

資 料

岐阜県下の浴槽水及びシャワー水における レジオネラ属菌汚染状況調査 (2019-2022 年度)

桐井久美子, 岩間恵里, 古田綾子, 野田万希子, 亀山芳彦

要 旨

2019 年度から 2022 年度の 4 年間に実施した県内の公衆浴場におけるレジオネラ属菌汚染状況調査の調査成績をまとめた。検査対象は浴槽水とシャワー水で、浴槽水 263 検体のうち 64 検体 (24.3%) から、シャワー水 121 検体のうち 9 検体 (7.4%) からレジオネラ属菌が検出された。レジオネラ属菌が検出された浴槽水 64 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 62 検体 (96.9%) 検出され、血清群 (serogroup 以下、「SG」と略す) については、SG 1 が 25 検体 (39.1%)、SG 6 が 18 検体 (28.1%)、SG 5 が 15 検体 (23.4%) と高率に検出された。レジオネラ属菌が検出されたシャワー水 9 検体についても同定検査を実施し、*L. pneumophila* が 8 検体 (88.9%) から検出された。血清群については、SG 1 と SG 3 がともに 3 検体 (33.3%) 検出された。調査を開始した 1999 年から今回を含めて 5 回調査結果をまとめ、解析しているが、レジオネラ属菌の検出率は低下傾向であることが確認された。しかし、陽性検体の平均菌数は依然として高く、最高菌数は浴槽水 (1.2×10^4 CFU/100 mL)、シャワー水 (6.0×10^3 CFU/100 mL) であり、感染リスクは低減していない状況であるといえる。

キーワード：レジオネラ属菌, 浴槽水, シャワー水, 残留塩素濃度

1 はじめに

レジオネラ属菌は、本来土壌などの自然環境中の細菌であるが、冷却塔、給湯系、渦流浴などの人工環境にアメーバを宿主として増殖している。快適な生活や水資源の節約のため、エアロゾルを発生させる人工環境 (噴水等の水景施設、冷却塔、ジャグジー、加湿器等) や循環水を利用した風呂が屋内外に多くなっていることなどがレジオネラ属菌に感染する機会を増やしているものと考えられる。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傾向にあり、2019 年は全国で 2,316 例、2020 年は 2,059 例、2021 年 2,133 例と毎年 2,000 例を超える報告がある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⁾。2017 年 3 月には、広島県の温泉入浴施設を感染源とし、58 人の患者が発生する大規模な集団感染事例も起きている³⁾。

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。これまで 4 回調査結果をまとめ、解析した結果、レジオネラ属菌検出率は低下傾

向であるものの、前回 (2016-2018 年) の報告⁴⁾ では浴槽水の 25.7% からレジオネラ属菌が検出され、依然として一部の県内施設の浴槽水がレジオネラ属菌に汚染されている実態が明らかとなり、シャワー水についても浴槽水と同程度の検出率 (22.0%) であることが確認された。今回、2019 年度から 2022 年度までの 4 年間の浴槽水とシャワー水のレジオネラ属菌汚染状況調査の成績をまとめた。

2 材料と方法

2.1 検査対象

調査対象は 2019 年度から 2022 年度の 4 年間とし、各年度の採水期間は (表 1) に示した。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 (以下、「浴槽水」) 及びそれらの施設の浴室シャワーから採取した水 (以下、「シャワー水」) 384 検体を採取し調査した。検体採取時に施設の構造設備及び衛生管理状況について聞き取りを行い、温度、pH、残留塩素濃度、レジオネラ属菌数等について検査した。

2.2 検査方法

温度及び残留塩素濃度は採水時に測定した。浴槽水は消毒した柄杓等を用いて約 500 mL を採取し、シャ

ワー水は、給湯温度を約 40℃ に設定し、10 秒程度放水後に約 500 mL を採取した。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、令和元年 9 月 19 日薬生衛発 0919 第 1 号「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」に従い、メンブレンフィルターろ過濃縮法により実施した。すなわち、試料約 500 mL のうち 0.1 mL を未処理の非濃縮検体として選択分離培地 (GVPC 寒天培地, MWY 寒天培地, WYOα 寒天培地等) に塗布した。次に試料 500 mL を孔径 0.2 μm のポリカーボネートフィルター (ADVANTEC) で 100 倍に濃縮後、pH 2.2 の酸処理液 (極東製薬工業) により室温で 5 分間酸処理を行い、原液と滅菌蒸留水による 10 倍希釈液をそれぞれ 0.2 mL ずつ前述の培地に塗布した。また、熱処理として 50℃ に設定したヒートブロック上で 20 分間静置後 0.1 mL を同様に塗布し、36℃ インキュベーターで 7 日間以上培養し観察

