

のうちに複数の入浴施設を利用した人もいるかもしれない。そのような時、どこが感染源なのかを決めるために使用される方法がDNA解析である。このことについて私が感染源の同定に関わった入浴感染事故を例にあげ述べたい。

71歳の女性が温泉で溺れ意識不明となっていたところを発見され、病院に運ばれた。入院の2日後には意識状態などが改善したが、その翌日には再び意識混濁状態となった。入院から6日目には肺炎を発症したため、一般的な細菌性肺炎に使用される抗生物質を投与したが症状は改善されなかった。しかし、レジオネラ肺炎に有効な薬を追加して投与したところ呼吸状態が改善し始めた。また、患者さんの痰からレジオネラが検出されたため、レジオネラ肺炎と診断された。入院9日目か

ら違う種類のレジオネラ肺炎に有効な薬を開始したところ症状は順調に回復し、約2ヶ月後退院となった。感染源を同定するため患者さんが溺れた浴槽の温泉水と入院した病院の給湯水のレジオネラ検査が行われた。患者さんが入院6日後に肺炎を発病したので入院後に病院内でレジオネラに感染した可能性もあった。そのため病院の給湯水のレジオネラ検査も行われた。その結果、両方の場所からレジオネラが検出されたので温泉水か給湯水のどちらかが感染源であることが推定された[27]。

このような場合、患者さんの菌と温泉浴槽水の菌、そして給湯水の菌のDNAをお互いに比べることで感染源がどちらであるかを決めることができる。原理は非常に簡単である。細菌は2つに分裂することで増えるので分裂

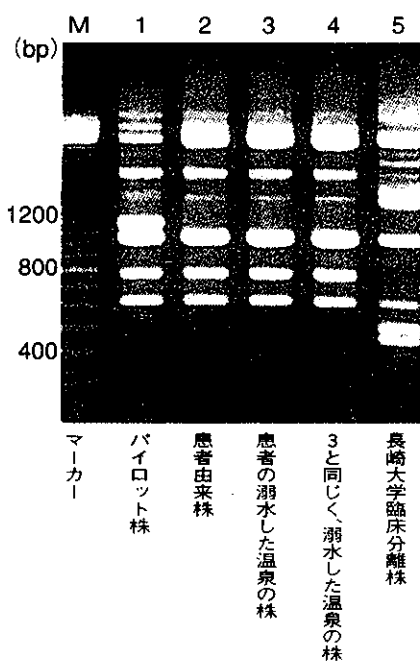


Fig. 5. レジオネラのDNA断片のパターン。反復配列核酸増幅法(repetitive element PCR)により増幅されたレジオネラDNA断片をアガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色した像。2, 3, 4のDNA断片が全て一致している。(文献[28]より改変して引用)

前の親であるレジオネラとその親が分裂してできたすべての子供のレジオネラは親と全く同じ遺伝子(DNA)を持つことになる。AというレジオネラとBというレジオネラのDNAが同じであるということは起源が同じであることを示し、DNAが違うということは起源が違うということを示すわけである。患者さんからの菌と温泉浴槽水からの菌、給湯水からの菌のDNAを比べると患者さんからの菌が浴槽水由来なのか給湯水由来なのかを判別できる。そこで、患者さんの菌、患者さんの溺れた温泉浴槽水にいた菌、本件と全然関係のない場所である長崎県とアメリカ(パイロット株)で分離された菌の4種類のDNAを比較してみた。すると患者さんからの菌と浴槽水にいた菌のDNAが一致したのである(Fig. 5)。患者さんからの菌は病院の給湯水にいた菌とは異なっていたので、この結果は温泉浴槽水が感染源であることを示している。この事例は遺伝子学的に温泉浴槽水がレジオネラの感染源と同定された世界で初めてのケースとなった[28]。その後、感染源の決定にDNA解析が広く使用されるようになり、現在ではDNA解析データの無い、いわゆる状況証拠だけでは感染源の同定には不十分と考えられている。平成12年の1月から8月にかけて山形県で合計8名のレジオネラ症の患者が発生した[1]。そのうち3名の患者さんは同じ入浴施設を利用していたのでこの施設が感染源と最初疑われた。浴槽水のレジオネラ検査の結果、レジオネラが検出されたのでDNA解析が行われ患者さんの菌のDNAと比べられた。しかし、両者が一致しなかったためこの入浴施設はレジオネラに汚染された衛生管理不十分な施設であったが、感染源と同定できなかつた[1]。営業停止の行政処分はなされなかつた。

