

## 生活用水からのレジオネラ属菌の検出状況 (平成11~12年度)

矢野 一好\*, 榎田 隆一\*, 保坂 三継\*, 眞木 俊夫\*

### Distribution of *Legionella* Species in Domestic Water (1999-2000)

Kazuyoshi YANO\*, Takaichi ENOKIDA\*, Mitsugu HOSAKA\* and Toshio MAKI\*

**Keywords:** 生活用水 domestic water, レジオネラ属菌 *Legionella* species, 冷却塔 cooling tower, 給湯 hot-water supply system, 温泉 hot spring

### 緒 言

著者らは、生活用水におけるレジオネラ属菌の生息状況を1987年以降継続して調査している<sup>1)</sup>。これまでの調査結果から、ヒトの生活環境を取り巻く様々な生活用水のうち、循環式浴槽水が最もレジオネラ汚染されていることを報告した<sup>1)</sup>。あわせて、その対策として当面は塩素処理が有効であることを提案し、厚生省が平成12年12月15日付で発表した「公衆浴場における衛生管理要領」に掲載されている塩素処理条件の設定及び水質基準としてのレジオネラ属菌の菌数設定に寄与した。また、厚生労働省では主として冷却塔水などの環境水<sup>2)</sup>を、旅館業における環境衛生の保持増進を指導する財団法人全国環境衛生営業指導センターでは浴槽水<sup>3)</sup>を対象として、レジオネラに関する水質基準値を提案し菌数を規定している。

このような背景をもとに、本報は、平成11年度と12年度の調査結果をまとめると共に、2種類の選択培地を用いて検出感度の比較検討を行った。また、試験結果の記載方法についての新たな提案を行った。

### 材料と方法

#### 1. 試料水

冷却塔水は、都内に建築されている延べ床面積3,000 m<sup>2</sup>以上のビルを対象にして採水した。採水した件数は、平成11年度204件及び12年度208件合計412件である。浴槽水は公共施設の循環式浴槽水を中心に平成11年度178件及び12年度260件合計438件である。

給湯水は、公共施設に設置されている循環式給湯設備を対象にして、平成11年度76件及び12年度82件を試験に供した。

その他の試料は、温泉浴槽水、雑用水、加湿水、水泳プール水及び冷却塔のスケールなど72件である。

#### 2. レジオネラ試験

採取した試料水を上水試験方法記載のフィルター法<sup>4)</sup>に従って試験した。すなわち、一定量の試料水を孔径0.22 µm

の滅菌メンブランフィルターでろ過し、フィルター上の捕捉物を滅菌精製水5 mLで洗い出した後、0.2 MのHCl-KCl溶液 (pH2.2) 5 mLを添加して3分間酸処理した。この処理液をレジオネラ選択培地に塗抹し36で1週間培養した<sup>5)</sup>。結果判定は、青みを帯びた灰白色の湿潤集落を計数した後、ラテックス凝集反応 (OXOID社 *Legionella Latex Test Kit*) 及び免疫血清 (デンカ生研, レジオネラ免疫血清「生研」) を用いた凝集反応を各集落について行い、陽性となったものをレジオネラとした。

#### 3. レジオネラ用選択培地

メーカーの異なる2種類の選択培地を使用した。試料水の前処理は、同一試料水を同一処理条件で同時に行い、培地に塗布する濃縮液量及び培養条件等もすべて同じ条件とした。

### 結果と考察

#### 1. 生活用水のレジオネラ属菌調査結果

調査には、冷却塔水、浴槽水、給湯水及び温泉水など合計1,080件を用いた。レジオネラは、386件から検出された。複数の血清群が検出された試料については検出コロニー数の多い血清群で集計した。

##### 1) 冷却塔水

冷却塔水からの検出状況は表1にまとめた。平成11年度は、204件について検査し68件 (33.3%) から、12年度は、208件について検査し112件 (53.8%) から本菌が検出された。

