

生活衛生行政検査

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌検査の濃縮方法による
検出結果の比較（2016～2023 年度）

佐藤由衣子 今野貴之 関谷優晟 伊藤佑歩 高橋志保

1. はじめに

レジオネラ属菌は土壌、河川や湖沼などの自然水系に広く生息している環境細菌である。また、空調設備の冷却塔水や循環式浴槽、加湿器などの人工水系中では、細菌捕食性のアメーバ等に寄生して増殖する¹⁾。ヒトにはこれらの水から発生したレジオネラ属菌を含むエアロゾルや粉塵を吸入することで感染し、肺炎やポンティアック熱などのレジオネラ症を引き起こす。高齢者など免疫の低下している人は重症化する場合もあるため、注意を要する。

秋田県では、「レジオネラ属菌検査実施要領」に基づき、レジオネラ症の発生を未然に防止するため、温泉施設や公衆浴場、旅館等の施設を対象に浴槽水等のレジオネラ属菌検査を行っている。検査法については、これまで冷却遠心濃縮法により行ってきたが、2020 年度からは「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について（2019 年 9 月 19 日通知、薬生衛生発 0919 第 1 号）」に基づき、濾過濃縮法に変更して実施している。今回は 2016～2023 年度に実施した公衆浴場等のレジオネラ属菌検査について、検査法の変更前後で比較し、濃縮方法の違いによる検出結果への影響を検討した。

2. 方法

2.1 対象

2016～2023 年度に県内の 6 保健所で採取した計 70 施設（延べ数として 128 施設）の浴槽水及び浴槽水以外の原湯やシャワー水等、計 496 検体を対象とした。

2.2 検査方法

2.2.1 菌数の測定

検水の濃縮について、2016～2019 年度は冷却遠心濃縮法により検査した。検水 200 mL を

6,000 G、10 分間遠心後、上清を除去して 2 mL の滅菌蒸留水に 100 倍濃縮した。2020～2023 年度は濾過濃縮法により行い、検水 500 mL を直径 47 mm 孔径 0.2 μm のポリカーボネート製メンブレンフィルターで吸引濾過し、5 mL の滅菌蒸留水にフィルターを洗い出して 100 倍濃縮液とした。濃縮液を 50 $^{\circ}\text{C}$ で 20 分間熱処理後、その 100 μL 及び 10 倍希釈液を WYO α 寒天培地に塗布して、36 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$ で 7 日間培養した。培養期間中に発育した集落を計数し、BCYE α 寒天培地と血液寒天培地に画線培養した。培養後、BCYE α 寒天培地のみに発育したものをレジオネラ属菌と推定した。

2.2.2 菌株の精査

PCR 法²⁾、レジオネラ免疫血清「生研」（デンカ）及び衛生微生物技術協議会レジオネラレファレンスセンターから配布されたレジオネラ免疫血清により、菌種や血清群の同定を行った。また、*Legionella pneumophila* (Lp) のうち、血清群別試験で群別不能であったものについては、血清群の PCR 型別（FASMAC）を実施した。

3. 結果及び考察

2016～2023 年度に採水された 70 施設（延べ数として 128 施設）の浴槽水等 496 検体のうち 25 施設（延べ数として 27 施設）、61 検体からレジオネラ属菌が検出された。冷却遠心濃縮法を実施した 2016～2019 年度と濾過濃縮法を実

表 1 濃縮方法別検出状況

対象年度 (濃縮方法)	検体数	レジオネラ属菌 検出検体数	検出率(%)
2016-2019 (冷却遠心濃縮法)	245	27	11.0
2020-2023 (濾過濃縮法)	251	34	13.5
計	496	61	12.3

表2 検体のレジオネラ属菌検出菌数帯における分布

対象年度 (濃縮方法)		レジオネラ属菌検出菌数(CFU/100mL)					最高検出菌数 (CFU/100mL)
		<10	10~<10 ²	10 ² ~<10 ³	10 ³ ~<10 ⁴	10 ⁴ ~<10 ⁵	
2016-2019 (冷却遠心濃縮法)	検体数	218	20	7	0	0	245
	(%)	(89.0%)	(8.2%)	(2.9%)	(0%)	(0%)	(100%)
2020-2023 (濾過濃縮法)	検体数	217	17	13	2	2	251
	(%)	(86.5%)	(6.8%)	(5.2%)	(0.8%)	(0.8%)	(100%)

表3 検出されたレジオネラ属菌の菌種と血清群

対象年度	対象施設数 (延べ)	検出菌種 (n=施設数)	血清群の内訳 (n=施設数)
2016-2019	46 (64)	<i>L. pneumophila</i> (9)	Lp1群(2), Lp3群(1), Lp4群(4), Lp5群(2), Lp9群(1), Lp10群(1), Lp UT(4)
		<i>L. londiniensis</i> (1)	1群(1)
2020-2023	48 (64)	<i>L. pneumophila</i> (14)	Lp1群(5), Lp5群(5), Lp6群(3), Lp8群(1), Lp9群(1), Lp10群(1), Lp12群(1), Lp15群(2), Lp UT(7)
		<i>L. londiniensis</i> (2)	1群(1), 2群(1)