入浴施設においてレジオネラ症と疑われる患者が発生した場合、独自の判断で消毒剤投

入などの処理を行うと一時的に浴槽水から菌が検出されなくなる。そのためDNA解析が不可能になり原因究明が遅れることになる。しかし、3週間もすると配管内部や濾過装置内部に残存しているバイオフィルム中で菌が増殖し、かならず浴槽水中に遊離してくる。その菌を使用すればDNA解析が可能であるが、3週間待たなければならない。その結果、施設の利用再開を遅らせることになるので独自の判断での消毒剤投入などの処置は慎まなければならない。

入浴施設におけるレジオネラ除菌対策

レジオネラ症はレジオネラを含むエアロゾルによる感染であるということ、及びヒトからヒトへは感染しない(したがって、いわゆる伝染病ではない)という特徴から、予防には患者の隔離ではなく感染源と感染様式のコントロールが重要となる。レジオネラの増殖を抑制し、エアロゾルの発生を避ければレジオネラ症は起こらないと考えられる。しかし、入浴施設ではエアロゾルは絶えず発生する。入浴者がかけ湯をした際、床に当たった湯は目に見える水しぶきと見えないエアロゾルとして飛散する。入浴者が浴槽水につかる際には水しぶきは上がらないにしてもエアロゾルは必ず発生する。このように入浴施設においてエアロゾルの発生を抑えることは不可能である。したがって、浴槽水のレジオネラ増殖を抑制することが最も確実なレジオネラ症を防止する手段となる。浴槽水の水面より上に設置された湯の吐出口や打たせ湯、気泡発生装置、ジェット噴射装置などは入浴者が原因でないエアロゾル発生を引き起こす設備である。そのため、これらに使用する湯にはレジオネラ汚染が無い新湯を使うべきである。

浴槽水のレジオネラ増殖を抑制する対策については縣邦雄氏(株式会社アクアス・つくば総合研究所)が福岡県レジオネラ症防止対策

講習会のために作製した配布資料を引用・参考にして、1. 濾過器と濾材 2. 塩素消毒 3. バイオフィームを中心に述べる。浴槽水の換水が菌の増殖を抑制する大切な原点であることをその前に再度強調しておきたい。

1. 濾過器と濾材

レジオネラが増殖する場所として濾材は重要であり濾材の殺菌管理を徹底する必要がある。また、施設の維持管理は塩素剤による浴槽水中の遊離塩素濃度の維持が基本である。そこでまずA)濾過装置が生物浄化式かどうか、B)塩素剤による殺菌処理ができるか、の2点をチェックして頂きたい。Table 8に濾過器の種類とその特徴を示した。生物浄化式は濾材に微生物を付着させて浴槽水の老廃物(有機物)を分解するので濾材に細菌やアメーバなどが付着・増殖している。水溶性老廃物(浴槽水に溶けた皮脂や垢)までも分解・除去できるという物理濾過式にない特徴を持っている。しかし、生物浄化では微生物を付着させやすく(剥がれにくく)するため表面に微細な穴があいている人造石などを濾材とし

ているためレジオネラは必ずと言っていいほど付着、棲息している。濾材中のレジオネラの菌数は浴槽水の10~1000倍ということもある(未発表データ)。生物浄化システムでレジオネラを殺菌するほど塩素消毒することは一般的に困難である。そのようなことをすると濾材に付着した他の微生物も死んでしまい生物浄化の機能そのものが無くなってしまい濾過器として働かなくなるからである。そのため生物浄化式の風呂メーカーは紫外線やオゾンなどを使用し、レジオネラが浴槽水に供給されない殺菌システムを開発している。しかし、濾材中に常時レジオネラが存在するので「レジオネラがいつでも浴槽水に供給される状態にある」ことを考えれば浴槽水のレジオネラ検査を行って、確実にレジオネラが除菌されていることを確認することが施設の衛生管理者には要求される。そのため、公衆浴場における水質基準の指針ではレジオネラ検査の頻度が年4回以上と塩素消毒が可能な施設より多くなっているわけである。

