

## 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2報）

### Isolation of *Legionella* Species from Hot Springs in Miyagi Prefecture

佐々木 美江 山口 友美 畠山 敬  
渡邊 節 齋藤 紀行 白石 廣行\*<sup>1</sup>

Mie SASAKI, Yumi YAMAGUTI, Takashi HATAKEYAMA  
Setsu WATANABE, Noriyuki SAITO, Hiroyuki SHIRAIISHI

キーワード：レジオネラ，アメーバ，水垢，PFGE

Key Words : *Legionella* , Amoeba , Fur , PFGE

昨年度，レジオネラ属菌が検出された施設について清掃方法や殺菌方法を指導した後に，継続調査したところ良好な結果が得られた。また，アメーバが検出された浴槽からはレジオネラ属菌が高率（71%）に検出されることが確認された。

#### 1 はじめに

レジオネラ症は，主に高齢者や免疫力の低下している易感染者がレジオネラ属菌の感染によって引き起こす日和見感染症で，高齢化社会では重要な感染症の一つである。国内の発生は，平成12年に83件，平成13年に151件確認され，宮城県内では平成12年，13年にそれぞれ3名の患者が報告されている。レジオネラ症の感染源は24時間風呂あるいは温泉・入浴施設<sup>1)</sup>または空調などであるが，近年の生活の多様化と共にこれらの設備や施設が拡大し，社会的にも本感染症の発生動向には注意が払われている。この背景のなか，平成13年3月に静岡県の複合レジャー施設で，同年6月に茨城県の入浴施設で，また平成14年1月には東京都内の公衆浴場が感染原と疑われる，レジオネラ肺炎による死者が確認されるなど，レジオネラ属菌による事件が相次いで発生し，本感染症に対する行政サイドの対策の不備が明らかとなっている。

そこで多くの温泉地が存在している宮城県では，行政と検査が一体となり温泉施設での感染防止対策を模索し，平成12年度から「温泉施設におけるレジオネラ属菌の生息調査」を実施してきた。平成12年度は，30施設101件の温泉水について調査を行い，約40%の浴槽水からレジオネラ属菌を検出すると共に，レジオネラ属菌と水垢の関連性について考察した。今年度は新たな施設を加えて，レジオネラ属菌の生息実態調査を実施した。また，レジオネラ属菌除去方法を検討事項に加え，継続調査を実施し，更に，水垢中のアメーバとレジオネラ属菌の関係について詳細に調査するため，浴槽水中のアメーバ生息調査を併せて実施したので報告する。

\* 1 現 財宮城県公衆衛生協会

#### 2 材料及び方法

##### 2.1 レジオネラ属菌生息実態調査

平成12年度（第Ⅰ期調査）にレジオネラ属菌が検出された17施設と，新たに加えた4施設の合計21施設を対象とし，6月（第Ⅱ期調査）と11月（第Ⅲ期調査）の2回にわたり実施した。各施設の貯湯タンク・注湯口・浴槽から各々温泉水を採取すると共に浴槽周辺のふきとりも行い検体とした。なお，第Ⅱ期，第Ⅲ期調査での検体数は，温泉水が113件，ふきとりが65件であった。検査項目は昨年と同様にpH，水温，一般細菌数，ECについて実施した。

##### 2.2 継続調査

第Ⅰ期，Ⅱ期調査後，保健所にレジオネラ属菌を除去するための薬剤処理，水垢（アメーバ）の除去等の施設への指導を依頼し，施設において実施後，レジオネラ属菌の検出状況を再確認した。

##### 2.3 レジオネラ属菌の検出方法

レジオネラ属菌の検出及び培養後の同定は昨年と同様に行った。ただし，分離培地はWYO培地にMWY培地（自家調整）を加えて行った。

##### 2.3 アメーバの生息調査

アメーバの生息調査は20施設45浴槽を対象に，検出方法は図1の「新版レジオネラ症防止指針」に基づき実施した。すなわち，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。アメーバ検査の検体として浴槽水は，原水あるいは50倍濃縮した1 mLを大腸菌塗抹培地に塗布して30 で培養した。培養中は毎日，顕微鏡で観察し，プラーク形成が認められた場合，アメーバ陽性とした。

2.4 菌株のDNA解析

DNA解析はパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）を国立感染研究所<sup>2)</sup>の方法に準じて行った。

