

掛け流し式温泉における微生物生息状況

Isolation of Microorganisms from Hot Spring Water in Miyagi Prefecture

佐々木美江 田村 広子*¹ 畠山 敬
谷津 壽郎 秋山 和夫*²

Mie SASAKI, Hiroko TAMURA, Takashi HATAKEYAMA
Juro YATSU, Kazuo AKIYAMA

微生物の生息状況が明らかになっていない掛け流し式温泉の実態調査を実施した。対象の22施設の浴槽水よりレジオネラ属菌が27%、抗酸菌が9%、アメーバが36%検出された。レジオネラ属菌は*L.pneumophila*, *L.londaniensis*, 抗酸菌は*M.avium*と*Mycobacterium sp.*と同定され、レジオネラ症、非結核性抗酸菌感染症の主な起因菌であった。このように、掛け流し式温泉の約3割で安全性が確保されていない実態が明らかになったことから、更に衛生管理を徹底して感染事故の防止に努める必要があることが推察された。

キーワード：温泉，レジオネラ属菌，アメーバ，抗酸菌

Keywords : hot spring ; *Legionella sp.* ; amoeba ; *Mycobacterium sp.*

1 はじめに

温泉には循環式および掛け流し式の2方式がある。循環式温泉では、ろ過器、ヘアキャッチャー、配管などの循環系統が主に微生物の温床となり、レジオネラ属菌を原因とするレジオネラ症の集団感染事例が多く報告されている¹⁾。厚生労働省では「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」(平成13年9月11日)を通知し、衛生管理の徹底が指示されている。一方、掛け流し式は、感染事例の報告もなく、汚染源となる配管等も備えていないため安全と思われているが、その実態については明らかにされていない。そこで掛け流し式温泉の実態を明らかにするためレジオネラ属菌および浴槽施設において感染の可能性がある微生物(抗酸菌、アメーバなど)を調査して、その安全性について考察した。

2 方法

2.1 対象および材料

掛け流し式温泉22施設22ヶ所の浴槽水を試料とした。また、レジオネラ属菌の生活環よりぬめりにも生息していることが推測されたため、採取可能な注湯口、浴槽付近のぬめりについても拭き取り、試料とした。

2.2 検査項目

公衆浴場法および旅館業法施行細則の基準項目(レジオネラ属菌, 大腸菌群)とWHO「Guide lines for safe recreational

-water environments」に記載されている検査項目(大腸菌, アメーバ, 黄色ブドウ球菌, 緑膿菌, 抗酸菌)および汚染指標として従属栄養細菌, 一般細菌数を検査対象項目とした。

2.3 方法

浴槽水からのレジオネラ属菌, 大腸菌群, 大腸菌, アメーバ, 従属栄養細菌, 一般細菌数の検出および測定はそれぞれの検査法に従った。すなわち, レジオネラ属の検出では試料200mLを6500rpm30分間遠心した後, 上清を捨て滅菌蒸留水で1mLにしたものを検体とする。この検体を酸処理して100 μ LをGVPC培地などに塗布して10日間まで培養後, 分離された菌株の生化学性状の確認, PCR, 必要に応じてハイブリダイゼーションを行い, 同定した²⁾。抗酸菌の検出には遠心し200倍濃縮した試液をアルカリ処理後, 2%小川培地に100 μ L接種し37 $^{\circ}$ Cで8週間培養した。大腸菌, 大腸菌群はコリラートを使用し, 黄色ブドウ球菌, 緑膿菌の検出は食品衛生法に基づいてMPN値を求めた。検出したレジオネラ属菌は, 国立感染症研究所の検査マニュアルに準じたPFGE(パルスフィールド電気泳動法)で遺伝子解析を行った³⁾。

3 結果と考察

3.1 レジオネラ属菌の分離

22浴槽中6浴槽(27%)から検出され, 浴槽周辺のぬめりからは5件中2件(40%)検出され, このうち1件は浴槽水からもレジオネラ属菌が確認された(表1)。

*1 現 宮城県立循環器・呼吸器病センター

*2 現 (財)宮城県公衆衛生協会

ぬめりと浴槽水から分離した菌株（ぬめり3株、浴槽水13株）についてPFGEを行った結果（図1）、1株を除く15株が同一パターンを示した。このことは、ぬめりが浴槽汚染の一因となった可能性が示唆された。以前に実施した循環式温泉の調査⁴⁾では約40%の浴槽からレジオネラ属菌が検出されていたが、循環式に比較して低い検出率、少ない菌数（10~110cfu/100mL）ではあったが、掛け流し式温泉においても、レジオネラ属菌が検出され、レジオネラ症に感染する可能性もあることが明らかとなった。しかも掛け流し式温泉においても汚染源と考えられたぬめりの除去がレジオネラ属菌の汚染防止に有効であると思われた。

さらに、今回の調査で検出されレジオネラ属菌は *Legionella londanensis*, *L. pneumophila* の順に多く、循環式温泉では、約90%が *L. pneumophila* と分離菌種に差がみられた。これは、循環という環境が *L. pneumophila* の増殖する場として適していることが推測されたが、今後これについて検討することが重要であると思われた。

表1 レジオネラ属菌の分離状況

施設No.	浴槽水		拭き取り	
	菌数 (CFU/100ml)	種	検出	種
1	60	<i>Legionella sp.</i>		
2	<10			
3	<10			
4	<10			
5	<10			
6	<10			
7	20	<i>L.pneumophila</i> SG6 <i>Legionella sp.</i>		
8	<10			
9	10	<i>L.pneumophila</i> SG6 <i>L.londanensis</i>		
10	<10			
11	<10			
12	60	<i>L.pneumophila</i> SG1 <i>Legionella sp.</i>		
14	<10		-	
15	<10		-	
16	110	<i>Legionella sp.</i>	+	<i>Legionella sp.</i>
17	<10		+	<i>L.pneumophila</i>
18	<10		-	
19	<10			
20	<10			
21	<10			
22	<10			
23	10	<i>L.pneumophila</i> SG3 <i>Legionella sp.</i>		