濾過器が物理濾過式(砂濾過など)で生物浄

Table 8. 濾過器の種類と特徴

種類 (濾過径)	濾材の種類	水溶性老廃物の分解・除去	塩素使用/逆洗
砂式 (20~50ミクロン)	天然砂 アンサイト	無(物理濾過)	可 / 可
	多孔性の自然石 人造石	有(生物浄化)	不可 / 可
けいそう土式 (5ミクロン程度)	合成繊維膜と けいそう土	無(物理濾過)	可 / 不可
カートリッジ式 (10~15ミクロン)	糸巻き (合成繊維)	無(物理濾過)	可 / 不可
	プリーツ (ポリエステル不織布)	無(物理濾過)	可 / 可 (困難)

化式でない場合でも逆洗洗浄が不十分だったり、塩素消毒が連続でない、または不十分な場合は濾材にレジオネラやアメーバがヘドロとして定着し、レジオネラの供給源となる。濾材がこのような状態になるのを防ぐためには逆洗の洗浄時間を長くするなどして十分行い、濾材の汚れを徹底的に排出することである。汚れ中で微生物が増殖するからである。逆洗により排出できなかった汚れ中での微生物の増殖を抑えるため、常時遊離塩素を接触させたり、定期的に高濃度塩素(10 mg/ℓなど)を用いて逆洗するなどの追加管理も必ず必要になる。また、濾過装置の能力を超える汚れ負荷が濾過器にかかるのを防ぐため浴槽水のオーバーフローを行い浴槽水中の汚れをできるだけ排出することも大切である。濾過器に過剰な汚れの負荷がかかった場合、逆洗により汚れが排出できなくなることが予想されるからである。また、いったん微生物が付着すると粘着質のため逆洗では排出できなくなるので後述する化学洗浄が必要となってしまう。

2. 塩素消毒

浴槽水中の遊離塩素濃度を維持するように管理することは循環システム全体の管理につながるので重要なことである。遊離塩素濃度は浴槽水の pH が 8 以下であれば 0.2 mg/ℓ 以上とする。浴槽水の pH が高い場合は塩素が効かないわけではないが、その殺菌能力が低下するのでレジオネラ検査により殺菌効果を調べ、必要に応じて塩素濃度を高く(0.5~1.0 mg/ℓ)するなどして管理する必要がある。大切なことは入浴者数(ヒトの汚れ)や水の入れ替わりにより遊離塩素濃度が変化するので遊離塩素測定器(ジメチル・パラ・フェニレンジアミン(DPD)法)により、塩素濃度を頻回(1時間、2時間おきなど)に測定することである。塩素剤の添加により、一時的に湯が濁ったり、発泡することがある。これは浴槽

水の循環系統内にバイオフィームが存在するため、バイオフィームが除去されればこの現象は治まることが経験的に知られている。また、浴槽水の塩素臭は循環系内にヒトの汚れやバイオフィームがある場合、塩素の反応残留物のため強くなる傾向があることも知られている。循環系が清浄な場合は塩素臭が比較的弱くなる。

3. バイオフィーム

配管や機器(濾過器、熱交換器、ポイラーなど)内部にバイオフィームが付着していると浴槽をいくらきれいにしても、水の循環によりバイオフィーム中に棲息するレジオネラが供給される。浴槽壁をブラシなどによって物理的に清掃することは大切であるが、パイプ壁の物理的清掃は困難である。これらのバイオフィームを除去するためには次亜塩素酸や過酸化水素などの薬品による化学洗浄を行う。但し、過酸化水素は医薬用外劇物であり、取り扱いに注意を要するので、洗浄作業は専門業者に依頼しなければならない。

その他にレジオネラの増殖しやすい設備として浴槽オーバーフロー回収槽、湯温調節箱、原泉貯槽、貯湯タンクなどがある。これらの設備内にバイオフィームを生成させないため、定期的な清掃が最も大切である。オーバーフロー回収槽や湯温調節箱では清掃に加え塩素剤を循環系とは別途に添加することなどが行われる。原泉貯槽、貯湯タンクではレジオネラが生存できない60℃以上に水温を維持することが大切である。

