

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）

公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究

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

レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡便な検査法の開発

#### 研究分担者

○金谷 潤一 富山県衛生研究所

#### 研究協力者

磯部 順子	富山県衛生研究所	山口 友美	宮城県保健環境センター
武藤 千恵子	東京都健康安全研究センター	淀谷 雄亮	川崎市健康安全研究所
中筋 愛	タカラバイオ株式会社	吉崎 美和	タカラバイオ株式会社
塩崎 晋啓	日本板硝子株式会社	水谷 幸仁	日本板硝子株式会社
村尾 拓哉	日本板硝子株式会社	森中 りえか	株式会社ファスマック
小澤 賢介	デンカ生研株式会社		

#### 研究要旨

本研究では、公衆浴場におけるレジオネラ属菌の汚染実態を把握し、新たな検査法を確立・普及することを目的とし、1. 迅速な検査法の開発、2. 感染源特定のための検査法の確立、3. 公衆浴場における水系の総合的な汚染実態の解明を行った。

公衆浴場などからの 169 検体中、44 検体 (26.0%) から 10 CFU/100 ml 以上のレジオネラ属菌が検出された。最も多い菌数は、2,690 CFU/100 ml であった。分離菌の血清群別の結果、*Legionella pneumophila* 血清群 1 (Lp1) が 19/44 検体 (43.2%) から分離され、最も多かった。

モバイル qPCR 法は、2 種類のプロトコルで実施した (N=59、110)。その結果、平板培養法に対する感度は 22.6%および 38.5%であり、LAMP 法 (N = 100、94.1%) よりも低かった。採水現場での濃縮・測定を想定したうえで、フィルターや濃縮方法についてプロトコルを再検討する必要がある。

シャワー・カラン水 (N = 35) を対象とした PALSAR 法では、MWY 液体培地による増菌培養を取り入れた結果、平板培養法に対する感度は 100%となった。また、特異度および一致率は、それぞれ 60.7%および 68.6%であった。

浴槽水 31 検体、シャワー水 17 検体を用いて 16S アンプリコン解析を実施した結果、半数以上の検体からレジオネラ属菌およびマイコバクテリウム属菌のリードが検出され、これらの菌が広く存在していることが示された。Species level での解析では、レジオネラ症や非結核性抗酸菌感染症の原因菌である *L. pneumophila*、*M. gordonae* が検出された。

浴槽水など 76 検体を用いた Lp1-IMB 法においては、平板培養法と濃縮液を用いた Lp1-IMB 法を併用することで、Lp1 の分離率を上げることができると考えられた。また、濃縮液を用いた Lp1-qPCR 法は、Lp1 分離のためのスクリーニングとして有用であった。

## A 研究目的

2020年の国内におけるレジオネラ症の患者報告数は、新型コロナウイルスによる外出自粛の影響もあり、前年比87.7%であったが、2,031件（暫定値）の届出がある<sup>1)</sup>。レジオネラ症対策として、感染源のおよそ4割を占める公衆浴場の衛生管理の向上は重要である。したがって、公衆浴場におけるレジオネラ属菌の汚染実態を把握し、新たな検査法を確立・普及することを目的とし、1. 迅速な検査法の開発、2. 感染源特定のための検査法の確立、3. 公衆浴場における水系の総合的な汚染実態の解明を行う。

現在、浴槽水などを対象としたレジオネラ属菌検査は、濃縮検体を用いた平板培養法が広く普及している。しかしながら、レジオネラ属菌は発育が遅く、検査結果が判明するまでに7~10日を要する。このような培養法に替わる迅速検査法に対して、監視指導のためにリアルタイムに結果を提供すること、営業再開の時期を早めることなどの理由により、行政・業者双方からの要望があり、必要性は高い。本研究では、採水現場で測定可能なモバイル型装置を使用したqPCR法（モバイルqPCR法）について検討した。また、レジオネラ属菌特異的16S rRNAを標的とし、プレート上のDNAプローブに結合させて検出するPALSAR法については、シャワー・カラン水を対象とした検査において感度を上げるため、プロトコルを改良し、検討した。

一方、国内における患者由来株の87%は*Legionella pneumophila* 血清群1 (Lp1) である<sup>2)</sup>。したがって、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、患者由来株と同一の菌種・血清群の菌株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。