した。観察期間中、発育したレジオネラ属菌様集落を血液寒天培地またはトリプトソイ寒天培地 (TSA) と BCYEα 寒天培地に接種し、L- システイン要求性を確認した。

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⁵⁾ 及びスライド凝集反応 (デンカ生研) で行った。

3 結果

3.1 浴槽水のレジオネラ属菌の検出状況

2019 年度から 2022 年度の 4 年間に採取した浴槽水 263 検体のうち、64 検体からレジオネラ属菌が検出され、検出率は 24.3% であった。年度別にみると、2022 年度が 30.2% と最も高く、2019 年度が 27.1%, 2020, 2021 年度が 20.0% と低かった (表 1)。最高菌数は 1.2×10^4 CFU/100 mL で、陽性検体における菌数の平均値は 2.0 log CFU/100 mL (標準偏差 0.9) であった。

表 1 年度別レジオネラ属菌検出状況

事業年度	採水年月	浴槽水		シャワー水	
		検体数	レジオネラ属菌検出 検体数 (検出率%)	検体数	レジオネラ属菌検出 検体数 (検出率%)
2019	2019. 9-2019. 12	70	19 (27. 1)	30	3 (10. 0)
2020	2020. 9-2020. 12	70	14 (20. 0)	28	2 (7. 1)
2021	2021. 7-2022. 1	60	12 (20. 0)	32	3 (9. 4)
2022	2022. 8-2023. 2	63	19 (30. 2)	31	1 (3. 2)
計		263	64 (24. 3)	121	9 (7. 4)

表 2 レジオネラ属菌種別および群別検出状況

菌種	浴槽水		シャワー水	
	検出検体数 (検出検体割合%)		検出検体数 (検出検体割合%)	
<i>L. pneumophila</i>	62 (96. 9)		8 (88. 9)	
SG 1	25 (39. 1)		3 (33. 3)	
SG 2	7 (10. 9)			
SG 3	10 (15. 6)		3 (33. 3)	
SG 4	1 (1. 2)		1 (11. 1)	
SG 5	15 (23. 4)		1 (11. 1)	
SG 6	18 (28. 1)		1 (11. 1)	
SG 8	2 (3. 1)			
SG 9	2 (3. 1)			
SG 10	3 (4. 7)			
SG 11	1 (1. 2)			
SG 15	1 (1. 2)		1 (11. 1)	
SG UT	6 (9. 4)			
<i>L. micdadei</i>	2 (3. 1)			
<i>L. bozemanii</i>	2 (3. 1)			
その他のレジオネラ属菌	2 (3. 1)		3 (33. 3)	
同定検査実施検体数	64 (100)		9 (100)	

レジオネラ属菌陽性となった 64 検体について同定検査を行ったところ、62 検体から *L. pneumophila* が検出された。血清群は、SG 1 が 25 検体 (39.1%)、SG 6 が 18 検体 (28.1%)、SG 5 が 15 検体 (23.4%) と高率に検出された。*L. pneumophila* の他には、*L. micdadei*、*L. bozemanii*、その他の *Legionella* 属菌が検出された(表 2)。また、複数の血清群が検出された検体が 19 検体、複数の菌種が検出された検体が 5 検体認められた。

表3 浴槽水の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	24/105 (22.9)
地下水	11/37 (29.7)
水道水	25/83 (30.1)
温泉水+地下水	1/21 (4.8)
温泉水+水道水	3/14 (21.4)
地下水+水道水	0/1 (0.0)
計	64/261 (24.5)

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水道水が 30.1%、地下水 29.7%、温泉水 22.9%であった。単一水源別の pH の平均値は、温泉水 8.5、地下水 7.6、水道水 7.7 であった。

