

## 長野県における浴槽水等からのレジオネラ属菌検出状況 (2005年度～2013年度)

関口真紀<sup>1</sup>・上田ひろみ<sup>2</sup>・笠原ひとみ<sup>1</sup>・中沢春幸<sup>1</sup>・藤田 暁<sup>3</sup>

2005年度から2013年度までの9年間に、レジオネラ症患者の発生に伴い実施された感染源調査において採取した浴槽水等386検体中103検体(26.7%) (102施設中50施設)から、レジオネラ属菌が検出された。菌種別では *L. pneumophila* が88.0%で、同菌種の血清群では1群が22.3%と最も高率に検出された。患者から分離の多い *L. pneumophila* 1群が最も多かった状況から、主要な感染源である可能性が示唆された。今後患者数を減少させるには、施設全体の汚染率を低下させる抜本的な対策を講じる必要があり、また感染源の特定と正確な感染実態を把握するために、患者と浴槽水など環境双方からの細菌培養検査が重要と思われた。

キーワード：レジオネラ属菌，レジオネラ症，浴槽水，血清群

### 1. はじめに

レジオネラ症の起原菌であるレジオネラ属菌 (*Legionella* spp) は、土壌や淡水など自然界に広く生息している。近年では冷却塔、加湿器、循環式浴槽など人工的な水環境にも生息域を広げていることが確認されており、レジオネラ症の主要な感染源として危惧されている<sup>1)</sup>。本症は、これらの環境から発生するエアロゾルをレジオネラ属菌と共に吸入することにより発症し、しばしば重篤化することで問題視されてきた。レジオネラ症は感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(以下、感染症法と略す)の四類感染症に指定され、診断した医師は最寄の保健所長を経由して都道府県知事への届出が義務付けられている。全国のレジオネラ症患者報告数は2005年以降顕著な増加傾向を示しており<sup>1)</sup>、2013年には過去最多の1,111人に達した<sup>2)</sup>。この傾向は当県においても同様で、2005年までの報告数は7人以下であったがそれ以降増加し、2013年には過去最多の29人となった<sup>3)</sup>。

当県では、厚生労働省通知<sup>4)</sup>に基づき、レジオネラ症患者の届出があった際には、保健所による積極

的疫学調査が行われており、特に当該患者が発症前に公共の入浴施設等の利用歴が確認された場合には、感染源である可能性があるため、当所において浴槽水等の検査を実施している。今回、2005年4月から2014年3月までの9年間に実施した浴槽水等の検査結果について、集計・解析を行ったので報告する。

### 2. 材料および方法

#### 2.1 検査材料

2005年4月から2014年3月までの9年間に、県内で感染症法により医療機関から保健所に届出された157事例のうち、保健所の積極的疫学調査で患者の利用歴が確認された79事例102施設の公衆浴場や旅館・ホテル等で採取された浴槽水359検体、原水・湧泉水9検体、シャワー水または蛇口水6検体、飲泉水5検体、貯水槽水・貯湯水4検体、プール水2検体、井戸水1検体の計386検体を試料とした。

#### 2.2 検査方法

検査は、レジオネラ症防止指針<sup>5)6)</sup>に準じて実施した。まず検水500mLをポリカーボネート製メ

1 長野県環境保全研究所 感染症部 〒380-0944 長野県長野市安茂里米村1978

2 長野県立総合リハビリテーションセンター 〒381-8577 長野県長野市大字下駒沢618-1

3 長野県環境保全研究所 感染症部 〒380-0944 長野市安茂里米村1978  
(現：長野県長野食肉衛生検査所 〒380-0948 長野市差出南3-2-29)

表1 年度別レジオネラ属菌検査実施数および検出状況 (2005-2013年度 長野県)

年度	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	計
事例数	6	8	5	12	7	10	7	7	17	79
施設数	6	8	5	15	7	10	10	11	30	102
検出数	5	3	1	9	4	4	3	5	16	50
検出率 (%)	83.3	37.5	20.0	60.0	57.1	40.0	30.0	45.5	53.3	49.0
1事例当たりの施設数	1.0	1.0	1.0	1.3	1.0	1.0	1.4	1.6	1.8	1.3
検体数	52	33	14	35	19	29	23	52	129	386
検出数	14	3	2	11	8	4	3	13	45	103
検出率 (%)	26.9	9.1	14.3	31.4	42.1	13.8	13.0	25.0	34.9	26.7
1事例当たりの検体数	8.7	4.1	2.8	2.9	2.7	2.9	3.3	7.4	7.6	4.9