近年、公衆浴場のシャワー水を原因としたレジオネラ症感染事例も報告されている<sup>3)</sup>。したがって、浴槽水だけでなくシャワー・カラン水も対象

とし、培養検査のみならず、16S アンプリコン解析による結果も踏まえて公衆浴場の水系の総合的な汚染実態を明らかにする。

## B 材料と方法

### 1 検査材料

4か所の地方衛生研究所(機関A~D)において、令和2年度に公衆浴場などから169検体の試料を採取した(表1)。検体の内訳は、浴槽水が107検体、シャワー水が26検体、カラン水が17検体、採暖槽水が15検体、その他(プール水など)が4検体であった。

### 2 平板培養法

平板培養法は、「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法(薬生衛発0919第1号)」に準じて各機関の方法で実施し、10 CFU/100 ml以上を検出とした。

### 3 LAMP 法

検水の100倍濃縮液2 mlを用いて、Loopamp レジオネラ検出試薬キットE(栄研化学)を使用して取扱説明書に従い実施した。

### 4 モバイル qPCR 法

検水を用いて、下記の2種類のいずれかの方法でDNAを抽出した。検水100 mlをフィルター過(セルロース混合エステル、0.45 μm、47 mm)、核酸抽出試薬200 μl添加し、室温で5分間静置した(プロトコルA)。または、上記と同様に検水をろ過したフィルターをスワブで拭き、核酸抽出試薬 Ver. 2を100 μl添加し、室温で5分間静置した(プロトコルB)。プロトコルAは原液、プロトコルBは5倍希釈液の5 μlを鋳型として、qPCR反応を実施した。レジオネラ属菌に特異的な16S rRNA 遺伝子配列を標的として、プライマー、プローブおよび内部コントロール用プラスミドを作製し、モバイル qPCR 装置 Picogene PCR1100 (日本

板硝子) を用いた。

## 5 モバイル qPCR 法における核酸抽出試薬の比較

*L. pneumophila* 長崎 80-045 株を BCYE  $\alpha$  寒天培地で 30°C 4 日間培養後、PBS で調製した McFarland No. 2 濁度の菌液 (約  $1 \times 10^9$  CFU/ml) を 10 倍段階希釈し、 $10^{-3}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-7}$  の希釈液を作製した。菌液 0.1 ml を用いて、LAMP 法の核酸抽出試薬およびモバイル qPCR 法の核酸抽出試薬 Ver. 2 を用いて DNA を抽出し、モバイル qPCR 法の qPCR 反応を実施した。その後、DNA を -20°C で 4 週間保存した後、再度 qPCR 反応を実施した。

## 6 PALSAR 法

シャワー・カラン水についてのみ検討した。PALSAR 法は、100 倍濃縮検体 4 ml を遠心後、上清を除去し、活性炭を除いた MWY 液体培地 1 ml に懸濁した。36°C で 18 時間培養後、添付の取扱説明書に従い実施した。なお、溶菌条件は 70°C 5 分とした。目視の発色確認により 16S rRNA が検出された場合を陽性と判定した。当日中に測定しない場合は、増菌液を 4°C で保存した。

## 7 Lp1-IMB 法

### 1) Lp1-IMB 作製方法

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 Lp1 抗体を磁気ビーズに感作し、免疫磁気ビーズとした。

### 2) 実検体における qPCR 法による Lp1 スクリーニング

LAMP 法の際に抽出した DNA を鋳型として用いた。また、検水の増菌培養液も用いた。検水の 100 倍濃縮液 1 ml を 15,000 rpm で 5 分間遠心後、上清 900  $\mu$ l を除去し、1,000 倍濃縮液 100  $\mu$ l とした。等量の酸処理液で 5 分間処理後、MWY 液体培地を 900  $\mu$ l 添加し、36°C で 18 時間培養した。培養液 100  $\mu$ l を遠心後、上清を除去し、5%キレック

ス溶液を 50  $\mu$ l 添加した。100°C で 10 分間処理後、遠心上清を鋳型とした。既報に従い、Lp1 特異的な qPCR 反応を実施した (Lp1-qPCR) <sup>4)</sup>。

