

平成 28-30 年度厚生労働科学研究費補助金
健康安全・危機管理対策総合研究事業
「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」
分担研究報告書

「入浴施設及び医療機関におけるレジオネラ汚染実態調査」

研究分担者	黒木俊郎	岡山理科大学
研究分担者	泉山信司	国立感染症研究所
研究協力者	縣 邦雄	アクアス株式会社技術顧問
研究協力者	大屋日登美	神奈川県衛生研究所
研究協力者	陳内理生	神奈川県衛生研究所
研究協力者	鈴木美雪	神奈川県衛生研究所
研究協力者	政岡智佳	神奈川県衛生研究所
研究協力者	中嶋直樹	神奈川県衛生研究所

研究要旨

汚染予防対策を確立することを目的として、入浴施設の浴槽、カラン並びにシャワー及び医療機関の給水系及び給湯系におけるレジオネラ汚染の実態調査を行った。

神奈川県内の 1 入浴施設において、カラン及びシャワーにレジオネラ属菌による継続的な汚染が検出された。そこで、施設により対策を講じられ、その効果を検証した。カラン・シャワーの営業前の流水とシャワーヘッドの消毒ではレジオネラ属菌の汚染を取り除くことはできなかった。続いてカランおよびシャワーの交換を行ったが、検査によりレジオネラ属菌が検出された。さらに、高置貯湯槽とカラン・シャワー及びその間の配管に高濃度塩素消毒を施したところ、レジオネラ属菌は培養にて検出されなくなった。しかし、この効果は持続しなかったため、高置貯湯槽に入る配管に塩素添加装置を設置し、貯湯槽と配管中の温水を消毒する対策を行った。消毒開始後の調査では、培養によりレジオネラ属菌が検出されたため、平成 30 年度に調査を行ったところ、再度レジオネラ属菌が検出された。医療機関については、平成 28 年度は医療機関の給水系・給湯系の状況及び給水系の理化学項目の測定結果とレジオネラ属菌による汚染の関連性を明らかにすることを試みた。その結果、関連性を明らかにすることはできなかった。医療機関の洗面台の蛇口は混

合栓が多く使用されているため、平成 29 年度は給水系と給湯系から別々に試料を採取して調査を行った。その結果、いずれもがレジオネラ属菌により汚染されていた。さらに、蛇口の初流水と 3L 流水後及び 3 分間（9L）流水後に採取した試料のレジオネラ属菌数及び従属栄養細菌数が減少していたことから、レジオネラ属菌及び従属栄養細菌が蛇口とその近辺の配管中で増殖していることが推測された。1 医療機関に塩素添加装置を設置し、レジオネラ汚染に対する塩素消毒の効果を検証した。別の医療機関では独自に添加装置を設置していたが、レジオネラ汚染があるため、塩素濃度の効果を検証した。装置の設置あるいは添加量の増加により給水系の遊離残留塩素濃度が上昇し、一定の効果は見られたが、汚染を完全に除くには至らなかった。フラッシング等の追加の効果が必要であることが示唆された。

医療機関の給水・給湯系におけるレジオネラ汚染問題に関するシンポジウムを平成 30 年に開催した。参加者に対してアンケート調査を実施し、レジオネラ汚染問題への認識ができた、新たな情報を得ることができた等の感想や要望が得られた。

A. 研究目的

本調査は、入浴施設の浴槽、カーン並びにシャワー及び医療機関の給水・給湯系におけるレジオネラ汚染の実態を調査し、汚染予防対策並びに感染症予防対策を策定するための基礎的情報を得ることを目的として実施した。調査の対象は入浴施設並びに医療機関の給水・給湯設備とした。

医療機関の給水・給湯系のレジオネラ汚染は、その実態を把握している医療機関において対策の実施等に関する関心が非常に高い。一方で、その実態を把握していない医療機関の多くは、給水・給湯系がレジオネラ属菌により汚染されるリスクが存在することさえ認識していない。そ

こで、医療機関の給水・給湯系のレジオネラ汚染問題の存在を広く周知するとともに、問題の解決に向けた活発な議論を展開する場を設けることを目的として、シンポジウムを開催した。

B. 研究方法

1) 試料の採取

調査の対象は、神奈川県内の 1 入浴施設及び 3 医療機関とした。

入浴施設では地下の貯湯槽と高置貯湯槽と、2 つの浴室のそれぞれについて浴槽水、湯口水及び蛇口とシャワーからの水を試料として採取した。採取した試料の処理等については各年度の報告書に記載した。

医療機関では、洗面台等の蛇口水、受水槽水を水試料として採取した。採取方法や測定項目は各年度の報告書に記載した。

2) 理化学項目の測定

水質とレジオネラ汚染の関連性を解析するために、医療機関及び建築物の蛇口水と受水槽から採取した水試料を対象に、理化学項目を常法により測定した。測定法の詳細は平成28年度報告書に記載した。