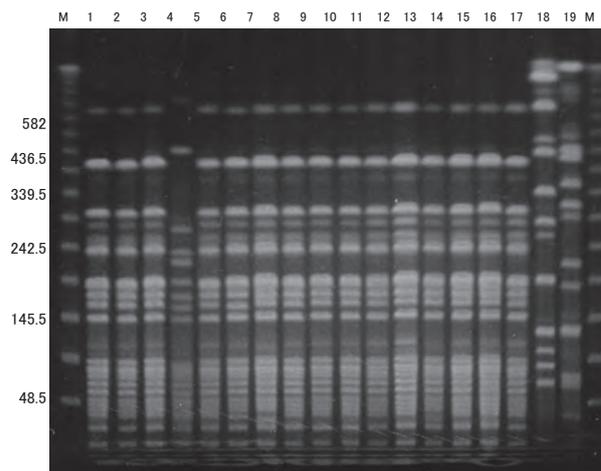


図1 PFGE解析

3.2 抗酸菌の分離

22浴槽中2浴槽（9%）から非結核性抗酸菌である *Mycobacterium scrofulaceum* および *M.avium* がそれぞれ検出された。いずれも檜の浴槽から分離され、同時にアメーバも検出された（表2）。抗酸菌はレジオネラ属菌と同様に細胞寄生性という特徴を有するためと考えられた（図3）。

近年、国内において24時間風呂から非結核性抗酸菌 *M.avium* に感染したとみられる事例も報告⁵⁾もあり、今回の成績から、県内の温泉でも注意が必要と考えられた。

3.3 アメーバ

22浴槽中8浴槽（36%）から3から110PFU/100mLのアメーバが分離された。分離されたアメーバはレジオネラ属菌の宿主となる *Hartmannella* や *Naegleria* が大半を占めていた。アメーバが検出された8浴槽の材質は、タイル2浴槽、コンクリート1、石1、檜4で、すべての檜の浴槽からはアメーバが分離された（表2）。檜の浴槽は、他の材質と比較して表面が粗く、またアメーバが定着しやすく、清掃も行き届かないためにアメーバの分離率が高くなったと推測された。

表2 抗酸菌とアメーバ分離状況

施設No.	レジオネラ属菌		宿主アメーバ		抗酸菌		浴槽の材質
	検出	菌数 (CFU/100ml)	種	菌数 (CFU/100ml)	種		
4	-	100	<i>Hartmannella</i>	0			檜
9	+	8	<i>Naegleria sp.</i> <i>Amoeba sp.</i>	0			コンクリート
10	-	50	<i>N.lovaniensis</i>	20	<i>M. scrofulaceum</i>		檜
12	+	150	<i>N.lovaniensis</i> <i>Platyamoeba</i>	0			石
15	+	4	<i>N.lovaniensis</i>	0			タイル
18	-	3	<i>Vexillifera</i>	0			タイル 天然石
21	-	50	<i>Hartmannella</i>	40	<i>M. avium</i> <i>M. scrofulaceum</i>		檜
22	+	100	<i>Amoeba sp.</i>	0			檜

3.4 その他の微生物検出状況

レジオネラ属菌、抗酸菌、アメーバ以外の微生物の検出状況を図2に示した。

浴槽水の水質基準は、大腸菌群が1個/mL未満、レ

ジオネラ属菌が検出されないことと定められている。今回、大腸菌群が基準値を超えた施設は7施設で、大腸菌は4施設から検出された。レジオネラ属菌と比較しても除菌しやすい菌であることから、衛生管理が徹底されていないことが疑われた。

また、食中毒の原因菌ともなる黄色ブドウ球菌が7施設、化膿した傷口から検出される緑膿菌が4施設から分離され、浴槽水からの感染も示唆された。このほか汚染指標として計測した一般細菌数は多いところで 10^4 CFU/mL、従属栄養細菌は 10^6 CFU/mL検出され、アメーバの餌となるこれらの細菌が増加するとレジオネラ属菌や抗酸菌が検出される傾向がみられたことから、これらの細菌を増殖させないようにすることが重要と考えられた。

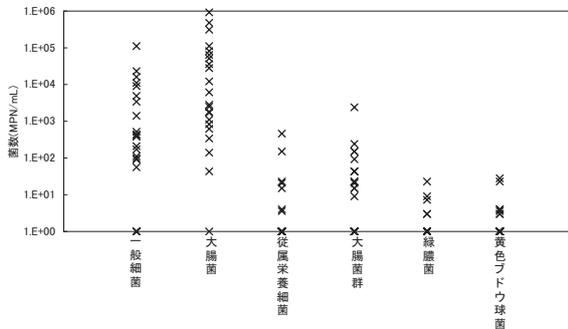


図2 微生物検出状況

4 まとめ

今回の調査で掛け流し式温泉においても様々な微生物が検出されることが確認され、浴槽周辺のぬめりが汚染の一因であることが再確認された。更に、循環式温泉と同様に感染の危険性はあると考えられるため、衛生管理を徹底して感染事故の防止に努める必要がある。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，21，186 (2000)
- 2) 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p.89 (1999)
- 3) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル p.844 (2003)
- 4) 佐々木美江，山口友美，畠山敬，齋藤紀行，白石広之：宮城県保健環境センター年報，19，62 (2001)
- 5) 鈿持 広知，本多 淳郎，馬場 智尚，松本 裕，志知 泉，江藤 尚，新井 一守：日本呼吸器学会雑誌，43，689 (2005)