### 3) 実検体における Lp1 選択的濃縮分離

IMB による選択的濃縮法には、Lp1-qPCR が陽性となった検体の 100 倍濃縮液および MWY 増菌液を 5 倍希釈して供試した。すなわち、濃縮・増菌検体 200  $\mu$ l に PBS 800  $\mu$ l を加え 1 ml とした試料 (5 倍希釈試料) を、100 倍濃縮液では 5 検体、MWY 増菌液では 8 検体用いた。5 倍希釈試料 1 ml に Lp1-IMB 25  $\mu$ l を接種し、10 分毎に転倒混和しながら 30 分間吸着させ、ビーズを磁石で集め、PBS で洗浄した。この操作 (洗浄) を 2 回実施した後、最終的に PBS 100  $\mu$ l に懸濁、ボルテックスでよく混和後、GVPC 寒天培地 (日水製薬) 1 枚にコンラージ棒で塗布し、35°C で 7 日間培養した。

## 8 16S アンプリコン解析

浴槽水 31 検体およびシャワー水 17 検体について、検水 1,200 ml をフィルターろ過し (ポリカーボネート、0.22  $\mu$ m、47 mm)、ビーズでフィルターを破碎後、DNeasy PowerBiofilm Kit (キアゲン) で DNA を抽出した。イルミナ社のプロトコルに従い、16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を Tks Gflex DNA Polymerase (タカラバイオ) を用いて PCR 増幅した後、Nextera XT Index Kit および MiSeq Reagent Kit v3 (600 Cycles) を用いて RUN を実施し、QIIME2 で解析した。

(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 結果

### 1 平板培養法による結果

169 検体中、44 検体 (26.0%) から 10 CFU/100 ml 以上のレジオネラ属菌が検出された (表 2)。菌数別に見ると、10~99 CFU/100 ml が 33 検体

(19.5%)、100～999 CFU/100 mlが10検体(5.9%)、1,000 CFU/100 ml以上が1検体(0.6%)であった。最も多い菌数は、2,690 CFU/100 mlであった。分離菌の血清群別の結果、Lp1が19/44検体(43.2%)から分離され、最も多かった(表3)。次に多かったのは、Lp6(18/44検体、40.9%)であった。また、Lp以外の菌種が9検体から分離された。

## 2 LAMP法およびモバイルqPCR法による結果

各抽出法における、平板培養法に対する相関は表4に示した。LAMP法を用いた場合、平板培養法に対する感度は100%、特異度は71.1%、一致率は75.0%であった。一方、プロトコルAによるモバイルqPCR法を用いた場合は、感度38.5%、特異度95.7%、一致率83.1%であった。また、プロトコルBによるモバイルqPCR法を用いた場合は、感度22.6%、特異度88.6%、一致率70.0%であった。

モバイルqPCR法の核酸抽出試薬Ver.2は、LAMP法の核酸抽出試薬と同等の抽出効率であった(表5)。また、-20℃で4週間保存しても、その効率は変わらなかった。

## 3 PALSAR法による結果

35検体のシャワー・カラン水について検討した結果、平板培養法に対する感度は100%、特異度は60.7%、陽性的中率は38.9%、陰性的中率は100%、一致率は68.6%であった(表6)。

## 4 16Sアンプリコン解析

16Sメタゲノム解析で取得したリード数は、浴槽水検体で中央値97,685(17,437～201,267)、シャワー水で中央値103,697(54,401～187,772)であった。

浴槽水17/31検体およびシャワー水9/17検体からレジオネラ属菌のリードが検出された。各検体に占めるレジオネラ属菌のリードの割合の平均値は、浴槽水検体で0.5%、シャワー水検体で0.1%であった(表7)。また、浴槽水13/31検体およびシ

ャワー水5/17検体から*L. pneumophila*のリードが検出され、各検体に占める*L. pneumophila*のリードの割合の平均値は、浴槽水検体で0.095%、シャワー水検体で0.089%であった(表8)。

また、浴槽水28/31検体およびシャワー水15/17検体からマイコバクテリウム属菌のリードが検出された。各検体に占めるマイコバクテリウム属菌のリードの割合の平均値は、浴槽水検体で3.1%、シャワー水検体で3.3%であった。また、浴槽水19/31検体およびシャワー水10/17検体から*M. gordonae*のリードが検出され、各検体に占める*M. gordonae*のリードの割合の平均値は、浴槽水検体で0.5%、シャワー水検体で1.9%であった。