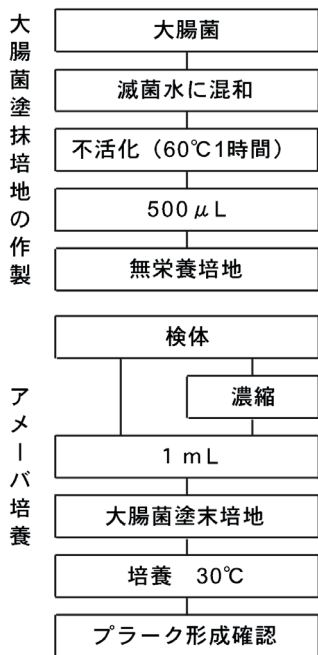


図1 アメーバの検査方法

3 結果

3.1 レジオネラ属菌検出状況

レジオネラ属菌の検出状況を新規施設，継続施設別に図2に示した。レジオネラ属菌は，全施設で見ると温泉水からは48%，ふきとりからは40%検出された。しかし，新規施設，継続施設別に結果を比較すると，継続施設の温泉水からは43%，新規施設では63%と新規施設の検出率が高くなった。一方，ふきとりでは両施設ともほぼ同じ検出率であった。

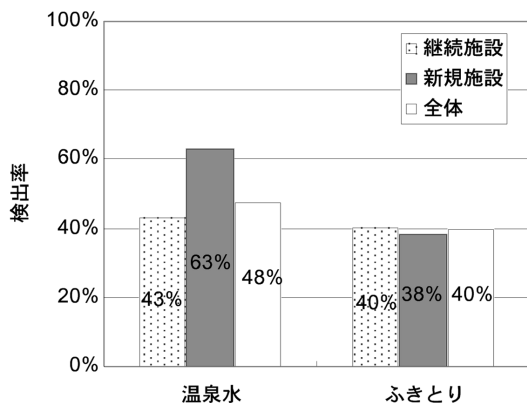


図2 レジオネラ属菌検出状況

3.2 継続調査

平成12年度の調査（第Ⅰ期調査）でレジオネラ属菌が検出された16施設について，行政指導と平行して第Ⅱ期，

Ⅲ期調査を継続して実施した。その結果，16施設のうち図3に示すようにレジオネラ属菌陽性の施設は第Ⅱ期調査で10施設（63%），第Ⅲ期調査では7施設（44%）と明らかに減少傾向が認められた。

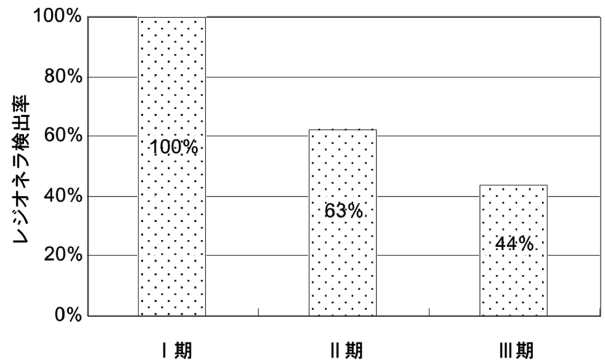


図3 継続施設のレジオネラ属菌検出率

3.3 アメーバ生息調査

今回，レジオネラ属菌の検出と同時に実施したアメーバ検査の結果，図4示すようにアメーバは45浴槽中14浴槽（31%）から検出された。更にレジオネラ属菌の検出率とアメーバの検出状況を比較すると，アメーバが検出された14浴槽中10浴槽（71%）から，アメーバが検出されなかった31浴槽中7浴槽（23%）からレジオネラ属菌が検出され，アメーバが生息する浴槽から高率にレジオネラ属菌を検出した。（図5）

