

資 料

岐阜県下の浴槽水における レジオネラ属菌汚染状況調査 (2008-2015)

門倉由紀子, 野田万希子, 亀山芳彦, 酢谷奈津, 後藤黄太郎, 小林香夫

要 旨

岐阜県では、1999年から県下の浴槽水等を対象にレジオネラ属菌汚染状況調査を行っており、今回2008年から2015年の8年間の調査成績をまとめた。検査対象は浴槽水794検体で、そのうち213検体からレジオネラ属菌が検出された（検出率26.8%）。199検体について同定検査を実施したところ、菌種別では*L. pneumophila*が192検体から検出され（96.5%）、血清群（serogroup以下、「SG」と略す）については、SG6、SG5、SG1がそれぞれ30.7、26.6、25.1%と高率に検出された。調査項目についてレジオネラ属菌汚染リスクを検討したところ、水源に温泉水を使用している検体でレジオネラ属菌検出率が高かった。また、一般細菌数が高い検体についてはレジオネラ属菌検出率も高い傾向を示した。塩素消毒効果については、0.2 mg/L以上の残留塩素濃度でレジオネラ属菌検出率が低下した。

キーワード：レジオネラ属菌、浴槽水、残留塩素濃度

1 はじめに

レジオネラ属菌は本来土壌や河川に生息する環境細菌であるが、循環式浴槽などの人工環境中で増殖し、菌を含む水しぶき（エアロゾル）や粉塵を吸入することにより人に感染する。レジオネラ属菌を起因菌とするレジオネラ症は近年患者報告数が増加しており、2015年には全国で1,592例の報告があった¹⁾。感染源としては入浴施設や冷却塔が多く、岐阜県においても2009年にホテルの循環式浴槽を原因とする集団感染があった²⁾。

岐阜県ではレジオネラ属菌の汚染実態を調査し、その結果を施設指導に反映させ、衛生管理の改善につなげることを目的に1999年からレジオネラ属菌汚染状況調査を実施している。1999年から2000年の調査では、浴槽水の56.9%からレジオネラ属菌が検出され、県内の浴槽水が広くレジオネラ属菌に汚染されている実態が明らかとなった³⁾。さらに、2003年から2007年の調査では浴槽水32.0%からレジオネラ属菌が検出され、水源に温泉水を使用し、残留塩素濃度が低く、一般細菌数が多い検体が高リスクであることを明らかにした⁴⁾。

今回、2008年から2015年までの8年間の調査成績をまとめ、レジオネラ属菌の汚染状況とリスク因子の検討を行ったので、その結果を報告する。

2 材料と方法

2.1 検査対象

調査は、2008年9月から2015年12月の8年間、県内の社会福祉施設、旅館、ゴルフ場、その他の公衆浴場の浴槽水から毎年度約100検体、計794検体を採取して実施した。

水質検査の項目は、温度、pH、残留塩素濃度、レジオネラ属菌、一般細菌数、大腸菌群、濁度、過マンガン酸カリウム消費量、電気伝導率について検査を行った。あわせて施設の構造設備および衛生管理状況について聞き取りを行った。

2.2 検査方法

温度および残留塩素濃度は採水時に測定した。試料採取後、検体を保冷し当所または管轄の保健所の生活衛生課試験検査係において速やかに検査を実施した。

レジオネラ属菌の分離はフィルター濃縮法により実施した。すなわち、試料500 mLを孔径0.45 μmのポリカーボネートフィルターで100倍に濃縮後、pH2.2の酸処理液により室温で5分間酸処理を行い、選択分離培地（GVPC培地、WYO α 寒天培地、MWY寒天培地のいずれか）2枚に0.1 mLずつ塗布し、36°Cで7日間培養した。レジオネラ属菌様集落を血液寒天培地とBCYE α 寒天培地に接種し、L-シス테인要求性を確認した。

レジオネラ属菌と推定された菌株の一部について、同定試験を行った。同定はPCR法およびスライド凝集反応（デンカ生研）を用いた。決定できなかった菌種

については、DDH レジオネラ ‘極東’ (極東製薬工業) またはシーケンス (レジオネラ *mip* 遺伝子, 16S rRNA 遺伝子) により菌種を決定した。

大腸菌群の検査は、「下水の水質の検定方法等に関する省令」(昭和37年12月17日付け厚生省・建設省令第1号) により行った。過マンガン酸カリウム消費量の測定は、滴定法により行った。濁度、pH、一般細菌数の検査は「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」(平成15年7月22日付け厚生労働省告示第261号) により、電気伝導率の検査は日本工業規格「電気伝導率測定法通則」により行った。

