

都市環境水におけるレジオネラ属菌の 生息実態と共存生物調査 (平成13年度)

勝田 千恵子*, 保坂 三継*, 榎田 隆一*,
矢野 一好**, 眞木 俊夫*

Distribution of *Legionella* Species in Urban Water Environments with Reference to Their Coexisting Organisms (2001-2002)

Chieko KATSUTA*, Mitsugu HOSAKA*, Takaichi ENOKIDA*,
Kazuyoshi YANO** and Toshio MAKI*

Keywords: 都市環境水 urban water environments, レジオネラ属菌 *Legionella* species, 冷却塔 cooling tower, 給湯 hot-water supply system, 温泉 hot spring, アメーバ類 amoebae

緒言

近年, 高齢化社会に向けた老人ホームや手軽に温泉気分が味わえる健康ランド等の大型浴場施設が増加している。それに伴い, 循環式浴槽水のレジオネラ属菌(以下, レジオネラという)に関わる事故も近年頻発している。また, ビルの冷却塔のレジオネラ汚染も多く, 都市環境における水の中にはレジオネラの生息し得る条件の整った水が多く存在することが明らかになりつつある。

著者らは, 昭和62年度以降, 生活用水におけるレジオネラの生息状況の調査を継続して行っている¹⁾²⁾。これまでの調査結果から, 都市環境水のうち, 循環式浴槽水が最もレジオネラに汚染されていることを報告した¹⁾。今回はレジオネラについての継続調査に加え, レジオネラの宿主となるものがあることが知られているアメーバ類並びにその他の共存生物に関する生息実態調査も行ったので併せて報告する。

材料と方法

1. 試料水

冷却塔水327件, 給湯水(公共施設に設置されている循環式給湯設備)112件, 浴槽水(公共施設の循環式浴槽水等)34件, 消防用水23件, 温泉浴槽水12件, 修景用水6件, 加湿水1件及び他29件, 計544件を試験に供した。

2. レジオネラ試験方法

前報²⁾に従った。レジオネラの選択培地にはWY0 寒天培地(栄研化学)とGVPC 寒天培地(日研生物医学研究所)を用いた。

3. アメーバ類の検出方法

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」³⁾及び遠藤らの方法⁴⁾に従った。その概略は以下の通り

である。

無栄養寒天培地に加熱処理した大腸菌を塗布し乾燥させた後, 100倍濃縮した試料水1mLを接種した。寒天平板上の水分が寒天に吸収された後, 培地の乾燥を防いだ状態で25~30℃で2週間程度まで培養した。その間, 倒立型位相差顕微鏡(OLYMPUS製 CK30)で毎日観察し, アメーバの増殖の有無を確認した。

4. 生物試験方法

試料水を遠心分離により20倍に濃縮し, その一定量を界線付きスライドグラスに採り, カバーグラスをかけて位相差装置付き生物顕微鏡(Nikon OPTIPHOT)で検鏡し, 各生物を分類群ごとに同定及び計数した。

5. 一般細菌および大腸菌群

矢野ほか(1999)⁵⁾に従った。

結果と考察

1. 都市環境水のレジオネラ属菌調査結果

平成13年度に調査した冷却塔水, 給湯水, 浴槽水及び温泉水など合計544件のうち, レジオネラは386件から検出された。13年度のレジオネラ検出状況を表1に, レジオネラの検出菌数の分布を表2に示した。

1) 冷却塔水

冷却塔水では327件中200件(検出率 61.2%)からレジオネラが検出された。最大検出菌数は 280,000 CFU/100 mLであった。(表1)

検出率と最大検出菌数を既報¹⁾²⁾と比較すると, 調査年次ごとに対象は異なるが, 調査を開始した昭和62年度から平

表1. 13年度におけるレジオネラ検出状況

* 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

** 東京都立衛生研究所多摩支所微生物研究科

表1. 13年度におけるレジオネラ検出状況

	試料数	検出件数	検出割合 (%)	最大検出菌数 (CFU/100mL)
冷却塔水	327	200	61.2	280,000
浴槽水	34*	11	36.7	92,000
給湯水	112	6	5.4	250
温泉水	12	8	66.7	2,400
消防用水	23	5	21.7	4,100
修景水・加湿水ほか	36	1	2.8	60
計	544	231	42.5	