残留塩素濃度の結果が得られた 254 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 1)。

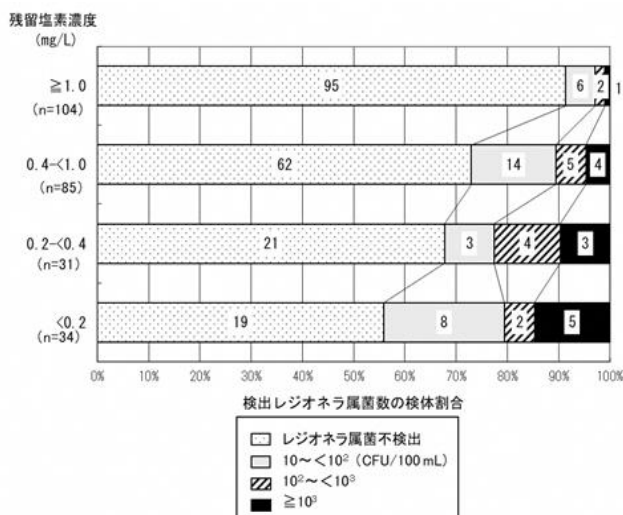


図1 浴槽水における残留塩素濃度と検出レジオネラ属菌数

平成 15 年 7 月 25 日厚生労働省告示第 264 号「レジオネラ症を予防するために必要な措置に関する技術上の指針」において適切な濃度とされる残留塩素濃度 0.2 mg/L 以上 0.4 mg/L 未満であった検体は 31 検体で全体

の 12.2%であった。0.2 mg/L 未満の検体は 34 検体 (13.4%)、0.4 mg/L 以上 1.0 mg/L 未満の検体は 85 検体 (33.5%)、1.0 mg/L 以上の検体は 104 検体 (40.9%) あり、残留塩素濃度 0.4 mg/L 以上の検体が 7 割以上を占めた。残留塩素濃度 0.2 mg/L 未満のレジオネラ属菌検出率は 44.1%で、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 32.3%、27.1%、8.7%と低下した。

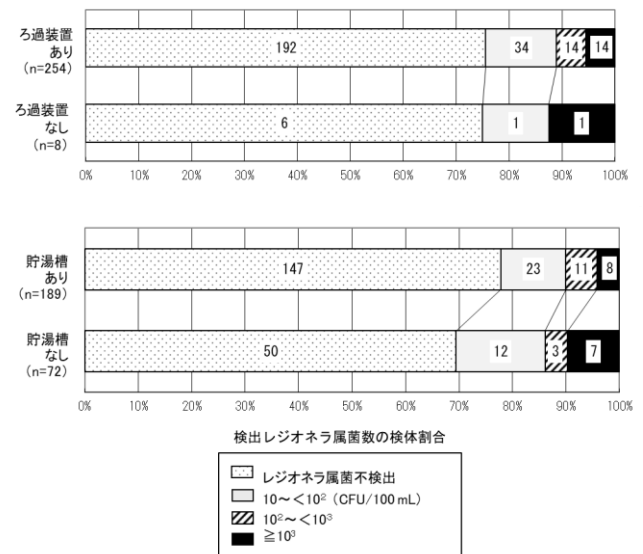


図2 浴槽水における循環ろ過装置及び貯湯槽の有無とレジオネラ属菌検出率

施設の設備について、循環ろ過装置と貯湯槽の有無でレジオネラ属菌の検出状況を比較した(図 2)。

循環ろ過装置について情報が得られた 262 検体のうち循環ろ過装置を使用している浴槽水 254 検体のレジオネラ属菌検出率は 62 検体 (24.4%) であった。循環ろ過装置を使用していない浴槽水は 8 検体と少ないが、2 検体からレジオネラ属菌が検出され、検出率は 25.0% であった。貯湯槽については、設置している施設は 189 検体でレジオネラ属菌検出率は 42 検体 (22.2%)、設置していない施設は 72 検体でレジオネラ属菌検出率は 22 検体 (30.6%) であった。

貯湯槽を設置している施設について、その管理状況を調べたところ、60℃以上の適切な温度管理を実施していたのは 189 検体中 156 検体 (82.5%) で、レジオネラ属菌検出率は 35 検体 (22.4%) であった。温度管理未実施であった 33 検体のレジオネラ属菌検出率は、7 検体 (21.2%) であった。この温度管理未実施の 33 検体のうち 13 検体は貯湯槽の消毒を行っており、貯湯槽を設置している 189 検体のうち 169 検体 (89.4%) が温度管理又は消毒を実施していた。

3.2 シャワー水のレジオネラ属菌の検出状況

2019 年度から 2022 年度の 4 年間に採取した 121 検体

のうち、9 検体からレジオネラ属菌が検出され、検出率は7.4%であった。最高菌数は 6.0×10^3 CFU/100 mL で、陽性検体における菌数の平均値は $1.9 \log$ CFU/100 mL (標準偏差 1.0) であった。

