

平成 14 年度 市内各種生活環境水における レジオネラ属菌の検出状況

瓜生佳世¹・衛藤真理子¹・藤代敏行²・真鍋和義¹

Isolation of *Legionella* spp. from Environmental Waters in Fukuoka City

Kayo URYU, Mariko ETOH, Toshiyuki FUJISHIRO
and Kazuyoshi MANABE

要旨

平成 14 年度に浴槽水・プール水・修景水の各種生活環境水を対象に行政検収として実施したレジオネラ属菌検査の結果をまとめた。浴槽水、プール水および修景水からの検出率は、それぞれ 21.9%、11.8%、19.5%であった。検出されたレジオネラ属菌の菌種は *Legionella pneumophila* が最も多く 72.7%で、その血清群別は、浴槽水では serogroup(SG)5 が 32.8%、SG6 が 26.6%と優位であったのに対し、修景水から分離されたのは SG1 のみであった。

Key Words : レジオネラ属菌 *Legionella* spp., 環境水 Environmental water, 循環式浴槽 Circulating bath

は じ め に

レジオネラ症はレジオネラ属菌による感染症で、1999 年 4 月に感染症法において 4 類感染症に指定されている。その病型にはポンティアック熱型と肺炎型とがあり、特にレジオネラ肺炎は急激に重症化することもある¹⁾。

レジオネラ属菌は土壌や河川などの自然環境に広く生息しているが、通常その菌数は少ないと言われている²⁾。これらが冷却塔水や浴槽水などの人工環境水を汚染し、増殖することが知られており、人への感染経路は主にレジオネラ属菌に汚染されたエアロゾルの吸入による経気道感染である。

感染源として冷却塔や給湯設備、加湿器などが報告されているが^{1),3)}、近年入浴施設による集団感染が相次いでいることから、これら入浴施設の衛生管理の徹底、レジオネラ対策の強化が求められている。今回、レジオネラ対策の一環として福岡市内の主に循環式浴槽を有する

施設の浴槽水を中心に、さらにプール水や修景水におけるレジオネラ属菌検査を実施したので報告する。

材料および方法

レジオネラ属菌の検査方法は、「新版レジオネラ症防止指針」⁴⁾に準じて行った。概略は以下の通りである。

1. 試料

平成 14 年 7 月から平成 15 年 3 月までに行政検収を行った 316 施設 410 検体を対象とした。その内訳は、浴槽水が公衆浴場・旅館・高齢者施設および病院など 251 施設 328 検体（循環式浴槽 216 施設）、プール水（ジャグジーを含む）34 施設 48 検体、修景水 31 施設 34 検体で、25%チオ硫酸ナトリウムを採水量の 1/500 なるよう加えた滅菌採水容器に 500 ml 採取し試料水とした。

2. 試薬

分離培地にレジオネラ MWY 寒天培地（関東化学）、確認培地には羊血液 / レジオネラ BCYE α 寒天培地（日研生物）を使用した。

PCR 法のプライマーは、LEG 遺伝子（16S rRNA *Legionella* 属特異的）および Lmip 遺伝子（*L.pneumophila* 特異的）を用いた。

1.福岡市保健環境研究所微生物部門(現保健科学部門)
2.福岡市保健環境研究所微生物部門(現保健科学部門)
(現所属：保健福祉局 食品衛生検査所)

血清型・血清群別は、レジオネラ免疫血清（デンカ生研）を使用し、ハイブリダイゼーション法にはD D Hレジオネラ（極東製薬）を使用した。

3. 方法

試料水を孔径 0.45 μ m のメンブランフィルターにてろ過濃縮を行い、酸処理を 4 分間施した後に分離培地に塗布し 36 で 7 日間培養した。この間に出現したコロニーを特徴別に集計し、それらを釣菌、確認培地に接種を行った。その発育に L-システインを必要とする菌株をレジオネラ属菌と推定し、PCR を実施した。さらに PCR にてレジオネラ属菌および *L.pneumophila* に特異的な遺伝子を検出した菌株について、抗血清を用いスライド凝集反応で血清群別を行った。使用した抗血清は、*L.pneumophila* serogroup(SG)1~15 *L.micdadei* *L.dumoffii* , *L.bozemanii* および *L.gormanii* の 19 種類で、これらに凝集しないものは、DNA-DNA ハイブリダイゼーションにて同定した。ハイブリダイゼーション法にて同定可能なレジオネラ属菌は 25 種であり、同定できなかった菌株について *Legionella spp.*とした。

