

## 水試料から検出されたレジオネラ属菌の分類

榎田 隆一\*, 保坂 三継\*, 勝田 千恵子\*, 瀬戸 博\*

### Legionella Species Found in Domestic Water

Takaichi ENOKIDA\*, Mitsugu HOSAKA\*, Chieko KATSUTA\* and Hiroshi SETO\*

**Keywords** : 生活用水 domestic water, レジオネラ属菌 Legionella species, レジオネラ ボゼマニイ Legionella bozemanii, レジオネラ ゴルマニイ Legionella gormanii

#### 緒言

筆者らの研究室では、生活用水におけるレジオネラ属菌(以下レジオネラという)の生息状況について、1987年以來継続して調査している。これによって各種生活用水での本菌属の生息実態が解明されつつある<sup>1)</sup>。

レジオネラは水試料から、またレジオネラ症患者からも、血清群1を中心とした*L.pneumophila*が圧倒的に多く検出される。しかし、筆者らの調査の過程で*L.bozemanii*や*L.gormanii*, *L.micdadei*など*L.pneumophila*以外のレジオネラが分離される例を経験している。

これら*L.pneumophila*に比べて分離頻度が低いレジオネラ<sup>2)</sup>は、患者症例も同様に少数であり病原性について明らかとはいえない。しかし、様々な菌種のレジオネラを起原因菌とする症例が徐々に報告されるようになってきた<sup>2)</sup>。こうしたことから、我々の日常検査では検出頻度が低い菌種のレジオネラであってもその検出・同定に努めて、症例にみられる菌の分布との関係など広く知見の集積をはかることが重要と考えられる。そこで、本稿ではこれらのレジオネラのうち*L.bozemanii*と*L.gormanii*の検出状況をとりまとめたので報告する。

#### 材料と方法

##### 1. 供試水

平成13年度及び平成14年度に当研究センターに持ち込まれた各種生活用水(冷却塔水、浴槽水、給湯水、消防用水等)を試料水として供試した。

##### 2. レジオネラの検出

レジオネラの検出はメンブランフィルター濃縮/酸処理法に従って行った<sup>3)</sup>。すなわち、一定量の供試水を孔径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水5 mLで洗い出した後、0.2 MのHCl-KCl溶液(pH 2.2) 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分離培地に塗布し<sup>37</sup>で1週間程度培養した。レジオネラと推定される集落を羊血液寒天およびBCYE寒天培地に画線して<sup>37</sup>で培養し、

BCYE寒天培地にのみ発育した集落についてラテックス凝集反応(*Legionella* Latex Test Kit, OXOID)及び免疫血清(レジオネラ免疫血清「生研」、デンカ生研)を用いた凝集反応を行った。これらの反応が陽性となったものをレジオネラとし<sup>3)</sup>、菌種等を決定した。

##### 3. 選択分離培地

環境試料からのレジオネラ選択分離培地としてWYO寒天培地(栄研化学)とGVPC寒天培地(日研生物医学研究所)を使用した。試料水の前処理等はすべて同一に行った。

#### 結果と考察

##### 1. 平成13年度の検出状況

平成13年度は、表1に示すように冷却塔水試料327件のうち196件でレジオネラが検出され、そのほとんどが*L.pneumophila*であった。*L.pneumophila*の血清群(SG)では、他の血清群が同時に検出されるもの、すなわち混合汚染を含めてSG1が139件で検出件数の70.9%と大多数を占めており、これは既報<sup>4)</sup>と同様であった。

*L.bozemanii*は11件(5.6%)に検出された。*L.bozemanii*の検出菌数範囲は20~280,000 CFU/100 mlであった。また、本菌が検出された施設で清掃殺菌などを行った後の再検査と思われる例では本菌が減少したり、菌種が交代して本菌が検出されなくなる例もあった。さらに*L.pneumophila*と混合している場合もみられた。

浴槽水試料34件のうち11件(32.3%)でレジオネラが検出され、菌種は*L.pneumophila*のみでSG5とSG6が多かった。これも既報<sup>4)</sup>と同様であった。

給湯水試料112件からのレジオネラ検出は6件(5.3%)で、すべてSG1以外の*L.pneumophila*であり、既報<sup>4)</sup>と同様にSG5、SG6が大半であった。