* うち検査不能4件

成8年度は検出率50～60%，最大菌数800,000 CFU/100 mL レベルと検出率，検出菌数とも高かった．その後，平成9年度以降は検出率30%前後，最大菌数20,000 CFU/100 mL レベルで推移していた．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と検出率，最大検出菌数とも大きくなり，13年度は検出率（61.2%），最大菌数（280,000 CFU/100 mL）とも引き続き上昇傾向を示す結果となった．直接エアロゾルを吸引することが少ない施設として冷却塔を扱った場合，現行の指針値³⁾（100 CFU/100 mL未満）に照らすと，13年度は調査に供した試料水のうち40.0%が指針値を超えていた．一因として，13年度はこれまで調査されてこなかった施設や，維持管理が不十分だった施設の検体がより多かったことがあげられる．今後も，これまで未調査だった施設の調査を継続することで，より実際の汚染状況が明らかになるとと思われる．

2) 浴槽水

浴槽水では34件中11件（検出率36.7%）からレジオネラが検出された．最大検出菌数は92,000CFU/100 mLであった（表1）．浴槽水はヒトが直接エアロゾルを吸引する可能性が高い施設であり，厚生省が公衆浴場の水質基準⁴⁾として示している「10 CFU/100 mL未満」を超過したものは8件（26.7%）であった．調査年次によって調査件数と調査対象施設は異なるが，ここ数年は検出率はわずかながら減少傾向を示し，今年度はさらなる減少が見受けられることから，浴槽水に対する施設の維持管理が浸透しているものと推測される．

しかし，残念なことに13年度，東京都板橋区の公衆浴場（銭湯）でレジオネラ肺炎による死亡事故が発生した．本事件の場合，集団感染ではないが高齢者が「薬湯」に入浴

中に倒れ，浴槽水を誤嚥したことによるものだった．これまで健康ランドや老人ホーム，温泉施設での感染及び死亡事例が多かったが，公衆浴場（銭湯）での死亡事故は全国でも初めてであった．また，今回の事例では事故時の値に極めて近いものとしてレジオネラの菌数の測定値が報告されており，84 CFU/100mL という比較的少量の菌数での死亡事故だった⁵⁾．このことから，特に高齢者等の免疫力の低下した人では，レジオネラが高濃度に繁殖し得る環境からの暴露をなるべく避けるような注意が必要であると言える．また，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の管理は感染防止の上で最も重要であり，施設管理者の社会的責任は極めて重いことを十分自覚する必要がある．

3) 給湯水

循環式給湯水では112件中6件（検出率5.4%）から本菌が検出され，最大検出菌数は250 CFU/100 mLであった（表1）．ここ数年は検出率5～6%で推移しており¹⁾²⁾，13年度も同様だった．今回最大菌数を検出した検体の末端での水温は47.0 であり，行政指導による末端温度（60 ）を下回っていた⁸⁾．また，レジオネラの検出された施設はほとんどが公共福祉施設であった．これら施設からの検出原因として，施設の老朽化に伴う配管内のスライム及びスケールの付着が考えられる．循環式給湯水は給湯の末端温度が55 を下回るような場合にはレジオネラが検出される例が多く，循環効率を良くし給湯の末端温度を60 以上に制御することでレジオネラの生息を抑制する必要がある．

4) 温泉水

温泉水では12件中8件（検出率66.7%）から本菌が検出された．最大検出菌数は2,400 CFU/100 mLであった（表1）．著者らは平成7年度から少数事例ではあるが温泉の浴槽水の調査を実施している¹⁾²⁾．その結果，各年度ごとに30～70%の温泉浴槽水からレジオネラが検出されている．今回の調査でも調査事例が少数ではあるが2/3の温泉浴槽水からレジオネラが検出されている．この原因は温泉浴槽水を循環再利用している施設が多いためと思われる．

5) 消防用水

13年度は新たにビルの防災施設である消防用水におけるレジオネラの調査を行った．消防用水23件中5件（検出率21.7%）からレジオネラが検出された．そのうちの3件は同

表2. 13年度におけるレジオネラ検出菌数の分布

	件数	不検出		検出菌数範囲 (n/100mL)											
			%	2 n < 10	%	10 ¹ n < 10 ²	%	10 ² n < 10 ³	%	10 ³ n < 10 ⁴	%	10 ⁴ n < 10 ⁵	%	10 ⁵ n	%
冷却塔水	327	127	³ 38.8			69	21.1	60	18.3	51	15.6	18	5.5	2	0.6
浴槽水	34 (4) ¹⁾	19	²⁾ 55.9			3	8.8	4	11.8	1	2.9	2	5.9		
給湯水	112	106	²⁾ 94.6			4	3.6	1	0.9	1	0.9				
温泉水	12	4	³⁾ 33.3					4	33.3	2	16.7	2	16.7		
消防用水	23	18	³⁾ 78.3					3	13.0			2	8.7		
修景水・加湿水ほか	36	35	³⁾ 97.2					1	2.8						
計	544	309	57.5	0	0	76	14.1	73	13.5	55	10.2	24	4.4	2	0.4