結果および考察

1. レジオネラ属菌の検出状況

各試料水からのレジオネラ属菌の検出状況を表 1 に示した。浴槽水におけるレジオネラ属菌の検出率は 21.9% で、検出した 55 施設のうち 52 施設が循環式浴槽であった。プール水では 11.8%、修景水では 19.5%で、プール水の検出率は、他の施設水と比較すると低率であった。浴槽水の種類別では、旅館の検出率 36.0%が最も高率で、次いで公衆浴場が 27.0%であるのに対し、病院や高齢者施設ではそれぞれ 20.0%、11.4%とやや低く検出率に差がみられた。

2. レジオネラ属菌検出菌数分布

レジオネラ属菌の検出菌数の分布は、表 2 に示した通りほとんどの施設で $10^1 \sim 10^3$ CFU/100ml であった。しかし浴槽水では、 10^4 CFU/100ml 以上検出された施設もあり、特に旅館と公衆浴場からの検出菌数が多く、検出率と同様の傾向を示した。検出菌数については「新版レジオネラ症防止指針」で、人が直接吸引する可能性が低い人工環境水は 10^2 CFU/100ml 以上検出された場合直ちに清掃・消毒等の対策を講じ、人が直接吸引するおそれがある場合の目標値を 10CFU/100ml 未満としている。

表 1 各環境水からのレジオネラ属菌検出率（ ）内は検体数

	検査施設数	検出施設数	検出率（%）
浴槽水	251(328)	55(62)	21.9(18.9)
公衆浴場	115(170)	31(37)	27.0(21.8)
旅館	25(28)	9(10)	36.0(35.7)
高齢者施設	79(91)	9(9)	11.4(9.9)
病院	30(39)	6(6)	20.0(15.4)
その他	2(4)	0(0)	0.0(0.0)
プール水	34(48)	4(4)	11.8(8.3)
修景水	31(32)	6(6)	19.5(18.8)

表 2 各環境水におけるレジオネラ属菌の菌数分布

レジオネラ属菌菌数 (CFU/100ml)	10 未満	$10^1 \sim 10^2$ 未満	$10^2 \sim 10^3$ 未満	$10^3 \sim 10^4$ 未満	$10^4 \sim 10^5$ 未満
浴槽水	226(81.1%)	36(11.0%)	17(5.2%)	8(2.4%)	1(0.3%)
公衆浴場	133(78.2%)	22(12.9%)	11(6.5%)	4(2.4%)	0(0.0%)
旅館	18(64.3%)	1(3.6%)	5(17.9%)	3(10.7%)	1(3.6%)
高齢者施設	82(90.1%)	7(7.7%)	1(1.1%)	1(1.1%)	0(0.0%)
病院(療養型)	33(84.6%)	6(15.4%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
その他	4(100.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
プール水	44(91.7%)	3(6.3%)	1(2.1%)	0(0.0%)	0(0.0%)
修景水	26(81.3%)	4(12.5%)	2(6.3%)	0(0.0%)	0(0.0%)

3. 分離株の血清群の分布

分離されたレジオネラ属菌の菌種は、*L.pneumophila* が 72.2%，それ以外のレジオネラ属菌 (*Legionella spp.*) が 27.3%であった(表 3)．いずれの環境水においても *L.pneumophila* が優位であった．さらに *L.pneumophila* の血清群別を行ったところ，浴槽水と修景水では異なった特徴を呈した(表 4)．浴槽水からは，serogroup(SG)1~10 まで(non agglutinable:NA 1 検体)多岐にわたって分離されたが，SG5 が 32.8%と最も多く，次いで SG6 が 26.6%で，その他の血清群と比較すると優位であった．浴槽水における血清群の分布は，施設の種類別でも同様の傾向を示し，有意な差はみられなかった．修景水から分離された *L.pneumophila* は，SG1 のみであった．これらの傾向は，冷却塔水や修景水では SG1 が高率に検出され，浴槽水や温泉水では SG5，SG6 が優位であるという他の報告とも共通していた^{1),5),6)}．プール水については検出数が少ないため傾向が把握できていない．