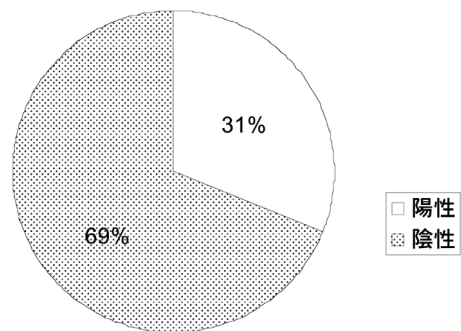


図4 浴槽中のアメーバ検出率

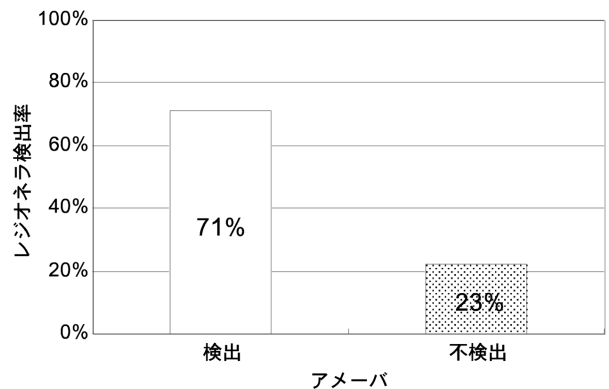


図5 レジオネラ属菌とアメーバ

### 3.4 検出菌株の分析

#### 3.4.1 血清型

検出されたレジオネラ属菌の菌種は95%が*L.pneumophila*、他に*L.bozemanii*、*L.micdadii*、*Legionella sp*であった。なお、*L.pneumophila* 血清群は、血清群 4、5 が多く検出された。(図 6)

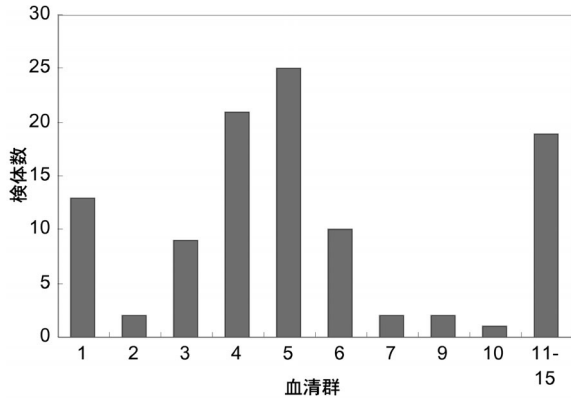


図 6 検出されたL.pneumophilaの血清群

#### 3.4.2 PFGE解析

同一源泉のA・B施設とそれぞれ源泉が異なるCとD施設から分離された*L.pneumophila* 血清群 6 の13菌株についてDNA解析を行い、その泳動パターンを図 7、8 に示した。なお、A施設においては、a、b浴槽から分離した菌株を対象とした。

A施設のa浴槽でPFGEパターンを比較すると第Ⅱ期調査で検出された1から4菌株は同一パターンを示した。第Ⅲ期調査では検出した5、6菌株間では同一であったが、前述の1～4菌株とはPFGEパターンは異なっていた。

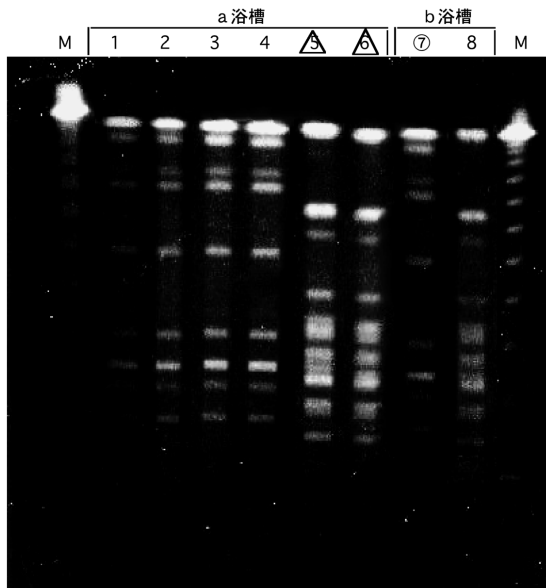


図 7 A施設で検出された菌株のPFGEパターン

：菌株 7 は第Ⅰ期調査で検出  
 ：菌株 4、8 は第Ⅱ期調査で検出  
 ：菌株 5、6 は第Ⅲ期調査で検出

次にb浴槽からは第Ⅰ期、Ⅱ期調査で検出された7、8菌株間では異なっていたが、7菌株はa浴槽の第Ⅱ期調査で検出された1～4菌株と一致していた。

次に、B施設の同一浴槽から異なる調査時期に検出された1、2、3菌株は、同一パターンを示した。なお、源泉の異なるC、D施設から検出された菌株とは、異なることも確認された。