ンプランフィルター（直径47mm，孔径0.2 $\mu$ m，ADVANTEC）で吸引ろ過し，ろ過後のフィルターを滅菌試験管に入れ，滅菌蒸留水5mLを添加し1分間ミキサーで振とうし，フィルターに捕捉された当該菌を誘出させた．その後当該菌以外の細菌の発育を抑制するため50 $^{\circ}$ Cで20分間加熱（熱処理）し，さらにpH2.2緩衝液を5mL加え5分間静置（酸処理）した．処理検体はWYO  $\alpha$ 寒天培地（栄研化学），GVPC寒天培地（OXOID），およびGVPN寒天培地（同）のいずれかに200 $\mu$ l塗布し，35 $^{\circ}$ Cの湿潤状態で7日間好気培養を行った．

培養後，発育したレジオネラ属菌に特徴的な灰白色湿潤集落数を計測し，検体100mL当たりの菌数を算出した．また発育した集落のうち代表的な集落を釣菌し，5%ヒツジ血液寒天（栄研化学）またはシステイン不含BCYE  $\alpha$ 寒天培地（OXOID）およびBCYE  $\alpha$ 寒天培地（同）に塗抹し同上条件下にて2日間培養した．培地の発育状況からシステイン要求性の確認を行い，グラム染色にて形態学的確認をした後，レジオネラ免疫血清（デンカ生研）を用いた凝集反応で血清型別の同定を行った．また，2009年度までは補助的検査として馬尿酸加水分解試験を行った．なお，血清型別の同定が不能であった場合は，国立感染症研究所の病原体検出マニュアル<sup>7)</sup>に従いLEGプライマーとLmipプライマーを用いたPCR法によりレジオネラ属菌および*L. pneumophila*の同定を行った．

### 3. 結果

#### 3.1 検体採取状況とレジオネラ属菌の検出状況

年度別レジオネラ属菌検査実施状況および検出状況を表1に示した．検査の実施状況は，2012年度

表2 検体の種類別レジオネラ属菌検出状況

検体の種類	検体数	検出数	検出率 (%)
浴槽水	359	98	27.3
原水・源泉水	9	4	44.4
シャワー水・蛇口水	6	0	0.0
飲泉水	5	1	20.0
貯水槽水・貯湯水	4	0	0.0
プール水	2	0	0.0
井戸水	1	0	0.0
計	386	103	26.7

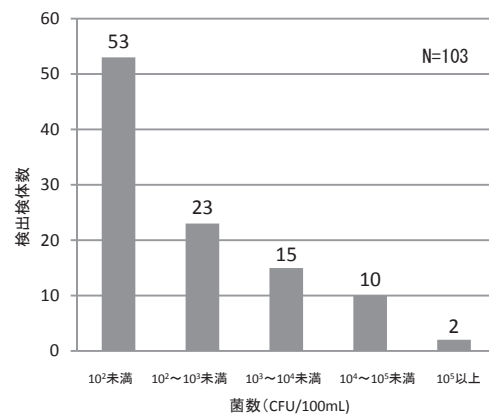


図 レジオネラ属菌検出検体の菌数

までは各年度とも15施設以下および52検体以下であったが，2013年度は30施設，129検体と急増した．

検査を実施した全102施設，386検体のうち，50施設（49.0%），103検体（26.7%）からレジオネラ属菌が検出された．検体の種類別採取状況（表2）は，浴槽水が359検体（93.0%）と最も多く，他は原水・源泉水9検体（2.3%），シャワー水・蛇口水6検体（1.6%），飲泉水5検体（1.3%），貯水槽水・貯湯水4検体（1.0%），プール水2検体（0.5%），井戸水1検体（0.3%）であった．このうちレジオネラ属菌が検出されたのは，浴槽水が359検体中

98 検体 (27.3%), 原水・湧泉水が 9 検体中 4 検体 (44.4%), 飲泉水 5 検体中 1 検体 (20.0%) で, 他の検体からは検出されなかった。

検出されたレジオネラ属菌の菌数 (図) は, 10<sup>2</sup>CFU/100mL 未満が 103 検体中 53 検体 (51.5%) と最も多く, 以下検出菌数が多いほど検体数は少ない傾向にはあったが, 10<sup>4</sup> ~ 10<sup>5</sup>CFU/100mL 未満 10 検体 (9.7%), 10<sup>5</sup>CFU/100mL 以上が 2 検体 (1.9%) と, 当該菌が多量に検出された施設も認められた。なお, 10<sup>5</sup>CFU/100mL 以上検出された検体は 2012 年度と 2013 年度で, いずれも宿泊施設 (旅館・ホテル) の浴槽水であった。このうち 1 施設では他の浴槽の検体からも 10<sup>3</sup> ~ 10<sup>4</sup>CFU/100mL 未満が 1 検体, 10<sup>4</sup> ~ 10<sup>5</sup>CFU/100mL 未満が 3 検体検出された。