表 3 各環境水から分離されたレジオネラ属菌

	<i>L.pneumophila</i>	<i>Legionella spp.</i>
分離菌数	72(72.7%)	27(27.3%)

表 4 分離株の血清群別と菌種

	浴槽水	プール水	修景水
<i>L.pneumophila</i>	64	4	8
SG1	10(15.6%)	1(25.0%)	4(50.0%)
SG2	3(4.7%)	0	0
SG3	6(9.4%)	0	0
SG4	1(1.6%)	1(25.0%)	0
SG5	21(32.8%)	1(25.0%)	0
SG6	17(26.6%)	1(25.0%)	0
SG7~10	5(7.8%)	0	0
NA	1(1.6%)	0	0
<i>L.micdadei</i>	6	0	2
<i>L.bozemanii</i>	1	0	0
<i>L.maceachernii</i>	3	1	0
<i>L.feeleii</i>	0	0	1
<i>L.israelensis</i>	1	0	0
<i>Legionella spp.</i>	11	0	1

レジオネラ属菌を検出した 72 検体のうち 46 検体(64%)に残留塩素が認められず，そのほとんどが検出菌数が 10²CFU/100ml 以上の検体であった．

なお今回レジオネラ属菌が検出された施設では，その後の行政の指導により改善されている．

各環境水で検出率や検出菌数に差がみられる結果とな

り，特に浴槽水については施設間の差が大きく衛生管理状態の差が反映されたものと推察された．プール水では，ほとんどの施設で残留塩素濃度が 0.1mg/L 以上で，検出率，検出菌数ともに低く，塩素消毒が有効に行われていると考えられた．しかし今回検出された 4 検体のうち 3 検体がジャグジーおよび気泡採暖槽で，エアロゾルを発生しやすく，また水温も高めでバイオフィルムを形成しやすいことから，今後さらに厳しい管理が必要と考えられる．修景水については検出率は 19.5%であったが，指針により直ちに清掃・消毒等の対策を講じるとされた 10²CFU/100ml 以上検出されたのは 6.5%(2 検体)で，修景水における管理状況は概ね良好であるといえる．

レジオネラ属菌は現時点で 49 菌種報告されており，そのほとんどに病原性があると考えられ，さらに主要菌種である *L.pneumophila* は 15 以上の血清群に分けられている^{1),2)}．

レジオネラ症は有効な薬剤の投与がなされないと致死的な経過をたどることもしょくないため，早期の診断が重要となる．現在医療機関で実施されている血清抗体価測定と尿中抗原の検出は，いずれも診断に有用であるが，*L.pneumophila*SG1 を対象としているものが多く，それ以外のレジオネラ症の診断は難しいものとなっている．また培養法においても同定できる菌種は限られている．

今回の検査により人工的な環境水には様々な種類のレジオネラ属菌が生息しており，各環境水によって分離される血清群の分布に違いがあることが確認された．今後 *L.pneumophila*SG1 以外のレジオネラ属菌を起因菌とするレジオネラ症が増加する可能性も考えられ，これらへの検査法の対応が急がれるとともに，行政による定期的な指導，および各施設でのさらなる衛生管理の徹底が重要であると考えられる．

本報告の一部は第 50 回福岡県公衆衛生学会において発表したものである．

文 献

- 1) 感染症情報センター：病原微生物検出状況，24，27~29，2003
- 2) 小出道夫/斎藤 厚：レジオネラの疫学，臨床と微生物，25，65~67，1998
- 3) 館田一博/山口恵三：国内・国外における院内感染例，臨床と微生物，25，53~57，1998
- 4) 厚生省生活衛生局監修：新版レジオネラ症防止指針，(財)ビル管理教育研修センター，1999
- 5) 古畑勝則：水環境におけるレジオネラ属菌の汚染と制御，日食微誌，15，1~9，1998
- 6) 鈴木敦子ら：各種生活環境水からのレジオネラ属菌検出状況，感染症誌，76，707，2002