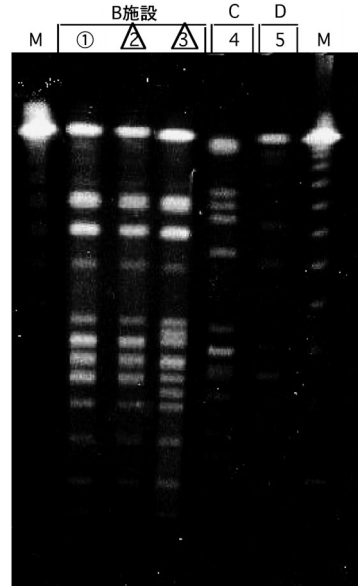


図 8 B、C、D施設で検出された菌株のPFGEパターン

：菌株 1 は第Ⅰ期調査で検出  
 ：菌株 4、5 は第Ⅱ期調査で検出  
 ：菌株 2、3 は第Ⅲ期調査で検出

## 4 考 察

近年、公衆浴場・温泉などを利用後、レジオネラ症を発症する事例報告が報告されている。平成14年7月、宮崎県日向市で、温泉からの感染が疑われる患者242名(2名死亡)の集団感染も報道されており、温泉施設での感染事故防止の方策は急務である。そこで、行政と検査とが一体となって感染防止策を模索するため、宮城県では平成12年度からレジオネラ属菌調査事業を実施している。その結果、調査した半数近い温泉水からレジオネラ属菌が検出され、他県と同様に汚染していることが明らかになった<sup>3)</sup>。今年度の新たな調査施設は4施設とし、昨年レジオネラ属菌が検出された17施設については、継続して生息実態調査を行うと共に薬剤処理、水垢(アメーバ)の除去等で汚染を防止することが可能か検討した。生息実態調査では、昨年と同様に温泉水48%、ふきとり40%からレジオネラ属菌が検出された。しかし、昨年レジオネラ属菌が検出された16施設に対して協力を依頼し、薬剤処理や水垢(アメーバ)の除去、電動ブラシによる物理的な清掃等を指導し、その後、6月(第Ⅱ期調査)と11月(第Ⅲ期調査)の2度にわたり継続して検査を行ったところ、第Ⅱ期調査は63%、第Ⅲ期調査では44%とレジオネラ属菌の検出率が明らかに減少する傾向が見られ

た。これは電動ブラシなどによる清掃や換水ろ過装置を薬剤によって処理し、水垢（ぬめり）等を排除したためと考えられた。

また、今回の調査でレジオネラ属菌の検出と同時にアメーバの検出を試みた結果、30%の浴槽からアメーバが検出され、その浴槽の70%からレジオネラ属菌が検出された。レジオネラ属菌は浴槽水中では発育せず、特定のアメーバ内で増殖すること<sup>5)</sup>が知られている。昨年 of 我々の調査でも水垢（アメーバ）から高率にレジオネラ属菌を検出すると共に<sup>4)</sup>、水垢にはアメーバが関与していることを明らかにした。これらの調査成績からレジオネラ属菌の増殖を防ぐには水垢の清掃が第一義的な対策と考えられた。そこで浴槽の化学的殺菌に加え、電動ブラシの使用あるいは配管の清掃電動ブラシの使用あるいは配管の清掃を実施することが、レジオネラ属菌の汚染防止に有効であると推測された。

次にPFGE解析の結果、同一浴槽から異なる時期に検出された*L.pneumophilla*の同一血清群の菌株は、同一パターンを示していた。このことは、浴槽の清掃等が不完全で同一菌株が生存していたと推測され、汚染原因の追求にPFGE解析は有用であると考えられた。すなわち、同一施設の異なる浴槽から同じPFGEパターンが検出された場合は、貯湯タンクまたは配管など浴槽に温泉水が注水される前の共通する部分を汚染と捉え、これに対して、検査時期ごとに異なるPFGEパターンである場合は、新たなレジオネラ属菌が混入していると推定し、対策を講じることが可能であろう。今後、更に行政指導と協力して調査を進めたいと思う。

## 5 ま と め

- (1) 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。
- (2) 物理的な清掃と薬剤処理を併用することはレジオネラ属菌の除去に有用と考えられた。
- (3) 同一血清型であっても様々なPFGEパターンが得られることから、レジオネラ属菌においてもPFGE解析は有用であった。

## 6 謝 辞

本調査を行う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) 峯下昌道他：循環式浴槽が感染源と考えられたレジオネラ肺炎の1例，感染症誌，73臨増，156（1999）
- 2) 前川潤子：レジオネラのDNA検査法，平成10年度希少感染症診断技術研修会資料，13～14（1998）
- 3) 五十嵐美佳子他：新潟県におけるレジオネラ属菌の生息実態に関する研究，新潟県保健環境科学年報15，73～77（2000）
- 4) 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）
- 5) 小畑勝則：レジオネラ対策におけるアメーバの重要性，防菌防塵誌Vol 30，No.5，217～223（2002）