

## レジオネラ菌の検査技術

レジオネラ菌（ Legionella sp.）とは、自然界の土壌や川、湖などの淡水に生息する好気性のグラム陰性<sup>1)</sup>桿菌で、レジオネラ症の原因菌となり、現在までに41種が発見されている。

レジオネラ菌の感染により引き起こされるレジオネラ症は、1976年に米国のフィラデルフィアで開催された在郷軍人会の大会で最初に集団発生が確認された経緯から、別名「在郷軍人病」とも呼ばれているが、その症状から、「レジオネラ肺炎」\*<sup>2)</sup>と「ポンティアック熱」\*<sup>3)</sup>の2つの病型に分類されている。レジオネラ症の感染源としては、給水・給湯設備、冷却塔水、循環式浴槽（24時間風呂など）、加湿器、水景施設、蓄熱槽等からの感染が報告されており、その感染経路としては、汚染水エアロゾルの吸入、汚染水の吸引、嚥下・経口感染などが考えられる。

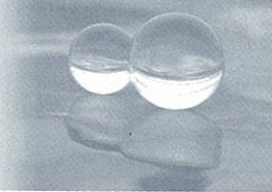
我国においても、循環式浴槽を感染源とするレジオネラ症が多発したことから、厚生省（現厚生労働省）では公衆浴場や旅館業での衛生管理などについて以前から指導を行っていたが、かねてから感染症として届出が義務付けられていたレジオネラ症については、近年急増していることや、感染源の大半が温泉・公共入浴施設・24時間風呂であることから公衆浴場と旅館業におけるレジオネラ症の発生防止対策として、新たに「公衆浴場における水質基準等に関する指針」<sup>1)</sup>を策定し、レジオネラ検査の実施を指導している（第1表）。

本稿では、新たな「公衆浴場における水質基準等に関する指針」<sup>2)</sup>に基づいて検査が指導されているレジオネラ菌の検査技術について紹介する。

第1表 浴槽水の 水質基準

	改正前 <sup>2)</sup>	改正後 <sup>1)</sup>	基準値
濁度	○	○	< 5度
過マンガン酸カリウム消費量	○	○	< 25ppm
大腸菌群	○	○	< 1 CFU* <sup>4)</sup> /ml
レジオネラ菌	—	○	< 10CFU/100ml

- \*1：グラム染色は、細菌を分類するために使用される染色法の一つで、グラム陰性菌は赤く、陽性菌は青く染色される。代表的な細菌では、大腸菌がグラム陰性菌、納豆菌が陽性菌である。
- \*2：レジオネラ肺炎は、多臓器不全を起こして死亡する劇症型から、適正な抗生物質により治癒するものまで種々症状が認められる。特に、劇症型は適切で強力な治療が行われなければ発病後数日以内に死亡する
- \*3：ポンティアック熱は、自然治癒型でインフルエンザに似た症状を呈する。死亡例は報告されていない。
- \*4：CFUとは、コロニー形成能（CFU：Colony Forming Units）のことで、ほぼ菌数と同じである。細菌は培養により寒天培地上でコロニーと呼ばれる肉眼的に観察できる集落を形成する。通常、コロニーは1個の菌の増殖により形成されることから、CFUは初めの菌数を表している。



## レジオネラ症の発生状況

レジオネラ症の感染事故が最初に確認されたのは、1976年のフィラデルフィアでの在郷軍人会であったが、その後も世界各地で報告されている。

第2表に米国の感染事例を示す。

日本では、諸外国と同様のビル空調を感染源とする感染事例の他、浴場施設を感染源とする事例が近年増加している。

第3表に浴場施設を感染源とする最近の感染事例を示す。また、浴場施設以外の主要な感染源となるクーリングタワーにおけるレジオネラ菌の実態調査結果によると、東京都（50.8%）、富山県（13.0%）、宮城県（20.0%）、静岡県（52.1%）、大阪市（61.0%）、広島県（78.1%）、三重県（78.6%）、千葉県（91.2%）など、13.0%から91.2%と検出率にかなりの差異はあるものの、各地でレジオネラ菌が検出されている。

第2表 米国におけるレジオネラ菌感染事例

発生年月	発生場所	発症者数
1977年5月	ヴァーモント州 医療センター	56名感染
1977年7月	カリフォルニア州 病院	24名感染
1978年7月	テネシー州 病院	15名感染
1978年8月	ジョージア州	8名感染

第3表 最近の我国における浴場施設を感染源とするレジオネラ菌感染事例

発生年月	発生場所	発症者数
2000年3月	静岡県K市の温泉利用入浴施設	23名感染 2名死亡
2000年4月	山形県O町の温泉利用施設	2名感染
2000年6月	茨城県I市の総合福祉センター内の入浴施設	42名感染 3名死亡
2000年7月	愛知県N市の大学附属病院の24時間風呂	1名感染・死亡