入浴施設の衛生管理とレジオネラ検査

温泉、公衆浴場などの浴槽水は循環方法や濾過方法などが施設によって異なるし、これまでの維持管理の程度によって循環系の汚れの程度は千差万別である。厚生労働省から発行されているマニュアルを幹として個々の施設にあった衛生管理方法を施設の管理者自ら

が模索し、作り上げなければならない。そのための有用な情報を与えてくれるのが浴槽水のレジオネラ検査の結果である。このことについて最後に述べたい。

「公衆浴場における水質基準等に関する指針」(平成12年12月15日)により浴槽水では「レジオネラ属菌は10 CFU/100 ml 未満であること」とされた。これは現行の検査法(検水100 ml を最終的に1 ml に遠心または濾過濃縮し、その0.1 ml を培地に接種する)では浴槽水からレジオネラが検出されてはいけない(不検出)ということの意味している。しかし、「不検出」を「存在しない(棲息していない)」と勘違いしてはいけない。レジオネラは人工培地上では6時間で分裂し、2倍になる。菌の経時的増殖(理論値)を考えた場合、検査時に「不検出」レベルである5 CFU/100 ml でも6時間後には検出レベルである10 CFU/100 ml に増殖し、1週間後には約 1.3×10^9 CFU/100 ml に増殖する。通常、レジオネラ検査の結果が手元に届くには2週間程度かかるので、2週間前に「浴槽水のレジオネラが不検出であった」という検査結果は現在の浴槽水中のレジオネラ汚染の程度を保証するものではない。1ヶ月前の検査で浴槽水のレジオネラが不検出であった入浴施設でレジオネラ症が発生しても何の不思議も無いことは、菌の増殖能力を理解すれば容易であると思う。また、上記の水質基準に関する指針では「レジオネラ属菌の検査は一過式浴槽水や毎日完全換水型浴槽水では1年に1回以上、連日使用型の循環式浴槽水では1年に2回以上、但し、塩素処理以外の殺菌法の場合は1年に4回以上」と検査頻度も明記されている。1週間で条件が揃えば浴槽水100 ml あたり13億に増える能力のある菌の検査が1年に1回から4回でよい(基準を満たす)という指針の意味するところは何であろうか。入浴施設でのレジオネラ症を防止するというのが指針の

目的とすれば、指針の検査頻度が少な過ぎるのは明らかである。つまり、この指針の意味するところはレジオネラ症を防止するというのではなく、「浴槽水のレジオネラが不検出であるレベルの衛生管理を行いなさい」ということなのである。レジオネラは単なる衛生管理の指標菌の1つに過ぎず、そういう意味では大腸菌群と同じである。ただ、衛生管理が悪いとヒトに致死性の肺炎を引き起こす原因菌であるので大きな社会問題となっている。施設の衛生管理責任者にはこの水質基準の指針を正しく理解していただきたいと思う。指針の正しい理解に基づけばレジオネラ検査のための採水場所と時期は自ずと決まってくる。すなわち、浴槽水の均一に流れる代表的な場所で、施設利用者の多い時期(レジオネラの増殖しやすい時期)や換水直前(レジオネラ汚染が最も発見されやすい時期)が良いと考えられる。浴槽水のレジオネラ検査を頻回に行い、それらの結果を施設の衛生管理が旨くいつているかの確認や、もし不十分であった際(レジオネラが検出された場合)には管理の改善のための資料として有効に活用していただきたいと思う。それにより各自の施設の実状にあった「レジオネラが不検出であるレベルの衛生管理方法」が確立できると考えられる。レジオネラが不検出であるレベルの衛生管理方法を継続して実行していくことを「徹底した衛生管理」と厚生労働省・財日本公衆衛生協会は呼んでいる [29]。

おわりに

「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」の十分な理解が確実に効率の良い衛生管理方法を確立するための基礎と考え、レジオネラ及びレジオネラ症について微生物学、感染症学の立場から解説した。また、実際の作業レベルでの効果的なレジオネラ除菌対策についても概説した。厚生労働省・財