3 結果

3.1 レジオネラ属菌の検出状況

2008年から2015年の8年間に採取した794検体のうち、213検体からレジオネラ属菌が検出され、検出率は26.8%であった。年度別にみると、2012年度が32.7%と最も高く、2015年度が20.0%と低かった(表1)。最高菌数は 2.3×10^5 CFU/100mLで、陽性検体における菌数の平均値は2.1logCFU/100mL(標準偏差1.0)であった。

レジオネラ属菌が検出された検体のうち、199検体について同定検査を行った。192検体から *L. pneumophila* が検出された。血清群は、SG6 (30.7%)、SG5 (26.6%)、SG1 (25.1%) が高率に検出された。*L. pneumophila* の他には、*L. micdadei*、*L. oakridgensis*、*L. londiniensis*、*L. cherrii* などが検出された(表2)。複数の菌種および血清群が検出された検体もみられた。

表1 年度別レジオネラ属菌検出状況

採水年月	検体数	レジオネラ属菌検出 検体数(検出率%)
2008.9-11	98	24 (24.5)
2009.9-12	99	31 (31.3)
2010.9-12	97	29 (29.9)
2011.9-2012.1	99	24 (24.2)
2012.5-2013.1	101	33 (32.7)
2013.8-12	100	29 (29.0)
2014.8-11	100	23 (23.0)
2015.8-12	100	20 (20.0)
計	794	213 (26.8)

3.2 水源別レジオネラ属菌検出状況

水源別のレジオネラ属菌検出状況を表3に示した。単一水源での検出率は温泉水が35.6%と最も高く、次いで地下水22.0%、水道水19.7%であった。複数の水源を使用している検体についても、温泉水が含まれる検体で検出率が高かった。

表2 レジオネラ属菌種別および群別検出状況

菌種	検出検体数(検出検体割合%)	
<i>L. pneumophila</i>	192	(96.5)
SG 1	50	(25.1)
SG 2	9	(4.5)
SG 3	36	(18.1)
SG 4	9	(4.5)
SG 5	53	(26.6)
SG 6	61	(30.7)
SG 7	2	(1.0)
SG 8	7	(3.5)
SG 9	14	(7.0)
SG 10	6	(3.0)
SG 11	2	(1.0)
SG 12	2	(1.0)
SG 13	1	(0.5)
SG UT	27	(13.6)
<i>L. micdadei</i>	14	(7.0)
<i>L. oakridgensis</i>	4	(2.0)
<i>L. londiniensis</i>	4	(2.0)
<i>L. cherrii</i>	3	(1.5)
<i>L. dumoffi</i>	1	(0.5)
<i>L. gormanii</i>	1	(0.5)
<i>L. maceachernii</i>	1	(0.5)
<i>L. quinlivanii</i>	1	(0.5)
<i>L. rubrilucens</i>	1	(0.5)
<i>L. sainthelensi</i>	1	(0.5)
<i>L. spiritensis</i>	1	(0.5)
<i>L. thermalis</i>	1	(0.5)
同定検査実施検体数	199	(100)

3.3 レジオネラ属菌の検出の有無とその他の検査項目との関係

3.3.1 pH

全調査試料794検体の平均はpH8.0(標準偏差0.8)で、最低値および最高値はそれぞれpH4.5とpH10.0であった。レジオネラ属菌陽性検体における平均値はpH8.1、陰性検体における平均値はpH7.9で、有意差があった(両側z検定、 $p=0.0016$)。pHを7階級に分け、階級別のレジオネラ属菌検出率を示した(表4)。pH6未満の検体では10検体すべて陰性で、pH9以上の検体で検出率が高く、38.7%であった。

表3 水源別レジオネラ属菌検出状況

水源	レジオネラ属菌検出 検体数/検体数(%)
温泉水	83/233 (35.6)
地下水	31/141 (22.0)
水道水	62/314 (19.7)
温泉水+地下水	17/38 (44.7)
温泉水+水道水	10/45 (22.2)
地下水+水道水	3/8 (37.5)
温泉水+地下水+水道水	7/15 (46.7)
計	213/794 (26.8)