- 1) 厚生省生活衛生局：「公衆浴場における水質基準等に関する指針」、生衛生発第1811号 平成12年12月15日
- 2) 厚生省生活衛生局：「公衆浴場における水質等に関する基準」、改正昭和62年3月30日 衛指第76号

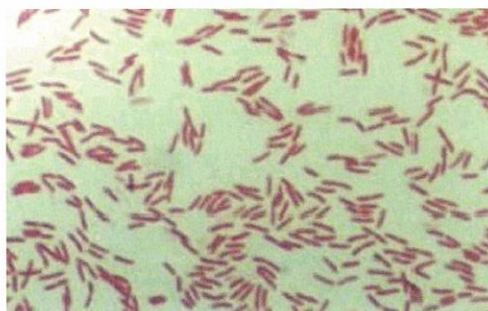
## レジオネラ菌の特徴

レジオネラ菌を正しく検査するためには、レジオネラ菌の形態学的、生理学的及び培養学的特徴を正確に理解し、レジオネラ菌検査を行うことが

重要となる。すなわち、レジオネラ菌と判定しうる細菌は下記の特徴を全て具備している。

## レジオネラ菌の形態学的特徴

レジオネラ菌は個々の細胞が非常に細長いという形態学的特徴を有し、幅：0.3～0.9 $\mu$ m、長さ：2～5 $\mu$ mのグラム染色陰性（赤く染色される）の桿菌である（第1図参照）。



第1図 レジオネラ菌の顕微鏡写真  
(グラム染色実施)

## レジオネラ菌の生理学的特徴

レジオネラ菌は生育のために、

- 1) 微量の鉄イオンを必要とする。
- 2) L-システインやL-セリン、スレオニンなどのアミノ酸類をエネルギー源及び炭素源として必要とし、特に、L-システインは不可欠の栄養素である。

などの特徴を有する。

いっぽう、オレイン酸やその他の脂肪酸により生育を阻害されるため、一般の細菌検査用培地にはまったく生育しないことから、生育阻害物質を吸着除去するために、活性炭末を添加する必要がある。

## レジオネラ菌の検査方法

レジオネラ菌は国立予防衛生研究所の病原体危険度分類では、レベル2に分類されている細菌であり、特別な空調設備などは必要なく、滅菌装置など一般的な細菌検査で行える実験室があれば十分に取り扱える細菌である。

なお、レベル2とは、「ヒトあるいは動物に病原性を有するが、実験室職員、地域社会、家畜、環境等に対し、重大な災害とならないもの、実験室内で暴露されると重篤な感染を起こす可能性はあるが、有効な治療法、予防法があり、伝播の可

ある（このため通常のレジオネラ用培地は黒色を呈している）。

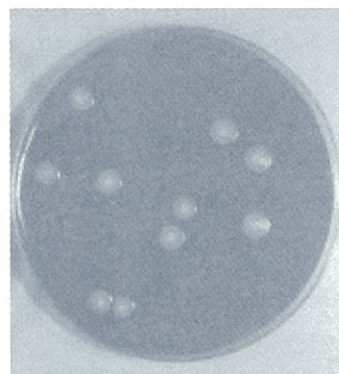
また、pH6.8～6.9の限られた範囲でなければ増殖しないため、培地中のpHを一定に保つための緩衝剤が必要となる。

## レジオネラ菌の培養学的特徴

レジオネラ菌用の培地を用いれば、通常の酸素のある状態で十分に発育するが、大腸菌が15～20分で2倍になるのに対し、レジオネラ菌の場合は4～6時間かかるために、肉眼で観察できる集落が形成されるには5日以上培養が必要となる。

レジオネラ菌の集落は凸状の円形で、色調は青みを帯びた灰白色を呈し、湿潤性で光沢がある（第2図参照）。

また、レジオネラ菌が増殖した寒天培地は特徴的な淡い酸臭がある。



第2図 レジオネラ菌のコロニー

## A-3

能性は低いもの」と定義されている。

当社で実施しているレジオネラ菌の検査手法はA-2に記載したレジオネラ菌の特徴に基づき、第4図に示すフローで実施されている。

なお、レジオネラ菌はA-2に記載したように肉眼的観察される集落を形成するまで5日間程度を要するために、WYO $\alpha$ 培地において3日目までに肉眼的に観察される集落に成長した集落はレジオネラ菌とは見なさない。