### 3.2 レジオネラ属菌の菌種・血清型別検出状況

表 3 にレジオネラ属菌の菌種・血清型別分離状況

表 3 レジオネラ属菌の菌種、血清型別分離状況

菌種	血清群	検出 検体数	検出率 (%)	
<i>L. pneumophila</i>	1群	41	22.3	
	2群	7	3.8	
	3群	17	9.2	
	4群	22	12.0	
	5群	26	14.1	
	6群	9	4.9	
	7群	6	3.3	
	8群	5	2.7	
	9群	5	2.7	
	10群	13	7.1	
	12群	3	1.6	
	15群	2	1.1	
		型別不能	6	3.3
	(小計)		162	88.0
	<i>L. micdadei</i>		11	6.0
<i>L. bozemanii</i>		3	1.6	
<i>L. dumoffii</i>		3	1.6	
<i>Legionella . sp</i>		5	2.7	
計		184	100.0	

\*2菌種 (血清群) 以上検出した検体はそれぞれに計上

を示した。菌種別では, 特にレジオネラ症患者から分離される *L. pneumophila* が 162 検体と最も多く, 全体の 88.0% を占めた。 *L. pneumophila* 以外は, *L. micdadei* が 11 検体 (6.0%), *L. bozemanii* が 3 検体 (1.6%), *L. dumoffii* が 3 検体 (1.6%), その他のレジオネラ属菌が 5 検体 (2.7%) であった。

*L. pneumophila* は 12 種の血清群に分類され, そのうち 1 群が 41 検体 (22.3%) と最も多かった。次いで 5 群 26 検体 (14.1%), 4 群 22 検体 (12.0%), 3 群 17 検体 (9.2%), 10 群 13 検体 (7.1%) の順で, それ以外は 6 群, 2 群, 7 群, 8 群, 9 群, 12 群, 15 群の各血清群が確認された。なお型別不能であった検体は 6 検体 (3.3%) であった。

表 4 に検出されたレジオネラ属菌の菌種および血清群の状況を示した。 *L. pneumophila* は, 単独血清群が 47 検体 (45.6%), *L. pneumophila* 以外のレジオネラ属菌単独菌種が 6 検体 (5.8%) であった。一方 *L. pneumophila* の複数の血清群が検出された検体は 41 検体 (39.8%) で, *L. pneumophila* とそれ以外のレジオネラ属菌が混在していた検体は 5 検体 (4.9%), レジオネラ属菌の複数菌種が混在していた検体は 4 検体 (3.9%) であった。

## 4. 考察

近年, レジオネラ症患者の増加に伴い, 感染源調査での浴槽水等の検体数も増加傾向にある。2012 年度以降 1 事例に関わる施設数と 1 施設あたりの検体数も増加しており, 患者数の増加と共に検査に供する検体数も増加することが推察される。

今回, 2005 年 4 月からの 9 年間に検査を実施した浴槽水等 386 検体のうち 103 検体 (26.7%) からレジオネラ属菌が検出された。検体数に対する検出率は, 全国の温泉水からの分離状況を調査した古畑らの報告 (28.7%)<sup>8)</sup> とほぼ同等であった。また, 同報告では検出された菌数は 10<sup>2</sup>CFU/100mL 未満のものが 48.0% であり, 検出菌数についてもほぼ

表 4 レジオネラ属菌の菌種および血清群検出状況

検出状況	菌種	検出検体数	検出率 (%)
単独菌種または単独血清群	<i>L. pneumophila</i> 1種の血清群	47	45.6
	<i>Legionella . sp</i> 1菌種	6	5.8
複数菌種または複数血清群	<i>L. pneumophila</i> 複数種の血清群	41	39.8
	<i>L. pneumophila</i> と <i>Legionella . sp</i>	5	4.9
	<i>Legionella . sp</i> 複数菌種	4	3.9
合計		103	100.0

同等の結果であった。しかし今回の調査は、レジオネラ症患者発生と関連性が疑われる施設を対象としているのに対し、古畑らの報告は、全国の温泉施設から患者の発生に関わりなく無作為に抽出した施設での結果であることを考慮すると、レジオネラ症患者の発生数は施設の汚染率や検出される菌数との直接的な関連性が低い可能性も推察される。

いずれにせよ、レジオネラ症患者が増加傾向にある現状を改善するためには、感染源と推定される施設の浴槽水等の汚染率を低下させると共に、患者側の発症要因を検討することが必須である。現にレジオネラ属菌対策事業が継続的に実施されているにも関わらず、未だに  $10^5$ CFU/100mL 以上と本菌が高濃度に検出される施設が存在していることも判明した。これらの施設に対しては管轄保健所によるきめ細かな監視指導の他、浴槽水がアルカリ性等の場合は次亜塩素酸ナトリウムでは消毒効果が期待できない場合もあることから、モノクロラミン等による新たな消毒法<sup>9)</sup>を検討していく必要がある。