検出率、最大検出菌数ともに平成12年度の数値が大きかった。この傾向を既報<sup>1)</sup>と比較検討してみると、定点調査ではないので調査年次ごとに対象としたビルは異なるが、調査を開始した昭和62年から平成8年度は検出率50~60%、最大菌数50,000 CFU/100 mLレベルであったが、平成9年度以降は検出率30%レベル、最大菌数20,000 CFU/100 mLレベルで安定していた。しかし、平成12年度になって検出率53.8%、最大菌数240,000 CFU/100 mLと急激な上昇傾向

\* 東京都立衛生研究所環境保健部水質研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

\* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

表 1. 冷却塔水からのレジオネラ検出状況

年度	試料数	検出件数 (%)	検出菌数 CFU/100mL
11	204	68 (33.3)	1~22,000
12	208	112 (53.8)	4~240,000

を示した。現行の指針値<sup>2)</sup>(100 CFU/100 mL未満)に照らすと、平成11年度は調査に供した試料水のうち26.5%が、12年度は43.8%が指針値を超えていた。この背景には、不十分な冷却塔の維持管理、もしくは抗レジオネラ剤耐性菌の出現の可能性等が考えられる。更なる維持管理の徹底が望まれる。

横浜市衛生研究所が3年間にわたって同一冷却塔を調査定点として菌数の変動と抗レジオネラ剤の効果を調査した事例<sup>6)</sup>によると、調査対象とした冷却塔の50%は、年ごとに菌数の減少が認められるが、逆に、年ごとに増加傾向が認められたり、検出に転じた事例が46%にのぼることが報告されている。また、抗レジオネラ剤の使用にあたっては毎月2回以上の清掃と殺菌剤の併用が望ましいことも指摘されている。

著者らのデータから検出菌数の分布を集計してみると、表3に示したごとく、冷却塔からの検出菌数は、平成11年度に比較して12年度はわずかではあるが菌数の増加傾向がみられる。この点に関しては今後の推移を注意深く観察する必要があると考える。

## 2) 浴槽水

浴槽水からの検出状況を表2にまとめた。調査年次によって調査件数と調査対象施設は異なるが、検出率は40%レベルで安定していた。平成8年度に24時間風呂のレジオネラ汚染が社会問題となった時点での検出率が80%レベルであったことから考えると循環ろ過装置の技術改良の成果が伺える。最大検出菌数は平成12年度で330万CFU/100 mLを記録したが、表3に集計した検出菌数の分布をみると、この菌数は例外的なもので、12年度は11年度に比較して検出菌数の減少傾向が認められる。この傾向は、厚生省が指針値<sup>2)</sup>として発表した「10 CFU/100 mL未満」を目標とし

表 2. 浴槽水からのレジオネラ検出状況

年度	試料数	検出件数 (%)	検出菌数 CFU/100mL
11	178	72 (40.4)	2~1,500,000
12	260	108 (41.5)	2~3,300,000

た維持管理技術の向上によるものと推測する。しかし、検出菌数を指針値(10 CFU/100 mL未満)に照らしてみると、平成11年度は63件、35.4%が、平成12年度は84件、32.3%が指針値を超過していた。浴槽水についても更なる維持管理技術の向上が望まれる。

今回実施した実態調査の対象は、個人使用の循環式浴槽水(24時間風呂)が数件で、大部分が老人ホームなど公共施設に設置されている循環式浴槽水である。平成10年には、目黒区の老人ホーム入所者が施設内の循環式浴槽水に生息していたレジオネラによる肺炎で死亡、平成12年度には、静岡県掛川市の温泉施設(ヤマハリゾート運営)の利用者が施設の浴槽水に生息していたレジオネラが原因と推定される肺炎をおこし1名が死亡、さらには、茨城県石岡市で市営施設の循環式浴槽水が原因と推定される肺炎患者の集団発生があり死者が出た事例がある<sup>7)</sup>。後者の2事例は施設管理者が「業務上過失致死傷」に問われた事例である。公共施設等、不特定多数の人が共同利用する施設に設置されている浴槽は、個人家庭の24時間風呂と異なり、個人の意向に関係なく施設利用者が使用せざるを得ない状況にある。このような観点からも公共施設における浴槽の管理は重要であり、施設管理者が社会的責任を問われることになる。