## A-4

## レジオネラ菌検査結果に対する対応および対策

検査の結果、レジオネラ菌が検出された場合には、以下の通りに対応する必要がある。

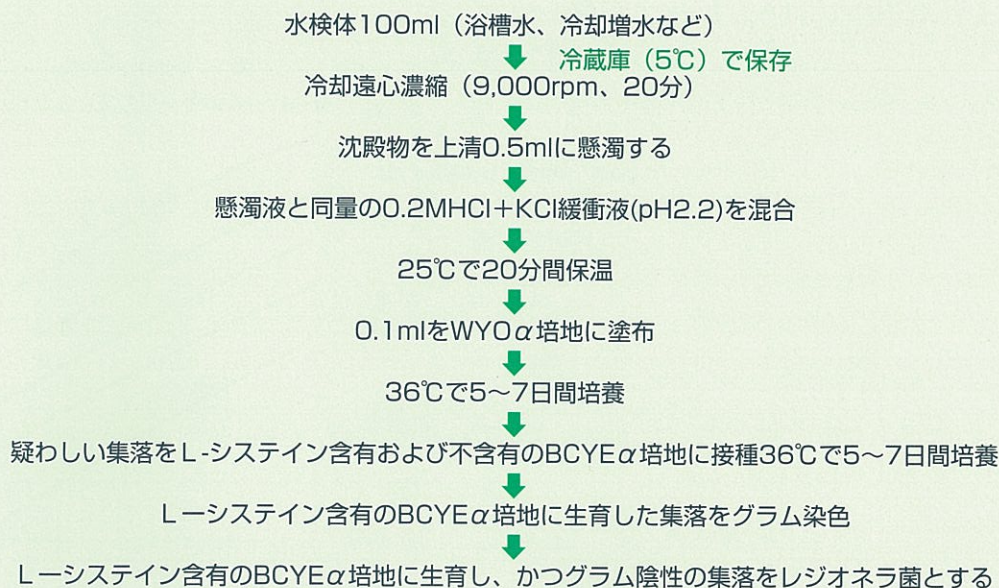
- 1) 人が直接吸引する可能性のない場合

10<sup>2</sup>CFU/100ml以上のレジオネラ菌が検出され

た場合、直ちに清掃・消毒等の対策を講じる。

また、対策実施後は検出菌数が検出限界（10CFU/100ml未満）以下であることを確認する。

- 2) 浴槽水、シャワー水などを人が直接吸引するお



第4図 レジオネラ菌検査フロー

#### それがある場合

レジオネラ属菌数の目標値を10CFU/100ml未満とし、レジオネラ属菌が検出された場合、ただちに清掃・消毒等の対策を講じる。

また、対策実施後は検出菌数が検出限界以下であることを確認する。

また、主要なレジオネラ菌感染源となるクーリングタワーおよび循環式浴槽（24時間風呂）におけるレジオネラ菌対策は以下のとおりである。

#### クーリングタワー

日本では、昭和62年～平成4年までに行われた調査によれば、延べ約1,400基の冷却塔のうち約6割からレジオネラ菌が検出されていた。

また、平成6年8月都内の企業の研修センターにおいて屋上の冷却塔が感染源と考えられる発熱患者45名が発生したことが報告されている。

維持管理については下記項目に留意することが必要である。

- レジオネラ属菌殺菌剤の注入
- スケール防止、腐食防止、スライム防止のための薬剤注入
- 冷却塔の定期的な洗浄
- 設備の定期点検
- 感染因子の点数に対応したレジオネラ属菌の検査の実施

#### 循環式浴槽

循環式浴槽では、湯が閉鎖系内を循環しているため、レジオネラ菌を含む多数の微生物が濾材表面およびその内部、浴槽、管路系の内壁などに定着し、入浴者の体表などに由来する有機物質を栄

養源として増殖する。

このため、循環式浴槽では、以下の点に留意して維持管理を行う必要がある。

- 塩素剤による浴槽水の消毒を行う場合は、遊離残留塩素濃度を0.2～0.4mg/lに1日2時間以上保つ
- 浴槽の換水は、衛生管理の水準を保つよう定期的に行うことが望ましい
- 浴槽の全換水を行うときは、塩素剤による洗浄・消毒を行った後に、浴槽の清掃を実施する。ろ過器を設置した浴槽の場合には、ろ過装置、配管を含めた洗浄、消毒を行う
- 浴槽内部、ろ過器などの毛髪、あか、および生物膜の有無を定期的に点検、除去する
- レジオネラ属菌の検査を感染因子の点数を目安に定期的実施する

なお、家庭で使用される循環式浴槽（いわゆる24時間風呂）についても、上記を踏まえ維持管理などを行う必要がある。

今回は、最近話題となっているレジオネラ菌について、その汚染状況、検査方法およびレジオネラ汚染が発生した場合の対応策について紹介した。

当社は、こうした微生物検査に限らず、バイオ技術と環境技術および材料技術とを複合的に組み合わせたソリューション型の総合試験研究企業を目指し、各種のバイオ関連技術の育成に努めているので、機会をみて紹介したい。

[環境化学事業部 加藤 卓]