3) レジオネラ属菌の分離

試料は直径 47mm、孔径 0.2 μ m のポリカーボネートメンブランフィルターでろ過し、5ml の 50 倍希釈 PBS で再浮遊した。試料の浮遊液は 0.5ml を 50、20 分の加熱処理を行った。別の 0.5ml に同量の pH2.2 緩衝液を加え、4 分間酸処理した。未処理の試料及び処理後の浮遊液を 50 倍希釈 PBS で 10 倍段階希釈し、原液と 10 倍および 100 倍希釈液の各 100 μ l を MWY 寒天平板培地 (Oxoid) 及び GVPC 寒天平板培地 (日水製薬) に塗抹し、36 で 7 日間培養した。*Legionella* 属菌を疑う集落を BCYE α 寒天平板培地 (Oxoid) に転培し、性状により鑑別を行った。

4) LAMP 法によるレジオネラ属菌遺伝子の検出

LAMP 法によるレジオネラ属菌遺伝子の検出は、Loopamp レジオネラ検出試薬キット E (栄研化学) によ

り行った。メンブランフィルターでろ過濃縮後、5ml の 50 倍希釈 PBS で再浮遊した試料に対して、キット添付の説明書に従って実施した。

5) レジオネラ属菌の同定

調査試料から分離されたレジオネラ属菌は、LEG (genus *Legionella* 16S rRNA gene) および *Lmip* (*L. pneumophila* macrophage infectivity potentiator gene) のプライマーを用いた PCR によりレジオネラ属菌と *L. pneumophila* であることを決定した。さらに、型別用血清 (デンカ生研) より種の鑑別を行った。

6) 従属栄養細菌数

医療機関から採取した水試料を 50 倍希釈 PBS で 10 倍段階希釈し、原液及び各段階の試料の 1.0ml を R2A 寒天培地 (BD) に接種し、混釈培養法により 25 で 7 日間培養した。培養後、集落数を計数した。

7) 給水系への次亜塩素酸ナトリウム添加実験

調査対象とした 3 医療機関のうち、1 医療機関において、平成 28 年度から給水系のレジオネラ汚染対策として、給水系に次亜塩素酸ナトリウムを添加した。

8) *L. pneumophila* 計数用キットの評価

海外において、水道水における *L. pneumophila* 汚染を簡易に検出し、

計数も可能であるキットが市販されている。医療機関の給水系を対象にして、キットの評価を行った。

9) シンポジウムの開催

医療機関の給水・給湯系におけるレジオネラ属菌の汚染問題を扱ったシンポジウムを企画し、開催した。

C. 結果及び考察

1) 入浴施設

調査対象とした入浴施設は、2015年11月17日から汚染実態調査を継続的に行った。対策として毎日、カランとシャワーの営業前の流水と定期的なシャワーヘッドの塩素による消毒を行ったが、2016年3月17日にレジオネラ検査によりカランとシャワーからレジオネラ属菌が検出された。次に、カランとシャワーの新品の交換を合わせて実施したが、2016年7月26日のレジオネラ検査ではレジオネラ属菌の除去はできていなかった。そこで、さらに専門業者による高置水槽からカランとシャワーまでの配管の高濃度塩素を用いた消毒を実施したところ、2016年11月2日のレジオネラ検査ではレジオネラ属菌DNAは検出されたが、培養では菌は検出されなかった。その後、経過観察として2017年2月28日と5月9日にレジオネラ検査を行ったところ、培養によりレジオネラ属菌が検出された。

当該施設は、源泉からの原湯を地下の貯湯槽に受け、高置水槽に上げ

て、そこからカランやシャワーに配水している。原湯は約60あり、カランとシャワーでは原湯と水道水を混合して温度を調整している。水道水は公共水道で、塩素濃度は0.5mg/Lで供給されている。そこで、地下の貯湯槽と高置貯湯槽の間に次亜塩素酸ナトリウム添加装置を設置して給湯水を消毒する対策を行った。この対策の効果を検証するために、2018年1月30日及び10月2日に採水し、レジオネラ属菌等の検査を実施した。その結果、給湯栓及びシャワーから採取した試料からレジオネラ属菌が検出された。夜間や休日に高置貯湯槽とその先の配管中の温度が低下するとともに遊離残留塩素濃度が低下する、あるいは次亜塩素酸ナトリウムの添加が不十分等の原因となってレジオネラ属菌が増殖したと推測された。