日本公衆衛生協会から発行されている“よく知ろう「レジオネラ症」とその防止対策”というパンフレット [29] は各自治体の保健所で入手可能である。是非このパンフレットを入手され、本解説のまとめとしてご覧頂きたいと思う。マニュアルの理解がさらに深まるからである。入浴施設の衛生管理者の方々には「浴槽水の臭いや肉眼的清浄度とレジオネラの存在は関係ない」ということを再認識して頂き、レジオネラ検査を施設の衛生管理の確認や改善の資料収集と位置づけて十分活用して頂きたいと思う。各自の施設にあった適正な衛生管理方法の確立にはそれが最も早い道であろう。労働者の福利厚生のための入浴

施設であるという原点を見つめ、「安全で快適な心の湯浴み」ができる施設の衛生管理を切望している。

謝 辞

レジオネラの細胞微生物学の世界にお導き頂き、御指導頂いた吉田真一先生(九州大学)と浴槽水管理の実務について御教授頂きました縣邦雄副所長(株式会社アクアス・つくば総合研究所)に感謝申し上げます。

本解説は平成14年度厚生労働科学研究費補助金(研究課題名：生活環境におけるレジオネラ感染予防に関する研究)の支援を受けた。

引 用 文 献

1. 国立感染症研究所・厚生省保健医療局結核感染症課 (2000): 病原微生物検出情報. 21(9) 247: 1-8
2. 藪内英子 (1996): 家庭用24時間風呂浴槽水の *Legionella pneumophila* 及びその他の細菌汚染. 日環感 11: 221-227
3. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W *et al* (1977): Legionnaires' disease. Description of an epidemic of pneumonia. N Engl J Med 297: 1189-1197
4. Brenner DJ, Steigerwalt AG & McDade JE (1979): Classification of the Legionnaires' disease bacterium: *Legionella pneumophila*, genus novum, species nova, of the family *Legionellaceae*, familia nova. Ann Intern Med 90: 656-658
5. 宮本比呂志, 吉田真一 (1998): レジオネラ属菌の菌種・菌株による病原性の差異. 臨床と微生物 25: 17-23
6. 厚生省生活衛生局企画課(監修)(1999): 新版レジオネラ症防止指針. ビル管理教育センター 東京 pp 37-84
7. 古畑勝則 (1997): 水環境におけるレジオネラ属菌の生息状況. 防菌防黴 25: 369-377
8. 吉田真一, 宮本比呂志, 小川みどり (1995): レジオネラ属菌の比較生物学-宿主との相互関係を中心として-. 日本細菌学雑誌 50: 745-764
9. Wadowsky RM, Wolford R, McNamara AM & Yee RB (1985): Effect of temperature, pH, and oxygen level on the multiplication of naturally occurring *Legionella pneumophila* in potable water. Appl Environ Microbiol 49: 1197-1205
10. Tison DL, Pope DH, Cherry WB & Fliermans CB (1980): Growth of *Legionella pneumophila* in association with blue-green algae (cyanobacteria). Appl Environ Microbiol 39: 456-459
11. Bohach GA & Snyder IS (1983): Cyanobacterial stimulation of growth and oxygen uptake by *Le-*