*1: うち検査不能であった件数

*2: < 2/100mL

*3: <10/100mL

一施設の消防用水であり、本年度の消防用水における最大菌数 4,100 CFU/100mL から上位3位までが同一施設であった。

消防用水とはビル等建設の際に消防法で定められている消火設備の一つである⁹⁾。建物の規模によりその保有水量が定められているが、特に水質の基準はなく、利用される水は雨水や上水等幅広い。また消防用水槽の水替えを促すために、庭への散水等、消火以外の用途に用いる場合もあり、直接人体に暴露される可能性もある。こうした点を考慮すると、ビル管理者に消防用水の定期的な水質検査などレジオネラの問題を考慮した管理を指導していく必要があると考える。

6) その他の都市環境水

その他の都市環境水として、修景水14件、加湿水1件、ウォータークーラー等20件を対象とし調査を行った。そのうち本菌が検出されたのは、修景水1件 (60 CFU/100mL) のみであった。

2. レジオネラとアメーバと共存生物実態調査

平成13年度に本研究室に搬入された試料水のうち、冷却塔水27件、浴槽水7件、給湯水8件、消防用水21件、修景水2件及び加湿水1件の計66件についてアメーバ及び共存生物の実態調査を行った。

表3. レジオネラ属菌とアメーバ類の検出状況

		レジオネラ属菌		
		検出	不検出	計
アメーバ類	検出	26 (74.3)	9 (25.7)	35 (100)
	不検出	4 (12.9)	27 (87.1)	31 (100)

上段： 件数
 レジオネラが検出あるいは不検出であった試料数
 下段： $\frac{\text{アメーバ類が検出あるいは不検出であった試料数}}{\text{レジオネラが検出あるいは不検出であった試料数}} \times 100(\%)$

1) アメーバの生息実態

アメーバにはレジオネラの宿主となるものがあり、レジオネラがアメーバに取り込まれるとその食胞内で増殖し、最終的には宿主を破壊し、大量のレジオネラが水中に放出される。冷却塔水や家庭用循環式浴槽水の調査でレジオネラの検出がアメーバの存在と関連しているとの報告もなされている³⁾。本調査においても、アメーバ類検出群 35件中のレジオネラ検出数は26件 (検出率74.3%) と高い検出率であったが、アメーバ類不検出群31件中のレジオネラ検出数は4件 (12.9%) と少なかった。この結果は八木田らによる家庭用循環式浴槽水での調査結果¹⁰⁾とよく一致しており、アメーバ類の存在がレジオネラを増殖を支持している可能性を示すものと思われる (表3)。また、試料水の種類についてみると、冷却塔水におけるアメーバの生息率が大きく、27件中26件から検出された。

多くの設備ではレジオネラ対策として抗レジオネラ剤や塩素消毒剤の投与等が行われているようであるが、実際には多くの試料水からレジオネラが検出されている。その理由としてアメーバ等の生物が生息できる環境、すなわちバイオフィームのような付着物が存在することにより、レジオネラ及びレジオネラの繁殖を助ける生物群集が薬剤から守られてしまうためと考えられる。したがって、化学的洗浄のみならず物理的洗浄の徹底もレジオネラの繁殖を防止する上で重要である。

また、環境水中に生息する自由生活型アメーバの中にはヒトに対し病原性を持つ種が複数知られている。例えば *Naegleria fowleri* は急性原発性髄膜脳炎の起因生物であり、*Acanthamoeba* 属は角膜炎の原因となる^{3), 11)}。オーストラリアでは疾病防止策としてアメーバの検査が義務化されており、培養温度42℃で *Naegleria* 属が検出されてはならず、検出された場合には水の使用禁止と施設の消毒が義務付けられている³⁾。すなわち、アメーバの存在を許容することはレジオネラ以外の病原体の感染リスクも高める危険性があり、こうした観点からも水管理をより徹底する必要があると思われる。

表4. レジオネラ属菌の共存生物検出状況

	冷却塔水(27)	浴槽水(7)	給湯水(8)	消防用水(21)	修景水(2)	加湿水(1)	計
不検出	5	6	8	16	0	0	35
検出	22	1	0	5	2	1	31
分類群別検出試料数							
真菌類	2	0	0	0	0	0	2
藍藻類	9	0	0	0	2	1	12
珪藻類	6	0	0	0	2	0	8
緑藻類	8	0	0	1	1	0	10
鞭毛虫類	16	1	0	4	1	1	23
繊毛虫類	8	0	0	2	0	0	10
根足虫類	5	1	0	1	1	0	8
輪虫類	1	0	0	0	0	0	1
線虫類	3	0	0	0	0	0	3