2) 医療機関

調査に協力いただいた神奈川県内の3か所の総合病院(A、B、C)を対象とした。

平成28年度は3医療機関と1研究機関の給水系の試料を対象に、理化学項目の測定を行い、レジオネラ汚染との関連性を解析したが、関連が見られる項目は見いだせなかった。

医療機関Aでは次亜塩素酸ナトリウムの添加装置を設置することの効果、また医療機関Bでは既に添加装置が設置されていたので、その添加量を増やすことによる遊離残留塩素

濃度の上昇のレジオネラ汚染に対する効果の検証を行った。

医療機関 A では手術室の手指洗浄場ではレジオネラ属菌が検出されなかったことから、次亜塩素酸濃度を上げたことの効果があったと考えられる(表 2)。その他の地点でもレジオネラ属菌数が減少していることから、添加量の増加の効果が表れたと思われる。定期的なフラッシングを実施することで効果がさらに上がることが期待された。

医療機関 B では、給水系の塩素濃度を上げたことにより遊離残留塩素濃度が上昇したが、レジオネラ属菌が検出された場所は減少せず、また菌数も減少しなかった。次亜塩素酸ナトリウム添加量を増やしたにもかかわらず、初流水の塩素濃度は 0.2mg/L 前後あるいはそれ以下であったことから、蛇口の使用頻度が低いことが原因である可能性が推定された。また、給湯系では 3L 流水後も水温が 50 に達しておらず、これも使用頻度が低いことが推測された。

浴室からはレジオネラ属菌は全く検出されなかったが、給水系の初流水の遊離残留塩素濃度は 0.4mg/L 前後であり、給湯系は 3L 流水後の水温が 55 であったことから、使用頻度が高いことが推測された。

医療機関 C は、末端給水栓の遊離残留塩素濃度を 0.9mg/L となるように添加量を設定し、さらに全病室の蛇口から毎日 1 分間のフラッシングを行う対策を実施している。平成 30

年度の調査ではレジオネラ属菌が検出されたのは 26 か所 32 試料のうち 2 か所から少数の *L. pneumophila* が検出されたにとどまった。給水系からレジオネラ汚染を完全に取り除くことはかなり困難であることが示されているが、感染のリスクを確実に減少させていると思われる。

3) *L. pneumophila* 計数用キットの評価

平成 30 年度に医療機関 B 及び C の試料を用いて、*L. pneumophila* 計数用キット(レジオラート:アイデックスラボラトリーズ)による *L. pneumophila* の評価を試みた。*L. pneumophila* 以外の菌種(*L. anisa* 及び *Legionella* sp.) では菌数が $10^2 \sim 4$ であるにもかかわらずキットが陽性を示さなかったことから、特異性が高いことが示された。一方、*L. pneumophila* が検出されたにもかかわらずレジオラートが陽性反応を示さなかったのは検出菌数が 10 CFU/100ml と低かったことから、不一致が生じたものと思われた。

4) 講演会・シンポジウムの開催

医療機関の給水・給湯系におけるレジオネラ汚染問題の現状と課題を周知し、解決のための議論の場を提供することを目的として、講演会・シンポジウム「医療機関の給湯・給水系に潜むレジオネラ感染リスク - 実態と予防策 - 」を平成 30 年 10 月 27 日に国立感染症研究所にて開

催した。

D.まとめ

3年間の研究期間において、継続的に入浴施設及び医療機関の給水系及び給湯系を対象にしてレジオネラ汚染状況の調査を実施した。レジオネラ汚染の原因は使用頻度の低い蛇口や配管における遊離残留塩素濃度の低下、給湯系における配管中の温度の低下が推測された。こうした汚染に対して種々の対策を検討してきたが、効果が限定的であり、完全に汚染を除去するには追加の対策が必要であると推測された。今後さらに検討すべき対策として、使用頻度の低い蛇口での流水（フラッシング）、塩素濃度・温度の維持、定期的な配管の消毒、使用頻度の低い蛇口の廃止、レジオネラ対策を踏まえた系の設計・管理等が挙げられる。さらに汚染状況の把握と対策の検証を行い、効果的な対策の追及を行っていく必要があると考えられる。

E. 研究発表

T Kuroki, Y Watanabe, H Teranishi, S Izumiyama, J Amemura-Maekawa, F Kura (2017): Legionella prevalence and risk of legionellosis in Japanese households. *Epidemiology and Infection* 145(7):1398-1408.

T Kuroki, J Amemura-Maekawa, H Ohya, I Furukawa, M Suzuki, T Masaoka, K Aikawa, K Hibi, M Morita, K Lee, M Ohnishi, F Kura (2017): Outbreak of Legionnaire's disease caused by *Legionella pneumophila* serogroups 1 and 13. *Emerging Infectious Diseases* 23(2):349-351.

大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、中嶋直樹、古川一郎、前川純子、倉文明、泉山信司、黒木俊郎 (2018): 医療機関の給水設備におけるレジオネラ属菌の汚染実態 *日本感染症学雑誌* 92:678-685.

F. 知的財産権の出願・登録状況 該当なし