## 3) 給湯水

循環式給湯水からのレジオネラ検出状況は、調査当初(1993年)は8%レベルで推移していた<sup>1)</sup>。循環式給湯水は、給湯温度が末端で55℃を下回るような施設及び循環していない閉鎖系の施設などではレジオネラが検出されており、循環効率を良くし給湯温度を末端で60℃以上に制御するよう行政指導しているが、今回の調査でも5~6%の検出率が認められた(表4)。

各々の試料水については、施設における循環形態、末端

表 3. 冷却塔水及び浴槽水からの検出菌数の分布

試料	2~*	10~	100~	1,000~	10,000~	100,000~	1,000,000	合計
	9	99	999	9,999	99,999	999,999	~	
冷却塔水 (11年度)	0 (20.6%)	14 (42.6)	29 (30.9)	21 (5.9)	4	0	0	68 (100)
冷却塔水 (12年度)	2 (1.8)	19 (17.0)	41 (36.6)	46 (41.1)	3 (2.7)	1 (0.9)	0	112 (100)
浴槽水 (11年度)	9 (12.5)	12 (16.7)	22 (30.6)	17 (23.6)	9 (12.5)	2 (2.8)	1 (1.4)	72 (100)
浴槽水 (12年度)	24 (22.2)	31 (28.7)	27 (25.0)	18 (16.7)	7 (6.5)	0	1 (0.9)	108 (100)

\* : 菌数の範囲 (単位: CFU/100 mL)

表4．給湯水からのレジオネラ検出状況

年度	試料数	検出件数 (%)	検出菌数 CFU/100mL
11	76	4 (5.3)	1~190
12	82	5 (6.1)	2~520

湯温及び使用年数などの詳細情報がないため、推測の域を脱しないが、設置年数が古く、配管系統が複雑なため、配管内にスライムやスケールの付着がありこれらによってレジオネラが保護されている可能性がある。

#### 4) 温泉水

平成12年度は、温泉利用施設におけるレジオネラ症<sup>7)</sup>が社会問題となり、温泉水を循環再利用している温泉旅館業などで、レジオネラ制御に関する関心が高揚した。著者らは、1995年から少数事例ではあるが温泉水の調査を実施している<sup>1)</sup>。その結果、湯温が高い源泉からの本菌検出例はないが、循環再利用していると思われる温泉水からは30~70%レベルで本菌が検出されている。今回の調査でも調査事例が少数ではあるが50~60%と高率に検出されている(表5)。

温泉水を対象にした同様の調査報告からも温泉水が高率にレジオネラ汚染されていることがわかる<sup>8)</sup>。藪内らは、温泉水135件を調査して検出率が62.2%であったと報告している<sup>9)</sup>。また、甘露寺でも106件を調査して検出率が46%であったことを報告している<sup>10)</sup>。さらには、財団法人全国環境衛生営業指導センターがまとめた事例集<sup>3)</sup>によると全国の旅館を対象にした温泉水からの本菌検出率は、男湯67.9%(19/28件)、女湯46.2%(12/26件)、露天風呂35.3%(6/17件)にのぼる<sup>3)</sup>。

一方、レジオネラが生息していた温泉水が原因と思われる患者の発生状況を文献調査すると、我が国では、13事例の感染事例が報告されており死亡事例も3例ある<sup>3)</sup>。また、レジオネラ症の発生例数が多いヨーロッパ全域の集計によると、1999年1年間に2,136名の患者発生があり温泉が関与していた大流行事例も2事例あったと報告されている<sup>11)</sup>。

#### 5) その他の生活用水

調査例数はきわめて少ないが、雑用水、加湿器の水、水泳プール水及び冷却塔の配管内に付着したスケールを対象にした調査結果を表6にまとめた。本菌が検出された事例は、加湿器の水及びスケールのみであり、雑用水及び水泳

表5．温泉水からのレジオネラ検出状況

年度	試料数	検出件数 (%)	検出菌数 CFU/100mL
11	13	8 (61.5)	20~48,000
12	8	4 (50.0)	10~520

表6．加湿水等\*からのレジオネラ検出状況

年度	試料数	検出件数 (%)	検出菌数 CFU/100mL
11	25	3 (12.0)	6~1,900
12	26	2 (7.7)	2

\*：雑用水、加湿器、プール水、スケールなど

表7．分離された*L.pneumophila*の血清型(平成12年度)