検体の種類別検出状況は、浴槽水から 27.3%、原水・源泉水から 44.4%、飲泉水から 20.0% 検出されており、これらが主要な感染源である可能性が示唆された。また、今回シャワー水等は検体数が少ないこともあり検出されなかったが、シャワー水の危険性は危惧されており<sup>10)</sup>、特に細かい水滴が周辺に拡散されやすいためよりリスクが高いと考えられることから、注視していく必要があると思われる。

今回の調査では、1 検体から複数の菌種、または 1 菌種で複数の血清群が検出されたものが約半数 (48.5%) を占めた。これは汚染源が複数存在していることを示しており、混合感染する可能性があることが伺われた。

菌種別の検出状況は *L. pneumophila* が全体の 88.0% を占め、同菌種の血清型では 1 群が 22.3% と他の菌種・血清型に比べ特に高率に検出されている。この検出率は全国的な温浴施設での調査結果<sup>8)</sup>と類似していた。また、患者からの検出<sup>1)</sup>が多い *L. pneumophila* 1 群が最も多いことから、感染源であった可能性が示唆された。

近年、医療機関ではレジオネラ症の診断に市販されている尿中抗原キットが用いられることが多く、臨床検体からの細菌分離はほとんど実施されていない。しかし、感染源特定のためには、患者検体と環境検体の双方からの菌分離を実施し遺伝子レベルで比較することが有効な手段となる。実際、当県にお

いて、2011 年に患者の臨床検体と利用した温泉浴槽水の双方から *L. pneumophila* 1 群の本菌を分離し、分子疫学解析を実施した結果、患者の感染と当該施設は無関係であることが判明した事例<sup>11)</sup>もあった。このため感染源特定と感染状況を正確に把握するには、今後医療機関が患者からの菌分離の必要性を理解し、患者と環境の双方から当該菌を検査する体制を構築することが重要と思われる。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所 (2013), 厚生労働省レジオネラ症 2008.1 ~ 2012.12 病原微生物検出情報 34: 155-156
- 2) 国立感染症研究所, 厚生労働省, 感染症発生动向調査週報 (IDWR) 2013 年第 52 週, 15, 52: 29 <http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/idwr/IDWR2013/idwr2013-52.pdf>(2014 年 12 月確認)
- 3) 長野県保健・疾病対策課, 長野県感染症情報年別届出数一覧:  
<http://www.pref.nagano.lg.jp/hoken-shippei/kenko/kenko/kansensho/ichiran.html> (2014 年 12 月確認)
- 4) 厚生労働省健康局結核感染症課長, 厚生労働省健康局生活衛生課長通知 (平成 14 年 9 月 3 日付け健感発第 0903001 号, 健衛発第 0903001 号)「レジオネラ症患者の発生時等の対応について」
- 5) 財団法人 ビル管理教育センター, 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 (平成 11 年 11 月)
- 6) 財団法人 ビル管理教育センター, レジオネラ症防止指針第 3 版 (平成 21 年 3 月)
- 7) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル レジオネラ症 平成 23 年 10 月 7 日改訂
- 8) 古畑勝則ほか (2004), 温泉水からのレジオネラ属菌の分離状況, 感染症誌, 78: 710-716
- 9) 佐原啓二ほか (2013), 浴槽水のモノクロラミン消毒 病原微生物検出情報, 34: 168-169
- 10) 岡部咲子ほか (2010): 入浴施設のシャワー水のレジオネラ汚染状況 病原微生物検出情報, 31: 332-333
- 11) 上田ひろみほか (2012): 温泉施設から分離された *L. pneumophila* の分子疫学解析, 第 39 回長野県環境科学研究発表会講演要旨集: 29-30

Detection of *Legionella* Species from Public Bath Water  
in Nagano Prefecture (Apr.2005-Mar.2013)

Maki SEKIGUCHI<sup>1</sup>, Hiromi UEDA<sup>2</sup>, Hitomi KASAHARA<sup>1</sup>,  
Haruyuki NAKAZAWA<sup>1</sup> and Satoru FUJITA<sup>3</sup>

- 1 *Infectious Disease Division, Nagano Environmental Conservation Research Institute, 1978 Komemura, Amori, Nagano 380-0944, Japan*
- 2 *Nagano Prefectural Rehabilitation Center, 618-1 Oaza-Shimokomazawa, Nagano 381-8577, Japan*
- 3 *Infectious disease division, Nagano Environmental Conservation Research Institute, 1978 Komemura, Amori, Nagano 380-0944, Japan  
(Present: Nagano Meat Inspection Laboratory, 3-2-29 Sashideminami, Nagano 380-0948, Japan)*