* ()内は各試料の件数

今回の調査ではアメーバの種の同定までは行っていないが、前述した点も考慮すると、出現するアメーバの種の同定の必要性も今後検討していく必要があると考える。

2) 共存生物の生息実態

共存生物については真菌類、藍藻類、珪藻類、緑藻類、鞭毛虫類、繊毛虫類、根足虫類、輪虫類及び線虫類の計9種類について調査した(表4)。試料水66件中35件からは今回の調査では生物は検出されなかった。生物が検出された31件のうち23件に原生動物の鞭毛虫類が生息していた。その試料の多くは冷却塔水であり、何らかの生物の存在が検出された冷却塔水22件中16件(検出率72.7%)で鞭毛虫類が生息していた。このほかにも繊毛虫類や根足虫類(アメーバを含む)の生息が目立ち、何らかの生物の存在が確認された試料水のうち繊毛虫で31%、根足虫類で25%の生息率であった。これら鞭毛虫、繊毛虫、根足虫などの原生動物は特に冷却塔水からの検出が多かったが、原生動物もある種のアメーバの餌になりうることから¹¹⁾、間接的にレジオネラの存在に關与するものではないかと考えられる。

3) レジオネラ以外の細菌の生息実態

レジオネラの生息状況とレジオネラ以外の細菌との関係を検討するため、一般細菌及び大腸菌群の試験を行った。一般細菌は、66件中56件から検出され(検出率84.8%)、大腸菌群は5件から検出された(検出率7.6%)。一般細菌及び大腸菌群の検出菌数とレジオネラの検出菌数との相関性を検討してみたが、一般細菌、大腸菌群ともにレジオネラとの相関性は見いだせなかった。

結 論

1. 平成13年度に水質研究科に搬入された試料水544件について、レジオネラの検査を行い、以下の結果を得た。

- 1) 冷却塔水では327件中200件からレジオネラを検出し、レジオネラが検出された試料水の40.0%が現行の指針値(100 CFU/100 mL未満)を超えていた。
- 2) 浴槽水では34件中11件からレジオネラを検出し、レジオネラが検出された試料水の26.7%が公衆浴場の水質基準値(10 CFU/100 mL未満)を超えていた。
- 3) 給湯水では112件中6件からレジオネラを検出した。検出率は5.4%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) 温泉水では12件中8件からレジオネラを検出し、検出率は66.7%と高かった。
- 5) 消防用水では23件中5件からレジオネラを検出し、検出率は21.7%であった。
- 6) その他の都市環境水(修景水14件、加湿水1件及びウォ

ータークーラー等20件)計35件中レジオネラを検出したのは修景水で1件(60 CFU/100mL)のみであった。

2. レジオネラと共存生物との関係について試料水66件を調べ、以下のような結果を得た。

- 1) レジオネラとアメーバ類の関係についてはレジオネラの増殖にアメーバ類の存在が關与していることが示唆された。
- 2) 66件中アメーバ以外の共存生物が検出された試料水は31件であった。そのうち、23件から鞭毛虫類が検出され、検出件数が最も多かったのは冷却塔水の16件(検出率69.6%)であった。この他にも共存生物が検出された試料水の32.3%で繊毛虫類を、25.8%で根足虫類を検出し、その多くは同様に冷却塔水からの検出であった。
- 3) レジオネラ以外の細菌では、一般細菌が56件(84.8%)から、大腸菌群が5件(7.6%)からそれぞれ検出されたが、レジオネラの生息状況との関連性は特に見いだすことは出来なかった。

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(当時)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, 矢野一好, 眞木俊夫, 他: 用水と廃水, 42, 677-683, 2000.
- 2) 矢野一好, 榎田隆一, 保坂三継, 他: 東京, 衛研年報, 52, 250-253, 2001.
- 3) 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, 1999, 財団法人ビル管理教育センター, 東京
- 4) 厚生省生活衛生局長通知 平成12年12月15日付生衛発第1811号
- 5) 遠藤卓郎, 八木田健司, 太田宗宏: 日本臨床微生物学会誌, 5, 1-4, 1995
- 6) 矢野一好, 保坂三継, 眞木俊夫: 東京, 衛研年報, 50, 259-263, 1999.
- 7) 上野邦男: 生活と環境, 47, 24-26, 2002.
- 8) 東京都衛生局編集: 知っていますか? レジオネラ, 1997, 東京都衛生局生活環境部, 東京
- 9) 紀谷文樹: 改訂新版給排水衛生設備学 中級編, 184-195, 2000, TOTO出版, 東京
- 10) 八木田健司, 遠藤卓郎, 太田宗宏, 他: 日環感, 12, 89-93, 1997.
- 11) 石井圭一: アメーバ図鑑, 1999, 金原出版株式会社, 東京