## 5 Lp1-IMB法による結果

Lp1-qPCRスクリーニングを浴槽水など76検体について行った結果、濃縮液または増菌液で12検体が陽性となった(表9)。平板培養法においてLp1が分離された4検体は、100倍濃縮液ではすべてLp1-qPCR陽性であったが、MWY増菌液では2検体で陰性であった。MWY増菌液で陰性となった検体は、100倍濃縮液でのqPCRのCt値が大きく、平板培養法での菌数は10および30 CFU/100 mlであった。

一方、Lp1-PCRが陽性となった12検体のうち、100倍濃縮液では5検体、MWY増菌液では8検体についてLp1-IMB法を実施した。その結果、濃縮液を用いた場合は4検体、増菌液を用いた場合は3検体からLp1が分離された。これらの検体のうち、1検体(No.7)は平板培養法でもLp1が分離されたが、3検体(No.6、10、12)は、平板培養法ではLp1が分離されなかった。

## D 考察

モバイル型qPCR装置を使用した検討では、いずれのプロトコルにおいても、平板培養法に対する感度がLAMP法よりも低かった。この理由の一つとして、LAMP法は2,000倍の濃縮液を使用し

ているのに対して、モバイル qPCR 法は 500 または 200 倍の濃縮液を使用していることが考えられた。また、採水現場での濃縮・測定を想定したため、モバイル qPCR 法ではポアサイズ 0.45  $\mu\text{m}$  のセルロース混合エステルフィルターを使用した。ISO11731 や厚生労働省通知においては、0.2  $\mu\text{m}$  のフィルターを使用する旨が記載されている<sup>5,6)</sup>。また、枝川らは、フィルターの材質によって回収率が変わり、ポリカーボネートの回収率が高いことを報告している<sup>7)</sup>。したがって今後は、採水現場での濃縮・測定を想定したうえで、フィルターや濃縮率についてプロトコルを再検討する必要がある。

一方、今回の検討では、抽出した核酸を約 1 か月間冷凍 ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) 保存した後、qPCR 反応を実施し、長期間の核酸保存がその後のモバイル qPCR 反応に与える影響を調べた。LAMP 法、モバイル qPCR 法いずれの方法においても、核酸の長期保存による影響は認められなかった。

PALSAR 法におけるこれまでの検討では、シャワー・カラン水を対象とした場合、浴槽水などを対象とした場合と比較し、感度が低かった<sup>8)</sup>。しかしながら、MWY 液体培地で一晩増菌する方法では、平板培養法に対する感度は 100%であったため、これらの検体では増菌培養を実施することが望ましい。

16S アンプリコン解析では、半数以上の浴槽水・シャワー水からレジオネラ属菌のリードが検出され、*L. pneumophila* のリードも一部の検体から検出された。非結核性抗酸菌症の原因菌であるマイコバクテリウム属菌に関しては、浴槽水・シャワー水の約 9 割からリードが検出され、広くレジオネラ属菌およびマイコバクテリウム属菌が存在していることが示された。ただし、これらの菌が生きた状態で存在しているのかは明らかではない。そのため、今後、死菌 DNA の PCR 増幅を阻害する EMA 処理などを取り入れた解析を実施し、より詳細に汚染実態を解明する必要がある。

感染源を特定するためには、環境検体から患者

由来株の大半を占める Lp1 を分離することが重要となるが、主な感染源である浴槽水からは、複数の血清群のレジオネラ属菌が分離される場合がある<sup>9)</sup>。現在、レジオネラ属菌を血清群、あるいは菌種により鑑別する培地などはないため、IMB により Lp1 を選択的に濃縮分離する方法を検討している。今年度は、MWY 液体培地による増菌培養と、IMB 処理前に Lp1 特異的な qPCR によるスクリーニングを検討した。その結果、MWY 液体培地による増菌培養の効果は認められなかった。しかしながら、Lp1-IMB 法においては、100 倍濃縮液を用いた場合、平板培養法で Lp1 不検出の 3 検体から Lp1 を分離することができた。また、Lp1-qPCR によるスクリーニングを実施することで、不必要な IMB 操作を省くことができると考えられた。ただし、過去の検討結果<sup>10)</sup>では、平板培養法のみで Lp1 が分離された検体もあったことから、平板培養法と濃縮液を用いた Lp1-IMB 法を併用することが望ましいと考えられた。