3.3.2 温度

調査結果が得られた787検体の平均は39°C(標準偏差4.1)で、最低値および最高値はそれぞれ9°Cと47°Cであった。レジオネラ属菌陽性検体における平均値は39°C、陰性検体における平均値も39°Cであり、差はみられなかった。温度を7階級に分け、階級別のレジオネラ属菌検出率を示した(表4)。25°C未満の検体で検出率が低い傾向がみられたが、検体数が少ないこともあり有意差はみられなかった。

3.3.3 濁度

濁度については水源による影響が考えられるため、温泉水、地下水、水道水を単一水源とする検体別に集計を行った。それぞれ濁度を4階級に分け、階級別のレジオネラ属菌検出率を示した(表4)。いずれの水源についても0.1度未満の検体でレジオネラ属菌検出率が低い傾向がみられた。

3.3.4 過マンガン酸カリウム消費量

過マンガン酸カリウム消費量についても水源による影響を除くため、単一水源別に集計を行った。それぞれの水源について過マンガン酸カリウム消費量を4階級に分け、レジオネラ属菌検出率を調べた(表4)。地下水を単一水源とする検体について1.0mg/L未満の検体でレジオネラ属菌検出率が低い傾向がみられたが、有意差はなかった。

3.3.5 電気伝導率

全調査試料794検体中、0.0mS/mを除いた786検体の平均は56mS/m(標準偏差270)で、最高値は3100mS/mであった。レジオネラ属菌陽性検体における平均値は91mS/m、陰性検体における平均値は43mS/mであり、対数化しz検定を行ったところ有意差はなかった(両側z検定, p=0.18)。電気伝導率を3階級に分け、階級別のレジオネラ属菌検出率を算出したところ(表4)、1.0mS/m未満の検体でレジオネラ属菌検出率が低い傾向がみられたが有意差はなかった。

3.3.6 大腸菌群

794検体のうち28検体から大腸菌群が検出された。このうち17検体からはレジオネラ属菌も検出されており(検出率60.7%)、大腸菌群陰性検体に対するレジオネラ属菌検出率(25.6%)より高かった。

3.3.7 一般細菌数

一般細菌数陽性の539検体の平均は1.4logCFU/100mL(標準偏差1.4)で、最高菌数は3.8×10⁶CFU/100mLであった。レジオネラ属菌陽性検体における平均値は2.3logCFU/100mL、陰性検体における平均値は0.97logCFU/100mLであり有意差があった(両側z検定, P<0.001)。一般細菌数とレジオネラ属菌数の検体割合を図1に示した。一般細菌数が増加

表4 階級別レジオネラ属菌検出状況

検査項目	レジオネラ属菌検出 検体数/検体数(%)
pH	
≥9.0	36/93 (38.7)
8.5-<9.0	35/120 (29.2)
8.0-<8.5	45/162 (27.8)
7.5-<8.0	44/204 (21.6)
7.0-<7.5	40/150 (26.7)
6.0-<7.0	13/55 (23.6)
<6.0	0/10 (0.0)
温度	
≥45°C	2/4 (50.0)
40-<45°C	130/470 (27.7)
35-<40°C	63/249 (25.3)
30-<35°C	9/35 (25.7)
25-<30°C	3/10 (30.0)
20-<25°C	2/9 (22.2)
<20°C	2/10 (20.0)
濁度 (単一水源別)	
温泉水 ≥5.0度	2/4 (50.0)
1.0-<5.0度	7/17 (41.2)
0.1-<1.0度	46/111 (41.4)
<0.1度	26/94 (27.7)
地下水 ≥5.0度	1/1 (100.0)
1.0-<5.0度	2/4 (50.0)
0.1-<1.0度	16/67 (23.9)
<0.1度	10/54 (18.5)
水道水 ≥5.0度	0/0 (—)
1.0-<5.0度	4/15 (26.7)
0.1-<1.0度	38/137 (27.7)
<0.1度	19/141 (13.5)
過マンガン酸カリウム消費量 (単一水源別)	
温泉水 ≥25 mg/L	2/5 (40.0)
5.0-<25 mg/L	13/33 (39.4)
1.0-<5.0 mg/L	44/133 (33.1)
<1.0 mg/L	24/62 (38.7)
地下水 ≥25 mg/L	0/1 (0.0)
5.0-<25 mg/L	6/21 (28.6)
1.0-<5.0 mg/L	22/95 (23.2)
<1.0 mg/L	3/24 (12.5)
水道水 ≥25 mg/L	0/0 (—)
5.0-<25 mg/L	5/35 (14.3)
1.0-<5 mg/L	42/183 (23.0)
<1.0 mg/L	15/93 (16.1)
電気伝導率	
≥100 mS/m	16/60 (26.7)
1.0-<100 mS/m	97/370 (26.2)
<1.0 mS/m	100/364 (19.3)