消防用水では23件中4件(17.4%)で*L.pneumophila* SG1及びその他の*L.pneumophila*が検出された。

修景用水では4件のうち1件から*L.pneumophila* SG1とその他の*L.pneumophila*が混合して検出された。

\* 東京都健康安全研究センター環境保健部水質研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

表1. 冷却塔水から検出されたレジオネラの分類  
(平成13年度)

レジオネラ属菌	検出件数に占める割合	
	件数	(%)
<i>L.pneumophila</i> SG1	100	51.0
SG2	1	0.5
SG4	2	1.0
SG5	1	0.5
SG6	2	1.0
SG7 ~ SG14	42	21.4
SG1 + SG2 ~ SG14	35	17.9
SG4 + SG7 ~ SG14	1	0.5
<i>L.bozemanii</i>	7	3.6
<i>L.pneumophila</i> SG1 +	4	2.0
<i>L.bozemanii</i> その他	1	0.5
( 小計	196	100.0
不検出	131	
合計	327	

## 2. 平成14年度の検出状況

表2. 冷却塔水から検出されたレジオネラの分類  
(平成14年度)

レジオネラ属菌	検出件数に占める割合	
	件数	(%)
<i>L.pneumophila</i> SG1	42	56.0
SG3	7	9.3
SG4	2	2.7
SG5	1	1.3
SG6	2	2.7
SG7 ~ SG14	11	14.7
SG1 + SG2 ~ SG14	6	8.0
<i>L.bozemanii</i>	1	1.3
<i>L.gormanii</i>	1	1.3
その他	2	2.7
( 小計	75	100.0
不検出	101	
合計	176	

平成14年度は、表2に示すように冷却塔水試料176件を調査した。レジオネラの検出状況は75件(42.6%)と13年度に比べて低下していた。ただし、13年度に比べて試料数が1/2と少なく、また採水場所などの条件が異なるため

直ちに比較することはできない。*L.gormanii* 及び *L.bozemanii* はそれぞれ1件検出され、その検出率は1.3%であった。

循環式給湯水では97件のうち9件からレジオネラが検出され、そのうち1件から *L.bozemanii* が検出された。*L.pneumophila* は8件(8.2%)から検出され、その内訳はSG1が2件、SG3が1件、SG5が2件、その他が3件であった。また温泉水7件では6件(86%)から *L.pneumophila* が検出され、SG33件、SG53件であった。

### 3. *L.gormanii* 及び *L.bozemanii* の分離における特徴

*L.bozemanii* は *L.pneumophila* と較べて初代分離の発育が遅く、培養7日目であっても集落が小さい。さらにシステイン要求性などの確認培養に要する時間を加えると、最終的な判定を得るまでに10日程度の日数を要することも少なくなかった。また培養時間が長期に渡る場合は培地が乾燥することがあり、湿度の保持に注意する必要がある。*L.bozemanii* 及び *L.gormanii* は集落の色調も *L.pneumophila* とは異なり、白色で、その形は円形レンズ型のスムーズ型で、*L.pneumophila* とはかなり形状が異なる集落である。また暗下で紫外線(波長366nm)を照射すると白色または青白色の自家蛍光を発することが特徴で、これが同定の手がかりとなった。

## 結 語

分離頻度が低いレジオネラに注目してその出現状況を調査した。平成13年度では冷却塔水から11件(5.6%)の *L.bozemanii* が、平成14年度では冷却塔水から *L.gormanii* 及び *L.bozemanii* が1件(1.3%)ずつ、循環式給湯水から *L.bozemanii* が1件検出された。これら以外のレジオネラも今後の調査により分離される可能性がある。

レジオネラ症は劇症化すると致死率が高い感染症である。ここで少数例分離されるレジオネラの菌種がどの程度の感染力をもつかはまだ明らかになっていないが、レジオネラのすべての菌種は基本的にヒトに対する病原性を有するといわれることから、今後の症例の動向に注目しつつ、環境水中での存在状況を明らかにしていく必要がある。

## 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) Victor, L.Y., Joseph, F.P., Maddalena, C. P., et al.: *J. Infectious Diseases*, **186**, 127-128, 2002.
- 3) 矢野一好, 榎田隆一, 保坂三継, 眞木敏夫: 東京衛研年報, **52**, 250-253, 2001.
- 4) 矢野一好, 保坂三継, 眞木敏夫: 東京衛研年報, **50**, 259-263, 1999.