## E 結論

モバイル型 qPCR 装置を使用した検討では、いずれのプロトコルにおいても、平板培養法に対する感度が LAMP 法よりも低かった。採水現場での濃縮・測定を想定したうえで、フィルターや濃縮率についてプロトコルを再検討する必要がある。シャワー・カラン水を対象とした PALSAR 法では、増菌培養を実施することで平板培養法に対する感度を向上させることができた。16S アンプリコン解析では、浴槽水・シャワー水からレジオネラ属菌およびマイコバクテリウム属菌のリードが検出され、これらの菌が広く存在していることが示された。Lp1-IMB 法においては、平板培養法と濃縮液を用いた Lp1-IMB 法を併用することで、Lp1 の分離率を上げることができると考えられた。

## 参考文献

1) 国立感染症研究所感染症発生動向調査週報

(IDWR) 速報データ 2020 年第 53 週。  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/data/10103-idwr-sokuho-data-j-2053.html>

2) Amemura-Maekawa J et al. *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species isolated from legionellosis patients in Japan between 2008 and 2016. *Appl Environ Microbiol.* 2018, 84 (18), pii: e00721-18.

3) 石山 康史 他. 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 (IASR). 2010, 31, 331-332.

4) Mérault N et al. Specific Real-Time PCR for Simultaneous Detection and Identification of *Legionella pneumophila* Serogroup 1 in Water and Clinical Samples. *Appl Environ Microbiol.* 2011, 77(5), 1708-1717.

5) ISO11731:2017. Water quality. Enumeration of *Legionella*.

6) 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長通知. 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について. 薬生衛発 0919 第 1 号. 令和元年 9 月 19 日.

7) 枝川亜希子 他. レジオネラ検査ろ過濃縮法におけるメンブレンフィルター材質の回収率比較. 日本防菌防黴学会誌. 2013, 41, 63-66.

8) 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 28～30 年度総合研究報告書, 19-33, 2019.

9) 平塚貴大. 2017 年に広島県で発生したレジオネラ症集団感染事例案について. 平成 29 年度生活衛生関係技術担当者研修会資料, 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課.

10) 金谷潤一 他. レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡便な検査法の開発. 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)「公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究」令和元年度総括・分担研究報告書, 12-21,

2020.

#### F 研究発表

金谷潤一 他. 環境水を用いた各種レジオネラ属菌迅速検査法の有用性の評価. 日本防菌防黴学会誌. 2020, 48, 515-522.

#### G 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. 検体内訳と検査方法

		機関				計
		A	B	C	D	
検体内訳	浴槽水	41	12	34	20	107
	採暖槽水		13		2	15
	シャワー水	18	4	4		26
	カラン水	17				17
	その他				4	4
	計	76	29	38	26	169
検査方法	モバイルqPCR(プロトコルA)	24	16	7	12	59
	モバイルqPCR(プロトコルB)	52	13	31	14	110
	LAMP	76	25			101
	PALSAR(一晩培養)	35				35

表2. 平板培養法による検出率

菌数(CFU/100 ml)	検体数	(%)
10未満	125	(74.0)
10-99	33	(19.5)
100-999	10	(5.9)
1,000以上	1	(0.6)
計	169	(100)

表3. 分離菌の血清群

菌種	検体数
<i>L. pneumophila</i>	
SG 1	19
SG 6	18
SG 5	12
SG 3	7
SG 8	4
SG 4	2
SG 9	2
SG 2	1
SG 14	1
UT	5
<i>Legionella</i> spp.	9

表4. 浴用水における各種迅速検査法の結果

方法	検体数	培養法に対する:		
		感度	特異度	一致率
LAMP(2,000倍濃縮)	100	94.1%	71.1%	75.0%
モバイルqPCR(プロトコルA、500倍濃縮)	59	38.5%	95.7%	83.1%
モバイルqPCR(プロトコルB、200倍濃縮)	110	22.6%	88.6%	70.0%