- Legionella pneumophila*. Appl Environ Microbiol 46: 528–531
12. Wadowsky RM, Butler LJ, Cook MK, Verma SM, Paul MA, Fields BS, Keleti G, Sykora JL & Yee RB (1988): Growth supporting activity for *Legionella pneumophila* in tap water cultures and implication of Hartmannellid amoebae as growth factors. Appl Environ Microbiol 54: 2677–2682
 13. Wadowsky RM & Yee RB (1983): Satellite growth of *Legionella pneumophila* with an environmental isolate of *Flavobacterium breve*. Appl Environ Microbiol 46: 1447–1449
 14. Wadowsky RM & Yee RB (1985): Effects of non-*Legionellaceae* bacteria on the multiplication of *Legionella pneumophila* in potable water. Appl Environ Microbiol 49: 1206–1210
 15. Stout JE, Yu VL & Best MG (1985): Ecology of *Legionella pneumophila* within water distribution system. Appl Environ Microbiol 49: 221–228
 16. Yee RB & Wadowsky RM (1982): Multiplication of *Legionella pneumophila* in unsterilized water. Appl Environ Microbiol 42: 1330–1334
 17. 古畑勝則 (2002): レジオネラ汚染対策におけるアメーバの重要性. 防菌防黴 30: 217–223
 18. 柳田友道 (1984): 生態系における微生物群集の動態. 微生物科学 4 学会出版センター 東京 pp 3–104
 19. Walker JT, Roberts AD, Lucas VJ, Roper MA & Brown RG (1999): Quantitative assessment of biocide control of biofilms including *Legionella pneumophila* using total viable counts, fluorescence microscopy, and image analysis. Methods Enzymol 310: 629–637
 20. Rogers J, Dowsett AB, Dennis PJ, Lee JV & Keevil CW (1994): Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in a model potable water system containing complex microbial flora. Appl Environ Microbiol 60: 1585–1592
 21. 藤井 潤, 有馬恵子, 宮本比呂志, 吉田真一 (1996): レジオネラ感染症の基礎と対策—特に作業環境管理の立場から—. 産業医科大学雑誌 18: 61–76
 22. Gao LY, Harb OS & Abu Kwaik Y (1997): Utilization of similar mechanisms by *Legionella pneumophila* to parasitize two evolutionarily distant host cells, mammalian macrophages and protozoa. Infect Immun 65: 4738–4746
 23. Segal G & Shuman HA (1999): *Legionella pneumophila* utilizes the same genes to multiply within *Acanthamoeba castellanii* and human macrophages. Infect Immun 67: 2117–2124
 24. 森 正道, 星野啓一, 園田久子, 他 (1995): *Legionella pneumophila* serogroup 7 による Pontiac fever の集団発生例 I 臨床所見. 感染症誌 69: 646–653
 25. Irie M, Miyamoto H, Nagata S, Ikeda S & Yoshida S (2000): Bio-psycho-ecological risk factors for *Legionella* infection among Japanese 24-hour hot water bath users and non-users. J Occup Health 42: 205–212
 26. 国立感染症研究所 (2002): Infectious Disease Weekly Report Japan. 感染症の話 (レジオネラ症). 4(12) <http://www.idsc.nih.go.jp/index-j.html>
 27. 塩田量子, 武下公子, 山本公三, 今田和子, 藪内英子, 王 笠 (1995): 温泉浴槽内溺水後の肺炎患者から検出された *Legionella pneumophila* SG3 について. 感染症誌 69: 1356–1364
 28. Miyamoto H, Jitsurong S, Shiota R, Maruta K, Yoshida S & Yabuuchi E (1997): Molecular determi-

nation of infection source of a sporadic *Legionella* pneumonia case associated with a hot spring bath. *Microbiol Immunol* 41: 197–202

29. 厚生労働省・(財)日本公衆衛生協会 (2000): よく知ろう「レジオネラ症」とその防止対策. 社会保険研究所 東京 pp 1–6

Prevention Measures Against *Legionella* Infection in a Circulating Hot Water Bath

Hiroshi MIYAMOTO

Department of Microbiology, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health, Japan. Yahatanishi-ku, Kitakyushu 807-8555, Japan

Abstract: For the sake of water conservation, a system for circulating hot water is widely used at public baths in Japan. Recently, large outbreaks of *Legionella* infection have occurred in public baths in Miyazaki and Kagoshima prefectures. More than three hundred persons were infected with *Legionella pneumophila*, and eight died. These outbreaks revealed that the Manual of Prevention Measures against *Legionella* Infection in a Circulating Hot Water Bath, which was published by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan in 2001, was not fully understood or conformed to by managers of the baths. Microbiological features about legionellae should be fully understood for prevention of *Legionella* infection in a circulating hot water or spring bath. This review describes the microbiological characteristics of legionellae, their habits in the environment, pathogenesis, symptoms of *Legionella* infection, and disease outbreaks in Japan. I also describe practical prevention measures to deal with this organism in a circulating hot water or spring bath.

Key words: *Legionella pneumophila*, pneumonia, hot spring, disinfection, bath.

J UOEH 25 (1): 61–77 (2003)