するに伴い、レジオネラ属菌の検出率が高くなり、レジオネラ属菌数の高い検体の割合が増加した。

4 考察

今回、2008年から2015年までの県内の浴槽水におけるレジオネラ属菌汚染状況を調査したところ、レジオネラ属菌検出率は26.8%であり、1999年以降の調査では最も低い検出率であった。レジオネラ属菌の水質基準は検出されないこと(10CFU/100mL未満)であるが、今回の調査における陽性検体の平均菌数は2.1 logCFU/100mLであり基準値を大きく超過した検体もみられた。

菌種類別では、同定検査を実施した検体の96.5%から*L. pneumophila*が検出されており、いずれの検体においても優占種であった。血清群はSG6, SG5, SG1が多く、前回の調査結果と同様であった。レジオネラ属菌は50を超える菌種が報告されており、今回の調査でも様々な種類の菌種が検出された。

水源別レジオネラ属菌検出状況は、温泉水を水源とする検体において高い検出率を示した。一般細菌数については、水源による検出率の差はみられず(データ未掲載)レジオネラ属菌の生息状況に温泉成分が影響していると考えられた。

水質検査項目についてレジオネラ属菌との関係を検討した。pH9.0以上の検体で検出率の増加がみられたが、この階級の83%の検体(77/93検体)が温泉水を水源としていることから、水源が影響している可能性も考えられた。温度については、55℃以上でレジオネラ属菌汚染を抑制したという報告があるが⁵⁾、今回の調査では40℃から45℃の検体が多く、温度との関連はみられなかった。濁度、過マンガン酸カリウム消費量、電気伝導率については、濁度0.1度未満の検体でレジオネラ属菌検出率が低い傾向があった以外には有意な関連はみられなかった。大腸菌群が検出された検体についてはレジオネラ属菌検出率も高く、適切な衛生管理を行うことがレジオネラ属菌対策にも重要であることが確認された。一般細菌数については、一般細菌数の高い検体についてレジオネラ属菌数も高い傾向がみられた。レジオネラ属菌は環境中ではアメーバの中で増殖する。アメーバの餌となる一般細菌数の増加はアメーバの繁殖そしてレジオネラの増殖につながると考えられる。塩素消毒効果については、0.2 mg/L以上の残留塩素濃度でレジオネラ属菌検出率は有意に低下した。しかし、残留塩素濃度1.0 mg/L以上の検体についても278検体中22検体からレジオネラ属菌が検出されており(7.9%)、塩素の有用性と同時に効果の限界という課題もみられた。

今回の調査から、依然として県内の浴槽水がレジオネラ属菌に汚染されている状況が明らかとなった。特に温泉水を水源とする検体についてレジオネラ属菌汚

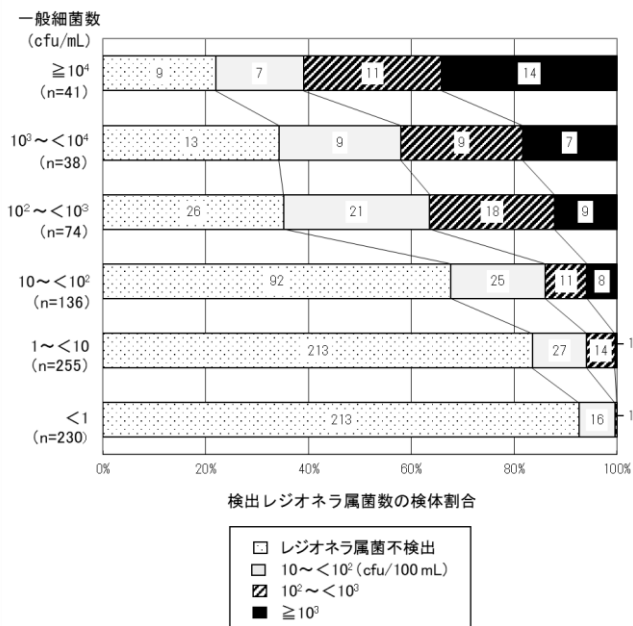


図1 一般細菌数と検出レジオネラ属菌数の関連

3.3.8 残留塩素濃度

調査結果の得られた785検体について、残留塩素濃度を4階級に分け、階級別のレジオネラ属菌検出率を示した(図2)。残留塩素濃度0.2 mg/L未満ではレジオネラ属菌検出率54.3%であり、残留塩素濃度が高くなるにつれ、レジオネラ属菌検出率はそれぞれ31.8%、24.9%、7.9%と低下した。