試料水	1群	2群	3群	4群	5群	6群	7-14群
冷却塔水	62			9		13	27
浴槽水	23	2	18	5	28	16	16
給湯水	4						
温泉水			1				3

プール水からの検出はなかった。

#### 2. 分離された*L.pneumophila*の血清型

著者らは、生活用水から検出されるレジオネラの菌種はニューモフィラがほとんどであるが、試料水の種類によって高頻度に検出される血清型が異なることを報告してきた<sup>1)</sup>。本報では平成12年度の結果を要約し表7に示した。試料水の種類と検出頻度の高い血清型は既報の傾向と同様であった。すなわち、冷却塔水からは1群が圧倒的に多く検出総数の55.9%(62/111)を占めた。温泉水を含む浴槽水からは1群の検出率がやや多くなった傾向はあるが、5群、3群及び6群が多い傾向にあった。調査を継続することによって、このような傾向がみられる原因やヒトに対する健康影響との関わりについて究明する必要があると考える。

冷却塔水からは極めて希ではあるが*L. pneumophila*以外に*L. micdadei*や*L. bozemanii*が検出される事例がある。疾病との関連性や汚染状況など、今後の調査によって詳細を把握する必要があると考える。

#### 3. 選択培地の種類と検出コロニー数の相関

レジオネラの培養には、様々な種類の選択培地が開発され市販されている。その性能についても一部で検討され結果が公表されている<sup>2)</sup>。著者らは、2種類の選択培地(本報ではA及びBと記載)を用いて、実際の試料水を同一条件で培養することによって出現するコロニー数を指標に、選択培地の実用性について比較検討した。

用いた試料水は、冷却塔水及び浴槽水など167試料である。結果は、2種類の培地についてそれぞれ2枚づつのシャーレを使用し、形成されたコロニー数の平均値を基に相関図を作成し回帰直線と相関係数を算出した(図1)。

統計学的には、きわめて良好な相関関係( $r=0.92$ ,  $p<0.0001$ )が認められた。すなわち、どちらの選択培地を使用しても結果に変動が少ないことが判明した。

しかし、例外的ではあるが結果を詳細にみると、A培地でコロニー数が1であったのに対して、B培地では410コロニーを計測した事例があった。この原因について不明であ

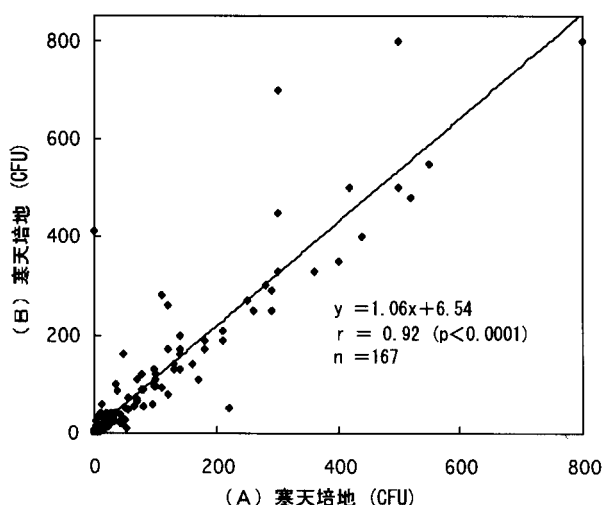


図1. レジオネラ選択培地と出現コロニー数の相関

るが、B培地で出現したコロニーをA培地に培養してもコロニー形成が認められない現象が確認されている。

また、実用面での利便性であるが、真菌の混入が多い試料水の場合、A培地では抑えきれないが、B培地では真菌の抑制力が優れている現象が複数事例で確認された。

これらの事象からも更なる選択培地の開発改良の必要性が示唆された。

#### 4. 試験結果の記載方法についての提案

レジオネラの標準的な試験方法については、厚生省監修「新版レジオネラ症防止指針」<sup>2)</sup>、日本水道協会「上水試験方法」<sup>4)</sup>及び日本薬学会編「衛生試験法」<sup>12)</sup>などに記載されている。しかし、いずれの方法においても結果の記載様式については統一されていないため、検査機関によって記載方法に違いがあり誤解を招くおそれがある。すなわち、「不検出」と記載された結果書を受け取った依頼者は、提出した試料水の中にレジオネラが全く混入していなかったと解釈するおそれがある。また、「10 CFU/100 mL未満」と記載された場合は1～9 CFUの範囲で菌の混入があると解釈する場合がある。