Lp: *Legionella pneumophila*, UT: Untypable

施した 2020~2023 年度に分けて検出数を比較すると、2016~2019 年度のレジオネラ属菌検出率は 11.0%、2020~2023 年度のレジオネラ属菌検出率は 13.5%で、検査法の変更前後で検出率の大きな違いはみられなかった(表1)。しかしながら、検出された検体数を検出菌数別にみると、濾過濃縮法で検査を行っている 2020~2023 年度の方が 10² ≤ (CFU/100 mL) での検出率が 2016~2019 年度に比べてやや高い傾向がみられた(表2)。

検出された菌種は、2016~2019 年度 9 施設から *L. pneumophila* と 1 施設から *L. londiniensis*、2020~2023 年度 14 施設から *L. pneumophila* と 2 施設から *L. londiniensis* であり、うち 1 施設からは両菌種が検出された(表3)。*L. pneumophila* の血清群別試験では、全期間を通じて Lp1 群が 7 施設、Lp5 群が 7 施設、Lp6 群が 3 施設、Lp9 群、Lp10 群、Lp15 群が 2 施設、Lp3 群、Lp8 群、Lp12 群が 1 施設、Lp UT (血清群別不能) が 11 施設で検出され、そのうち 13 施設では複数の血清群が検出された。また、Lp UT のうち、保存菌株より血清群の PCR 型別検査を実施できた 11 施設 20 検体については、SG4/10 が 8 検体 (5 施設)、SG6/12 が 2 検体 (2 施設)、SG7 が 3 検体 (3 施設)、SG8 が 1 検体、SG9 が 6 検体 (3 施設) であった(表4)。

冷却遠心濃縮法は遠心後の上清除去時にピペ

ティング操作等により沈査を損失する可能性があるなど、濾過濃縮法よりも一連の濃縮工程の手技により検出結果に差が出やすいとされており³⁾、濃縮方法の違いが検出率に大きく影響を及ぼすと考えられる。今回の調査においては、年により対象となる施設も異なるため、一概に

表4 群別不能株の PCR 型別結果

菌株番号	年度	施設No.	由来	PCR型別
LG-420	2016	1	原湯等	SG4/10
LG-428	2017	5	浴槽水	SG6/12
LG-431		1	原湯等	SG4/10
LG-437	2018	7	原湯等	SG6/12
LG-446	2019	10	浴槽水	SG4/10
LG-447			原湯等	SG9
LG-451	2020	12	浴槽水	SG8
LG-456		13	浴槽水1	SG4/10
LG-457			浴槽水2	SG4/10
LG-459			浴槽水3	SG4/10
LG-479	2022	17	原湯等1	SG9
LG-481			原湯等1	SG7
LG-480			浴槽水1	SG9
LG-482			原湯等2	SG9
LG-483			浴槽水2	SG9
LG-487	2023	20	原湯等	SG7
LG-490		21	原湯等	SG9
LG-492		23	原湯等	SG4/10
LG-501		25	浴槽水1	SG4/10
LG-502			浴槽水2	SG7

SG: Serogroup

比較することはできないが、検査法の変更による検査結果への影響は限定的であった。ただし、濾過濃縮法は菌体を吸着捕集することにより菌体の回収率がよいため、濾過濃縮法への変更に伴い検出菌数がやや多くなったと考えられた。

2016～2019年度、2020～2023年度に検出された菌種は、両期間ともに *L. pneumophila* と *L. londiniensis* であり、相違はなかった。*L. pneumophila* では、Lp 1 群、Lp 5 群、Lp 6 群といった血清群が浴槽水等からの検出頻度が高いと報告されている¹⁾。県内の施設においてもこれらの血清群の割合が高かった。また、群別不能であった菌株については、PCR 型別によって型別可能であることが確認できた。特に、2016年、2017年と連続して Lp UT が検出されていた施設においては、どちらの年の菌株も SG4/10 であることが確認され、同じ血清群の *L. pneumophila* が施設内に残存していた可能性が示唆された。PCR 型別は、型別率の向上が期待

でき、疫学的な関連性を考慮する際に有用と考えられた。

今回、レジオネラ属菌検査の濃縮方法の変更による影響を 2016～2023 年度に実施した検査結果より検討したところ、検査法の変更に伴うレジオネラ属菌の検出率に大きな差はなかったことが確認できた。ただし、濾過濃縮法に変更したことにより、菌の回収率は以前よりも上がっていると想定されることから、検査精度は向上していると考えられた。

参考文献

- 1) 公益財団法人日本建築衛生管理教育センター：第4版レジオネラ防止指針
- 2) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアルレジオネラ症，令和2年9月1日改訂
- 3) 森本洋：濃縮方法の違いによる温泉水中のレジオネラ属菌検出結果の比較，北海道立衛生研究所所報，59，2009，73-74.