レジオネラ属菌が検出された9 検体について同定検査を行った結果、8 検体から *L. pneumophila* が検出された。割合はSG 1, SG 3 及びその他の *Legionella* 属菌がともに3 検体 (33.3%) であった。また、複数の血清群が検出された検体が2 検体、複数の菌種が検出された検体も2 検体認められた。このうちの1 検体からは複数の血清群と、その他の *Legionella* 属菌が検出された。

残留塩素濃度の結果が得られた 120 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3)。

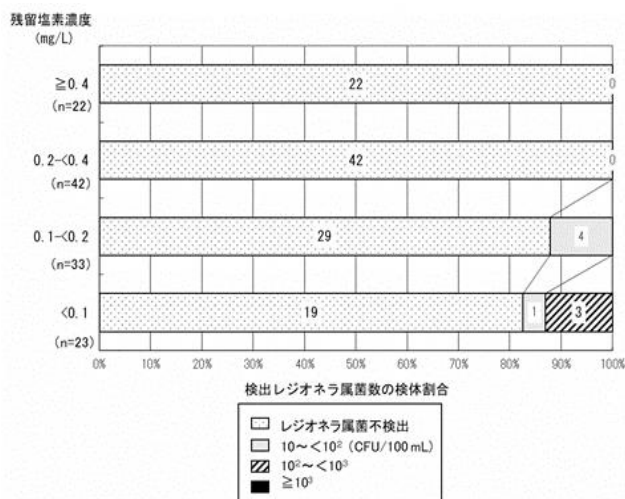


図3 シャワー水における残留塩素濃度と検出レジオネラ属菌数

各階級の検体数は、残留塩素濃度 0.1 mg/L 未満は 23 検体 (19.2%), 0.1 mg/L 以上 0.2 mg/L 未満は 33 検体 (27.5%), 0.2 mg/L 以上 0.4 mg/L 未満は 42 検体 (35.0%), 0.4 mg/L 以上は 22 検体 (18.3%) で、約半数の検体が残留塩素濃度 0.2 mg/L 未満であった。レジオネラ属菌が検出されたのは、情報が得られなかった 1 検体を除き、残り 8 検体すべてが 0.2 mg/L 未満からであった。

設備及び管理状況についてレジオネラ属菌との関係を調べた (図4)。シャワーへ送る湯の温度を調節するための調節箱について、情報が得られた 119 検体のうち調節箱を設置しているシャワー水は7 検体 (5.9%) であった。このうち5 検体が閉鎖型、2 検体は開閉型不明であった。レジオネラ属菌が検出された9 検体は、すべて調節箱無しの検体からであった。

シャワー水の衛生管理について、令和元年12月17日改正「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止マニュアル」に記載の管理概要を参考に、滞流水の放流、設備

の点検、清掃消毒の3つの項目について調査した。情報が得られた64 検体について、すべて行っている検体は54 検体でこのうち6 検体 (11.1%) からレジオネラ属菌が検出された。3つの項目をすべて行っていない検体10 検体からレジオネラ属菌は検出されなかった。

レジオネラ属菌が検出された残りの3 検体について、滞流水の放流は行っていたが、設備の点検と洗浄消毒は行っていない1 検体と、滞流水の放流は不明、設備の点検と洗浄消毒を行っていない2 検体からの合計3 検体であった。

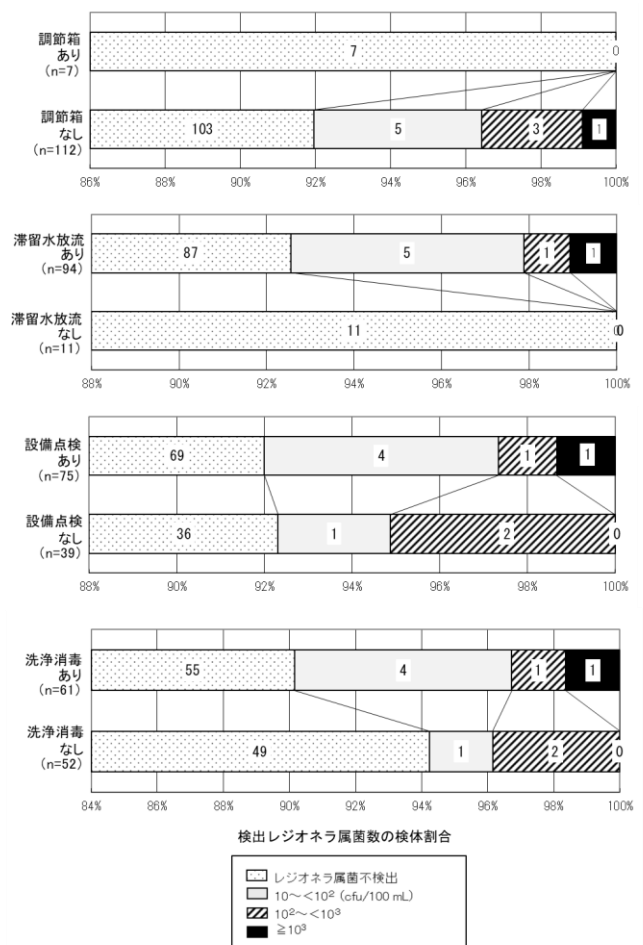


図4 シャワー水における調節箱の有無及び衛生管理状況とレジオネラ属菌検出数

4 考察

県内の浴槽水のレジオネラ属菌検出率は 1999-2002 年 (56.9%), 2003-2007 年 (35.7%), 2008-2015 年 (26.8%), 2016-2018 年 (25.7%) であったのに対し、今回の調査 (2019-2022 年度) では24.3%であり、採取施設の選択や検査法が一律ではないため一概には比較できないが、1999 年以降の調査では最も低い検出率であった。特に2020 年、2021 年に検出率が20.0%と低かったのは、コロナ禍の影響で通常営業が出来ない期間の入浴者数減少も影響していると考えられた。2022 年

に検出率が高くなったのは、通常営業していない期間の衛生管理が不十分であった可能性も考えられた。

レジオネラ属菌の水質基準は検出されないこと (10 CFU/100 mL 未満) であるが、浴槽水の陽性検体の平均菌数は $2.0 \log$ CFU/100 mL であり基準値を大きく超過した検体もみられた。中でも 10^3 CFU/100 mL を超す検体は 64 検体中 15 検体 (23.4%) あり、前回調査の 56 検体中 9 検体 (16.1%) と比べて増加しており、感染リスクの高い施設が多くあることが示された。

シャワー水のレジオネラ属菌検出率は、初めて実施した前回の調査では浴槽水 (25.7%) と同程度 (22.0%) であったが、今回の調査では 7.4% で浴槽水 (24.3%) に比べ低かった。年別にみると 2016 年 (30.8%)、2017 年 (17.2%)、2018 年 (18.5%) と、検出率は年々低下傾向であることが確認された。しかし今回の調査での陽性検体の平均菌数は $1.9 \log$ CFU/100 mL であり、 10^3 CFU/100 mL を超えた 1 検体については、菌数が 6.0×10^3 CFU/100 mL と、前回調査での最高菌数 1.9×10^3 CFU/100 mL よりも多いことから、検出率は低下傾向とはいえ感染リスクが低減しているわけではないことが示された。

菌種別では、浴槽水のレジオネラ属菌陽性検体の 93.8% から *L. pneumophila* が検出された。血清群は SG 1, SG 6, SG 5 の順に多く、過去の調査と同様であった。シャワー水においても 88.9% の検体から *L. pneumophila* が検出され、血清群は SG 1 と SG 3 が多かった。レジオネラ症患者から分離されるレジオネラ属菌の 9 割近くが *L. pneumophila* SG 1 であることが確認されている⁶⁾。前回調査ではシャワー水から検出された *L. pneumophila* SG 1 は 18 検体中 2 検体 (11.1%) であったが、今回の調査では 9 検体中 3 検体 (33.3%) 検出され、公衆浴場での感染の危険性を示す結果となった。

単一水源別の pH については、温泉水を水源とする検体の平均が 8.5 で弱アルカリ性 (pH 8.0 以上) の検体が多かった。アルカリ性単純温泉でレジオネラ属菌汚染率が高いとの報告⁷⁾ があるが、水源別レジオネラ属菌検出状況では、温泉水よりも水道水 (平均 pH 7.7)、地下水 (平均 pH 7.6) を水源とする検体において高い検出率を示し、温泉水を水源とする検体において高い検出率を示した前回調査とも異なる結果となった。アルカリ性の温泉水では、塩素系薬剤の消毒効果が低下することが問題となるが、今回の結果からアルカリ性泉質ではない水道水や地下水を水源とする施設における基本的な衛生管理についての課題が示された。

