . *Lp1*-IMB 法 , 通常培養法 , sg1-qPCR 法の結果の比較

No.	検水種類	<i>Lp1</i> -IMB培養法		通常培養		sg1-qPCR (<i>Lp1</i> 特異遺伝子)	ATP (RLU/10 ml)
		<i>Lp1</i> の分離	<i>Lp1</i> 以外の 分離菌	<i>Lp1</i> 分離菌数 (CFU/100ml)	<i>Lp1</i> 以外の分離菌 血清群 (cfu/100ml)		
1		陰性		<10		陽性	58,161
2		陽性		40		陽性	53
3		陰性		<10	<i>Lp8</i> (70)	陽性	24,543
4		陰性		<10	<i>Lp8</i> (30)	陽性	20,983
5		陰性		<10		陽性	13
6		陽性		<10	<i>Lp6</i> (10)	陽性	10
7		陰性		<10		陽性	9
8		陰性		<10	<i>Lp4</i> (10), <i>Lp6</i> (10)	陰性	261
9	浴槽水	陰性		10	<i>Lp10</i> (1)	陰性	12
10		陰性		<10		陽性	14
11		陰性		<10		陽性	19
12		陰性		<10		陽性	12
13		陰性		<10		陽性	4
14		陰性		10	<i>Lp10</i> (10)	陽性	11
15		陽性	<i>Lp9</i>	<10	<i>Lp9</i> (190)	陽性	1,719
16	陰性		<10		陽性	16	
17	陰性		<10	<i>Lp9</i> (10)	陰性	8	
18	陰性	<i>Lp9</i>	<10	<i>Lp9</i> (550)	陽性	1,044	
19	シャワー水	陰性		<10		陽性	11
20		陽性		370		陽性	70
21		陰性	<i>Lp6</i>	<10	<i>Lp6</i> (90)	陰性	6
22		陰性		<10	<i>Lp4</i> (10)	陰性	8
23		陰性	<i>Lp5</i>	<10	<i>Lp5</i> (10) <i>Lp6</i> (10)	陰性	20
24	カラン水	陰性		30	<i>Lp1</i>	陽性	17
25		陽性		<10		陰性	9
26		陰性		<10		陽性	11
27		陰性		<10	<i>Lp3</i> (10)	陰性	12
28		陰性		<10	<i>Lp4</i> (10) <i>L. londiniensis</i> (30)	陰性	7
29		陰性		<10	<i>Lp5</i> (30)	陰性	7
30		陰性		<10	<i>Lp5</i> (10)	陰性	24

表 5 . 方法別 *Lp1* の検出数の比較

		sg1-qPCR		
		+	-	計
IMB	+	4	1	5
	-	15	72	87
	計	19	73	92
通常培養法	+	4	1	5
	-	15	72	87
	計	19	73	92

表 6 . 希釈による *Legionella* 属菌の検出状況

	濃縮率	
<i>Legionella</i> 属菌 (血清群)	100倍濃縮液	20倍濃縮液
(<i>Lp1</i> -IMB法)		
陽性 (<i>Lp1</i>)		*
陽性 (<i>Lp1</i>)		
陽性 (<i>Lp1</i>)		
陽性 (<i>Lp1</i>)		

*: *Lp1* が分離された検体

表 7 . Legiolert による *Legionella* 属菌の分離結果

a . 検水 100 ml の場合

		通常培養法		
		+	-	計
Legiolert (100ml)	+	2	1	3
	-	3	23	26
	計	5	24	29

b . 検水 10 ml の場合

		通常培養法		
		+	-	計
Legiolert (10ml)	+	6	2	8
	-	8	47	55
	計	14	49	63

表 8 . 通常培養法と Legiolert の結果が異なった検体

	検水量	Legiolert (MPN/100ml)	判定	通常培養法
1 カラン水	100	0	<10	30
2 浴槽水	100	0	<10	40
3 浴槽水	100	5.8	<10	30
4 シャワー水	10	0	<10	370
5 カラン水	10	0	<10	10
6 シャワー水	10	0	<10	10
7 浴槽水	10	0	<10	10
8 浴槽水	10	0	<10	190
9 浴槽水	10	0	<10	10
10 浴槽水	10	0	<10	550
11 シャワー水	10	0	<10	10
12 浴槽水	100	119.8	119.8	<10
13 浴槽水	10	11	11	<10
14 シャワー水	10	126	126	<10