表5. モバイルqPCR法における核酸抽出試薬の比較

検体	Ct値	
	抽出直後	-20℃で4週間保存
LAMP法添付試薬		
10 <sup>-3</sup>	30.0	30.0
10 <sup>-5</sup>	38.0	37.0
10 <sup>-7</sup>	不検出	未実施
モバイルqPCR法抽出試薬 Ver. 2		
10 <sup>-3</sup>	30.0	30.0
10 <sup>-5</sup>	37.0	37.0
10 <sup>-7</sup>	不検出	未実施

表6. 浴用水におけるPALSAR法の結果(シャワー・カラン水)

		平板培養法		計
		≥10	<10	
PALSAR 法	陽性	7	11	18
	陰性	0	17	17
計		7	28	35

感度100%、特異度60.7%、陽性的中率38.9%、  
陰性的中率100%、一致率68.6%

表7. 16Sアンプリコン解析結果 (Genus Level)

Bath water (N=31)	Mean (%)	No. of detected samples	Shower water (N=17)	Mean (%)	No. of detected samples
<i>Pseudomonas</i>	13.3	31	<i>Novosphingobium</i>	9.9	15
<i>Hydrogenophilus</i>	3.2	5	<i>Sphingomonas</i>	7.7	17
<i>Propionibacterium</i>	3.1	23	<i>Bradyrhizobium</i>	3.8	15
<i>Mycobacterium</i>	3.1	28	<i>Mycobacterium</i>	3.3	15
<i>Staphylococcus</i>	2.8	24	<i>Nevskia</i>	2.1	6
<i>Legionella</i>	0.5	17	<i>Legionella</i>	0.1	9

表8. 16Sアンプリコン解析結果 (Species Level)

Bath water (N=31)	Mean (%)	No. of detected samples	Shower water (N=17)	Mean (%)	No. of detected samples
<i>Mycobacterium</i>			<i>Mycobacterium</i>		
<i>celatum</i>	7.9E-03	3	<i>celatum</i>	2.0E-04	1
<i>gordonae</i>	5.0E-01	19	<i>gordonae</i>	1.9E+00	10
<i>llatzerense</i>	1.2E-01	12	<i>llatzerense</i>	5.9E-01	11
<i>vaccae</i>	3.8E-02	10	<i>vaccae</i>	2.0E-02	1
<i>Legionella</i>			<i>Legionella</i>		
<i>geestiana</i>	2.2E-01	2	<i>drozanskii</i>	8.9E-04	1
<i>londiniensis</i>	7.8E-02	3	<i>geestiana</i>	1.3E-04	1
<i>maceachernii</i>	4.6E-02	11	<i>maceachernii</i>	1.1E-02	3
<i>nautarum</i>	3.9E-04	2	<i>pneumophila</i>	8.9E-02	5
<i>oakridgensis</i>	6.7E-04	1	<i>rubrilucens</i>	2.0E-03	2
<i>pneumophila</i>	9.5E-02	13			
<i>quinlivanii</i>	2.6E-03	2			
<i>rubrilucens</i>	1.1E-03	2			

表9. 浴用水(76検体)におけるLp1-qPCR法陽性検体

No.	検体種	Lp1-IMB法			MWY増菌培養液			平板培養法		
		Lp1-qPCR	Ct値	菌分離	Lp1-qPCR	Ct値	菌分離	分離菌の血清型	菌数 (CFU/100ml)	分離菌の血清型
1	浴槽水	+	37.86	NT	—	—	—		<10	
2	浴槽水	+	22.63	NT	—	—	—		<10	
3	シャワー水	+	33.45	NT	—	—	—		<10	
4	カラン水	+	18.06	NT	—	—	—		<10	
5	浴槽水	+	37.84	—	—	—	NT		<10	
6	浴槽水	+, +	36.92	+	—	—	+	Lp1	<10	
7	浴槽水	+	36.10	+	+	38.89	+	Lp1	50	Lp1, Lp6
8	シャワー水	-, +	39.70	NT	-, +	39.81	NT		40	Lp1
9	カラン水	+	39.12	NT	—	—	NT		30	Lp1
10	浴槽水	+	37.84	+	+	34.71	+	Lp1, Lp6	350	Lp6
11	浴槽水	-, +	39.38	NT	—	—	NT		10	Lp1, UT
12	浴槽水	+, +	39.26	+	—	—	—	Lp1	10	UT

NT:Not tested