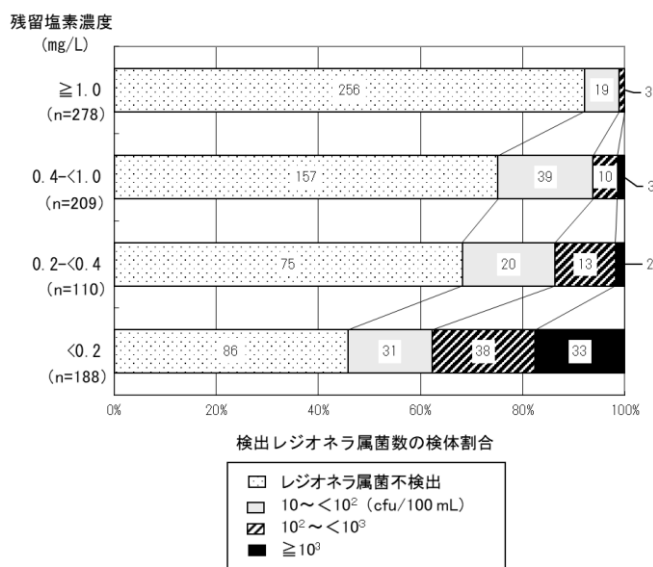


図2 残留塩素濃度と検出レジオネラ属菌の関連

染リスクが高いことがわかった。本調査は施設の指導を目的としているため、無作為に抽出した対象ではなく、レジオネラ属菌汚染のリスク因子を詳細に検討することは難しいが、pH6未満で検出率が低下すること、泉質が影響すること、一般細菌数が増加するとレジオネラ属菌汚染のリスクが増加することなど、これまでの報告と同様の傾向がみられた⁵⁾⁷⁾。レジオネラ属菌のリスク因子は、様々な要因が相互に関係していると考えられ、レジオネラ属菌の生息状況について詳細な解析が望まれる。今後のレジオネラ属菌汚染防止対策としては、適切な薬剤の使用と物理的洗浄により日頃からバイオフィルムの蓄積を防ぎ、一般細菌数をコントロールする等泉質に応じた衛生管理を行うことが必要であると考えられた。

謝 辞

本調査に際し、検体および調査結果を提供して下さった県庁生活衛生課および各保健所担当者の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター, 感染症発生動向調査週報年別一覧表
(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/2270-idwr/nenpou/6986-idwr-nenpo2015.html>).
- 2) 国立感染症研究所: 観光地のホテルを原因とした広域に及ぶレジオネラ集団発生事例—岐阜県, 病原微生物検出情報, 31, 207-209, 2010.
- 3) 板垣道代, 白木豊, 山田万希子, 奥村拓也, 加藤美好: 岐阜県下の循環式浴槽および冷却塔水におけるレジオネラ属菌汚染状況調査 (1999-2002), 岐阜県保健環境研究所報, 11, 31-38, 2003.
- 4) 古田紀子, 山田万希子, 原信行, 白木豊, 野田伸司, 村瀬真子, 河田正史, 藤井佳子, 森本芳久: 岐阜県下の循環式浴槽および冷却塔水におけるレジオネラ属菌汚染状況調査 (2003-2007), 岐阜県保健環境研究所報, 16, 18-34, 2008.
- 5) 烏谷竜哉, 黒木俊郎, 大谷勝実, 山口誠一, 佐々木美江, 齋藤志保子ほか: 掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染とリスク因子, 感染症学会誌, 83, 36-44, 2009.
- 6) 井上博雄, 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金 (地域健康危機管理研究事業) 「掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究」総括・分担研究報告書, 99-141, 2007.
- 7) 倉文明, 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金 (地域健康危機管理研究事業) 「温泉の泉質等に対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究」総括・分担研究報告書, 45-66, 2007.

Occurrence of *Legionella* in Bathes from 2008 to 2015 in Gifu.

Yukiko KADOKURA, Makiko NODA, Yoshihiko KAMEYAMA,
Natsu SUDANI, Kohtaro GOTO, Yoshio KOBAYASHI

Gifu Prefectural Research Institute for Health and Environmental Sciences:
1-1, Naka-fudogaoka, Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan