

レジオネラ属菌とアメーバの関連性

Investigation of the Relevance of *Legionella* and Amoebas

佐々木 美江 有田 富和*¹ 畠山 敬
斎藤 紀行 秋山 和夫

Mie SASAKI, Tomikazu ARITA, Takashi HATAKEYAMA
Noriyuki SAITO, Kazuo AKIYAMA

キーワード：レジオネラ，宿主アメーバ

Key Words : *Legionella* , Host Amoeba

温泉施設・旅館の温泉水と浴槽周辺のぬめりを対象にレジオネラ属菌とアメーバの検査を実施したところ、双方とも高率に検出され、特に浴槽水からは宿主アメーバが優勢に確認された。また、アメーバが確認された温泉水や浴槽周辺のぬめりからは60%以上レジオネラ属菌が検出されたことから、レジオネラ属菌とアメーバが深く関与していることが明らかとなった。

1 はじめに

レジオネラ属菌は好気性のグラム陰性桿菌で、アメーバやテトラヒメナなどの原生動物の食胞内に寄生し増殖することが知られている。レジオネラ属菌の宿主アメーバは *Hartmanella* , *Naegleria* , *Acanthamoeba* , *Vannella* など¹⁾、これらのアメーバは環境によって栄養体・シスト(嚢子)のように形態を変化させる。シストは乾燥や熱、薬剤に強く、乾燥状態で1年以上生存することや高濃度の塩素に耐性であること²⁾から、アメーバにレジオネラ属菌が寄生した場合、レジオネラ属菌が死滅する環境でもシスト化したアメーバ内でレジオネラが生存し続ける可能性がある。そこでレジオネラ属菌汚染防止には、アメーバを除去することが必須であり、その前段階としてレジオネラ属菌とアメーバの関連を知ることが重要と考えられる。今回、レジオネラ属菌生息実態調査事業において温泉水とぬめりから検出したレジオネラ属菌とアメーバの関連性について調査し、若干の知見が得られたので報告する。

2 材料及び方法

2.1 材料及び検査項目

レジオネラ属菌生息実態調査を実施した温泉施設・旅館の21施設を対象として、平成13年5月から平成14年12月までに採取した温泉水(注湯口・浴槽)149件および浴槽周辺のぬめり72件を検査材料とした。また、検査項目はレジオネラ属菌、アメーバの検出の他に採水時に残留塩素濃度の測定を実施した。

2.2 検査方法

レジオネラ属菌の分離・同定およびアメーバの分離は昨年と同様に「新版レジオネラ症防止指針」に基づき実施した³⁾。アメーバの分離方法を図1に示した。アメーバの分離に使用した大腸菌塗抹培地は大腸菌を予め60で不活化し、無栄養寒天培地に塗布して作製した。温泉水については、原水または50倍濃縮した1mLを、ぬめりについては原液または10倍希釈した1mLを大腸菌塗抹培地に塗布後30で1~5日培養し、ブランク形成が認められた場合をアメーバ陽性とした。検出された一部のアメーバを微分干渉顕微鏡下(200~400倍)でシスト・仮足・べん毛等の形態観察を行ない、属名の決定をした。



図1 アメーバの検査方法

* 1 現 石巻保健福祉事務所

3 結 果

3.1 検出状況

レジオネラ属菌とアメーバの検出状況を図2及び図3に示した。レジオネラ属菌は温泉水から149件中61件(40.9%),ぬめりからは72件中29件(40.2%)と同程度、検出された。一方、アメーバは温泉水から149件中51件(34.2%)であったのに対し、ぬめりからは72件中36件(50.0%)と半数からアメーバが確認されるなどレジオネラ属菌と同様にアメーバは高率に確認された。

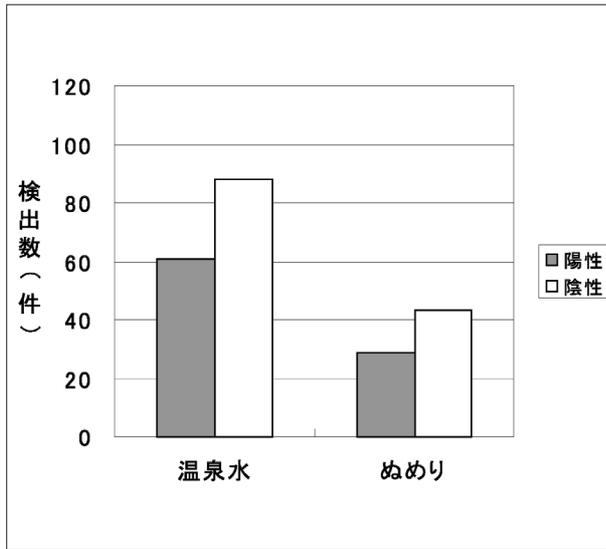


図2 レジオネラ属菌検出状況

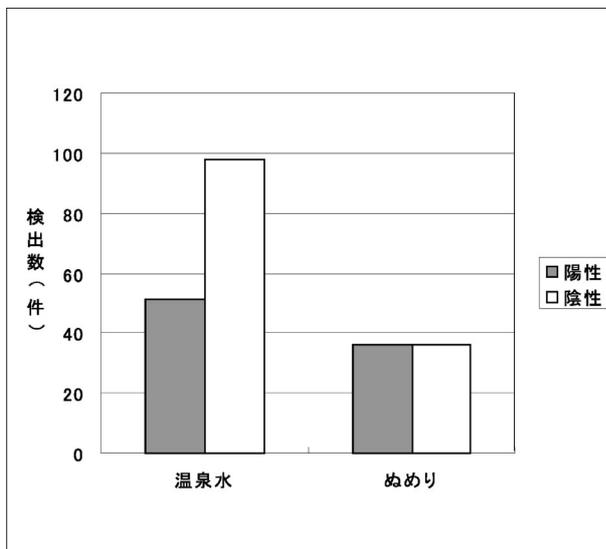


図3 アメーバ検出状況

3.2 レジオネラ属菌とアメーバの関連

温泉水及びぬめりにおけるアメーバ生息の有無とレジオネラ属菌の検出状況を比較した(図4,5)。温泉水からレジオネラ属菌は、アメーバが確認された51件中36件(70.6%)から検出されたのに対し、アメーバが確認出来なかった温泉水からは98件中25件(25.5%)にとどま

り、アメーバが生息する浴槽からは高率にレジオネラ属菌が検出された。

また、同様にぬめりでのレジオネラ属菌は、アメーバが確認された場合、36件中23件(63.9%)、確認されなかった場合、36件中6件(16.7%)であった。

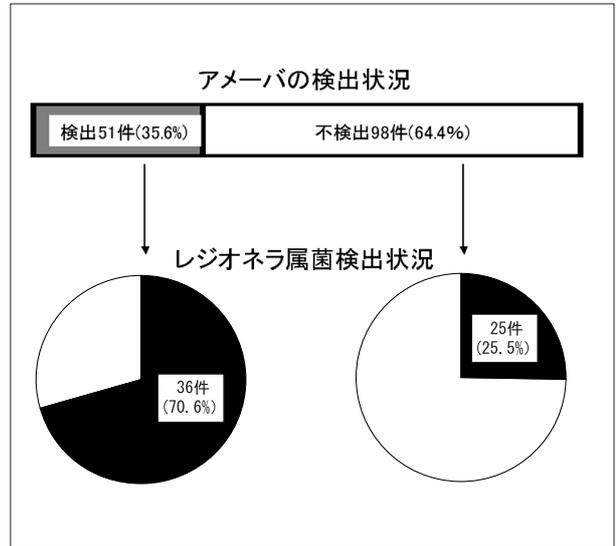


図4 レジオネラ属菌とアメーバの関連性 (浴槽水：149件)

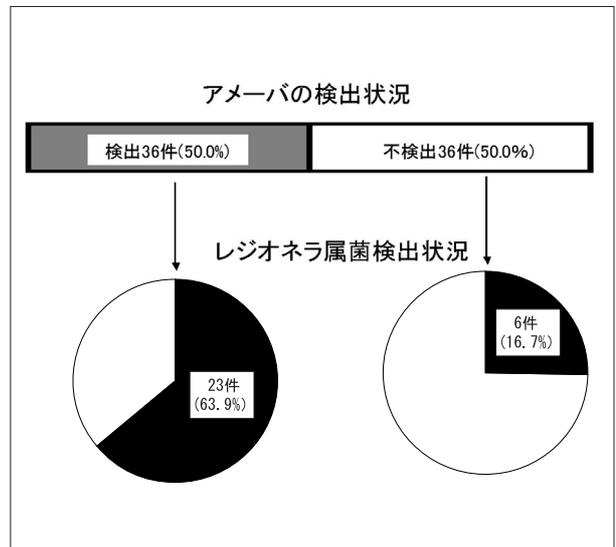


図5 レジオネラ属菌とアメーバの関連性 (ぬめり：72件)

3.3 残留塩素濃度とアメーバ及びレジオネラ属菌の検出状況

確認された一部のアメーバの種類及びレジオネラ属菌、残留塩素濃度を表1に示した。

同定したアメーバはレジオネラ属菌の宿主となる *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Hartmanella* と、温水環境に広く生息する *Platyamoeba* であった。また、残留塩素濃度とアメーバの種類を比較すると、0.1mg/L未満の浴槽水

ではレジオネラ属菌の菌数やアメーバの種類，検出数に差はみられなかったが，残留塩素濃度が0.2mg/L以上で宿主アメーバである*Acanthamoeba*が1件検出された。

表1 残留塩素濃度とアメーバ及びレジオネラ属菌の検出状況

残留塩素濃度 (mg/L)	アメーバの種類	検出数	レジオネラ属菌 (CFU/100mL)
0.1未満	<i>Hartmanella</i>	4	50 ~ 430
	<i>Acanthamoeba</i>	4	0 ~ 390
	<i>Naegleria</i>	7	0 ~ 1,260
	<i>Platyamoeba</i>	4	20 ~ 160
0.1~0.2未満	<i>Acanthamoeba</i>	1	0
0.2以上	<i>Acanthamoeba</i>	1	0

4 考 察

平成11年4月に施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）」でレジオネラ症は全数届出対象疾患の4類感染症となった。施行前の昭和45年から平成4年（1979~1992）までの14年間の患者数が86例に対し⁴⁾，感染症法施行から平成14年12月（2002）までの患者数は465例と増えている⁵⁾。

また近年，温泉・公衆浴場を感染源としたレジオネラ症の集団感染例が相次いで報告され，平成14年宮城県では循環式入浴施設を感染源とする患者295名（うち7名死亡）に達する事例報告もあり，社会的関心が一層高くなっている。現在まで宮城県内での集団発生は報告されていないが，感染源不明のレジオネラ症による1例の死亡が報告されていることから⁶⁾，レジオネラ症に対する防止対策は急務といえる。

今回，レジオネラ属菌がアメーバ食胞内で大量に増殖するという報告⁷⁾から温泉水とぬめりからのアメーバの生息状況調査を実施したところ，40~50%にアメーバの生息を確認した。更にアメーバが確認された温泉水・ぬめりからのレジオネラ属菌検出率は約60%に達し，アメーバが確認されなかった両者からのレジオネラ属菌の検出率は20%程度と大きな差が認められた。また，確認されたアメーバ種はレジオネラ属菌の宿主とされる種が優勢に同定されていることより，温泉施設内でのレジオネラ属菌の増殖や生存には，アメーバが重要な関与をしていることが明らかになった。

一方，アメーバに感染したレジオネラ属菌は，高濃度の遊離塩素でシスト化したアメーバの体内で休止状態となり，塩素濃度を低下させることによって再び活動をするという実験報告²⁾があり，今回の調査で残留塩素濃度0.2mg/Lの温泉水にも*Acanthamoeba*が生息していたことから，塩素濃度を保持することのみでレジオネラ属菌の汚染を完全に防止すること不可能である。

以上の成績から温泉施設等におけるレジオネラ属菌の汚染防止には，温泉水あるいはぬめりに含まれるアメーバの除去が重要であると考えられる。

5 ま と め

- (1) 温泉水・ぬめりからレジオネラ属菌とアメーバが高率に検出された。
- (2) レジオネラ属菌の増殖には，アメーバが関与していることが確認された。
- (3) 温泉水からは宿主アメーバである*Naegleria*，*Acanthamoeba*，*Hartmanella*が検出された。
- (4) レジオネラ属菌の汚染防止には，温泉水あるいはぬめりに含まれるアメーバの除去が必要であることが考えられた。

6 謝 辞

本調査を実施するにあたり生活衛生課環境衛生班，大崎保健所環境公害班，仙南保健所環境公害班の担当職員の方々に多大なるご協力を賜り深く感謝します。

参考文献及び資料

- (1) 財団法人ビル管理教育センター発行：新版レジオネラ防止指針
- (2) Kilvington S et al：Survival of *Legionella pneumophilla* within cysts of *Acanthamoeba polyphaga* following chlorine exposure. *J Appl Bacteriol* 68, 519 - 525 (1990)
- (3) 佐々木美江他：宮城県内の温泉施設におけるレジオネラ属菌実態調査（第1報），宮城県保健環境センター年報19, 62 - 64 (2001)
- (4) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報Vol. 21, 9 (2000)
- (5) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報Vol. 24, 2 (2003)
- (6) 宮城県感染症情報センター：宮城県感染症発生動向調査情報，第29週 (2003)
- (7) 遠藤卓郎他：レジオネラ汚染とその対策 (2003)