レジオネラ属菌が検出された弱アルカリ性泉質の施設のうち、今回の調査期間に複数回調査が行われた 4 施設について結果を調べたところ、3 施設から各々同じ

血清群の菌種が連続して検出されており、菌株が同一株かは検討していないものの、バイオフィルムの定着を疑わせる結果であり、泉質に応じた衛生管理を行っているか、加えて他の衛生管理項目の実施方法について問題がないか確認する必要があるといえる。

塩素消毒効果について、浴槽水は 0.2 mg/L 以上でレジオネラ属菌検出率は低下したが、1.0 mg/L 以上の検体についても 9 検体からレジオネラ属菌が検出された。

平成 18 年 8 月 24 日健衛発第 0824001 号「公衆浴場における衛生等管理要領について」には、通常 0.2 ないしは 0.4 mg/L 程度を保ち、かつ、最大 1.0 mg/L を超えないよう努めることと記載されている。1.0 mg/L を超えた検体が複数認められたが、入浴施設として基準の範囲を超えているため、塩素濃度管理の見直しが必要であるといえる。

構造設備とレジオネラ属菌との関連について、浴槽水は循環ろ過装置と貯湯槽の有無、シャワー水は調節箱の有無について調べた。循環ろ過装置や貯湯槽はバイオフィルムが定着しやすくレジオネラ属菌汚染リスクが高いといわれている。しかし今回の調査では循環ろ過装置の有無で検出率に差はなく、貯湯槽については設置なし (30.6%) の方が設置あり (22.2%) より高かったことから、汚染リスクにとらわれずに衛生管理を徹底することの重要性を示している。

シャワー水の温度を調節する調節箱は、レジオネラ属菌の増殖に適した温度となるためリスクが高いとの報告があり⁸⁾、前回の調査でのレジオネラ属菌検出率は調節箱あり (54.5%)、調節箱なし (18.8%) であった。今回の調査では、調節箱を設置している検体は 119 検体中 7 検体 (5.9%) のみで、いずれもレジオネラ属菌は検出されず、レジオネラ属菌が検出された 9 検体はすべて調節箱なしの検体からであった。シャワー水の管理状況については滞流水の放流、設備の点検、清掃消毒の 3 つの項目を調査した。その結果、すべての項目について対策を実施している施設の 6 検体からレジオネラ属菌が検出された。このことから各項目の実施方法について、問題がないか確認する必要があるといえる。

今回の調査から、依然として県内の浴槽水及びシャワー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。今後も引き続きレジオネラ属菌汚染状況を把握し、調査項目や検査方法を検証しながら衛生管理の改善につなげたい。

謝 辞

本調査に際し、検体及び調査結果を提供くださった県庁生活衛生課及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疫学センター, 発生動向調査年別報告数一覧 (全数把握)
(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/ydata/11529-report-ja2021-20.html>).
- 2) 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
(<https://idsc.niid.go.jp/iasr/31/365/kj3655.html>).
- 3) 尾下豪人, 磯山正子, 由田彩佳, 児玉堯也, 大崎慶子, 川崎広平, 奥崎 健, 有田健一: 広島県東部におけるレジオネラ症集団発生事例の郵送調査報告, 日本呼吸器学会誌, 7, 2, 85-89, 2018.
- 4) 門倉由紀子, 越勝男, 野田万希子, 酢谷奈津, 亀山芳彦: 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 (2016-2018), 岐阜県保健環境研究所報, 27, 22-27, 2019.
- 5) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル「レジオネラ症」令和 2 年 9 月 1 日改訂, 32-33, 2020.
- 6) Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, Kyoko Chida, Hitomi Ohya, Jun-Ichi Kanatani, Shinobu Tanaka, et al.: Legionella pneumophila and Other Legionella Species Isolated from Legionellosis Patients in Japan between 2008 and 2016, Appl Environ Microbiol, 84, 718-721, 2018.
- 7) 井上博雄, 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」平成 18 年度総括・分担研究報告書, 99-141, 2007.
- 8) 岡部咲子, 大脇彩, 石山康史, 濃沼正紀, 中臣昌広, 山下靖之: 入浴施設のシャワー水のレジオネラ汚染状況, 病原微生物検出情報, 31, 332-333, 2010.

Detection of *Legionella* Species from Bath and Shower Water in Gifu Prefecture (2019 - 2022).

Kumiko KIRII, Eri IWAMA, Ayako FURUTA, Makiko NODA, Yoshihiko KAMEYAMA

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