一方、試験精度から考察すると、現行の指針値である「10 CFU/100 mL未満」を評価するための試験水量に差異がある。たとえば、出現したコロニー1個を原水100 mLあたりに換算した場合「10 CFU/100 mL」に相当する場合と、これ以下(1～9 CFU/100 mL)に相当する場合がある。当然のことながら、後者の方が試験精度は良くなる。前者の事例では、検出結果を指針値で評価する際、バラツキが大きくなることは容易に推測できる。

これらの背景を基に著者らは、試験水量と結果の記載方法について新たな提案をする。すなわち、シャーレに出現した1コロニーが「1 CFU/100 mL」に相当する試験水量によって検査を実施し、結果の記載は曖昧な解釈をもたらす「不検出」という記載よりも、実際のコロニー数で記載すれば、前述のような検査結果に対する誤解は緩和されると思われる。

したがって、基準値の策定にあたっては、「10 CFU/100 mL未満」とするより、「試料水100 mLを試験してコロニー数が10未満であること」と表記するよう提案する。

## 結 論

平成11～12年度に水質研究科に搬入された水試料1,080件について、レジオネラ属菌検査を行い以下の結果を得た。

1) 冷却塔水は、平成11年度204件及び12年度208件合計412件について試験し、平成11年度68件及び12年度112件からレジオネラ属菌を検出した。検出菌数を現行の厚生労働省指針(目標値:100 CFU/100 mL未満)に照らすと、平成11年度は26.5%が、12年度は43.8%が指針値を超えていた。

2) 浴槽水は、平成11年度178件及び12年度260件合計438件について試験し、平成11年度72件及び12年度108件からレジオネラ属菌を検出した。検出菌数を現行の厚生労働省指針(目標値:10 CFU/100 mL未満)に照らすと、平成11年度は35.4%が、12年度は32.3%が指針値を超えていた。

3) 給湯水は、平成11年度76件及び12年度82件合計158件について試験し、平成11年度4件及び12年度5件からレジオネラ属菌を検出した。検出率は各々5.3%と6.1%であり、調査を開始した平成5年以降大きな変動はなかった。

4) 温泉水は、合計21件の調査であったが、検出率は57%を超えていた。温泉施設は、レジオネラ症の原因施設の一つとしてとらえられており、今後とも継続して精力的に調査する必要がある。

**謝辞** 本調査に供した試料水の大部分は、都保健所及び食品環境指導センターの環境衛生監視員によって採水されたものであることを記して、関係各位に深甚なる謝意を表する。

## 文 献

- 1) 保坂三継, 他: 用水と廃水, 42, 677-683, 2000.
- 2) 厚生省生活衛生局企画課監修: 新版レジオネラ症防止指針, 財団法人ビル管理教育センター, 平成11年
- 3) 改訂・レジオネラ属菌防除指針: 財団法人全国環境衛生営業指導センター, 平成11年
- 4) 日本水道協会: 上水試験方法, 520-523, 1993, 日本水道協会, 東京.
- 5) 矢野一好, 榎田隆一, 保坂三継, 眞木俊夫: 東京衛研年報, 51, 243-247, 2000.
- 6) 荒井佳子: 建築物環境衛生管理全国大会要旨集, 58, 2000.
- 7) 杉山寛治, 他: 平成12年度静岡県環境衛生科学研究所業務研究発表会抄録集, 3, 2000.
- 8) 宮本 幹, 他: 環境感染, 15, 127-132, 2000.
- 9) 藪内英子, 他: 感染症学雑誌, 68, 549-551, 1993.
- 10) 甘露寺泰雄, 他: 温泉科学, 49, 134, 1999.
- 11) Infectious Diseases Weekly Report Japan: 2, 46, 2000.
- 12) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 2000, 97-99, 2000.