日本の温泉水中の *Legionella* 属菌の分布

大阪市立大学医学部細菌学教室, *岐阜大学医学部第二内科

藪内 英子 王 笠 荒川 迪生* 矢野 郁也

(平成 5 年 12 月 6 日受付)

(平成 5 年 12 月 16 日受理)

Key words: hot spring, legionellae

序 文

外国では *Legionella* 属菌に汚染された whirlpool spa でのレジオネラ症患者の集団発生が報告されてきた^{1)~5)}。我が国では、飲酒後に温泉に入って浴槽内で転倒し湯水を誤嚥し 3 日後に肺炎を発病した 60 歳男性患者が報告された⁶⁾。この患者は血清抗体価の有意上昇により *Legionella pneumophila* 血清群 IV による肺炎と診断され、その約 2 カ月後に、患者が誤嚥した浴槽の湯から *L. pneumophila* 血清群 IV が検出された。このことから我々は日本国内の温泉浴槽水を対象に *Legionella* 属菌の定量培養を行い、その分布状況を調べた。

材料と方法

検査対象としたのは、北海道 8、群馬 2、長野 9、新潟 6、石川 3、神奈川 1、静岡 3、山梨 1、兵庫 2、岡山 1、島根 1、大分 2、および熊本 1 の 1 道、12 県にわたる 40 温泉であった。容量 500ml のねじ栓付きポリスチレン製滅菌瓶に検水を採取して pH を測定し、その 200ml を冷却遠心で 200 倍に濃縮し、等量の 0.2M HCl・KCl バッファー (pH 2.2) を加えて混合した。25℃ に 4 分間おいたのち、その 100 μ l を Wadowsky-Yee-Okuda (WYO) α 培地 (栄研化学) 2 枚に塗布し、37℃ で好気培養した。

培養 7 日目に *Legionella* 属菌と思われる集落

数を算定した。集落は最大 10 個まで釣菌しグラム染色性、L-システイン要求性、馬尿酸水解能をしらべ、レジオネラ診断用特異抗血清 (デンカ生研) を用いたスライド凝集反応で菌種を同定した。これらの方法で菌種が同定出来なかった菌株に対してはマイクロプレート DNA-DNA ハイブリダイゼーション・キット (小林製薬) で同定を試みた。

成 績

40 温泉のうち、*Legionella* 属菌が検出されたのは北海道 4、新潟 3、石川・静岡の各県がそれぞれ 2、長野・兵庫・岡山・島根・大分・熊本の各県が各 1 の計 17 温泉 (42.5%) であった。17 温泉中、16 温泉からの菌株は *L. pneumophila* と同定された。DNA・DNA ハイブリダイゼーション・キットを用いても同定出来なかった *Legionella* 属菌は、残りの 1 温泉 (北海道) からは単独で、他の 1 温泉 (大分県) からは *L. pneumophila* 血清群 I および V とともに検出された (Table 1)。

北海道から熊本までの 10 温泉からの分離菌株はそれぞれ *L. pneumophila* 血清群 I から VI の抗血清の何れか 1 つに凝集したが、その他に 2 つまたは 3 つの抗血清に交差凝集を示す菌株が混在した温泉が 5 カ所あった。さらに、血清群 I ~ VI の *L. pneumophila* 抗血清に凝集しない菌株が V 群菌とともに検出された温泉も 1 カ所あった。温泉水 100ml 当たりの *Legionella* 属菌数は 10^3 が 1 件、 10^2 台と 10^1 台がそれぞれ 8 件であった (Table 1)。

Table 2 に示すように、温泉水の pH は 2.0 以上 8.0 未満であったが、6.0 以上 8.0 未満が 32 温泉と全

Table 1 Viable number of legionellae in the bath water of 17 hot springs

No.	Location	pH	Specis	Serogroup	CFU/100ml
1	Niigata	6.54	<i>L. pneumophila</i>	I	310
2	Hyogo	5	<i>L. pneumophila</i>	II	90
3	Hokkaido	7.32	<i>L. pneumophila</i>	II	60
4	Okayama	6.8	<i>L. pneumophila</i>	III	60
5	Niigata	5.75	<i>L. pneumophila</i>	III	250
6	Nagano	7.4	<i>L. pneumophila</i>	IV	1,000
7	Ishikawa	6.48	<i>L. pneumophila</i>	V	250
8	Hokkaido	7.86	<i>L. pneumophila</i>	V	460
9	Kumamoto	7.93	<i>L. pneumophila</i>	V	610
10	Shizuoka	7.1	<i>L. pneumophila</i>	IV	70
11	Oita	7.55	<i>L. pneumophila</i>	I, V, *	50
12	Ishikawa	6.53	<i>L. pneumophila</i>	I, IV	270
13	Hokkaido	7.18	<i>L. pneumophila</i>	III, IV	20
14	Shimane	7.2	<i>L. pneumophila</i>	III, V, VI	200
15	Shizuoka	8.21	<i>L. pneumophila</i>	IV, V, VI	850
16	Niigata	6.85	<i>L. pneumophila</i>	V, NA	30
17	Hokkaido	7.77	<i>Legionella</i> sp.	—	20

NA : nonagglutinable

**Legionella* sp.

Table 2 The pH and legionellae-positive rate among 40 hot springs

pH	No. of hot springs tested	No. of legionellae-positive hot springs(%)
2.05 - 2.07	2	0
4.5 - 4.77	2	0
5.0 - 5.75	3	2
6.02 - 6.99	13	5(38.5)
7.1 - 7.98	19	9(47.4)
8.21	1	1
Total	40	17(42.5)

体の80%を占めた。*Legionella* 属菌陽性率は pH 6 台の温泉では5/13(38.5%), pH 7台の温泉では9/19 (47.4%) と高率であった。pH 5台と 8 台の温泉水からも *L. pneumophila* が検出されたが、対象温泉の数が少ないので陽性率は示さなかった。全体の陽性率は42.5%であった。

考 察

今回、無作為に入手した温泉水を調べた結果、四国と沖縄以外の日本全国の温泉水に *Legionella* 属菌が生息していることを確認した。諸外国でレジオネラ菌が集団発生しているのはミストを生じる whirlpool spa である。これらの報告では spa の湯から遊離塩素が検出されなかった¹⁾こと、消毒剤の活性が spa の混雑時に低下していたと思

われる²⁾ことが指摘されているが、湯水中の *Legionella* 属菌数は明示されていない。Fallon と Rowbotham⁵⁾は whirlpool spa のフィルターでのアメーバの増殖と、この集団発生の原因菌 *L. micdadei* のアメーバ内増殖を証明した。

whirlpool spa ではない日本の温泉でのレジオネラ肺炎症例は浴槽内での転倒という特別な要因があり、また浴槽水の *L. pneumophila* の菌数も報告されていない⁶⁾。しかし温泉の湯の温度は一般に41~42℃でこの属の菌の育成に適しており、日本でも気泡浴を併設するなど浴槽の多様化が進んでいること、浴槽水循環装置の浄化殺菌能力の良否も勘案すると、温泉水での *Legionella* 属菌数の増加とそれに伴うレジオネラ症患者の多発が憂慮される。温泉愛好者は広い年齢層に亘っており、今後、何らかの方法で温泉水中の *Legionella* 属菌調査が系統的に実施されると共に、ミスト発生型の浴槽の数とその衛生管理の実態も明らかにされる事を期待する。

文 献

- 1) Spitalny, K.C., Vogt, R.L., Orciari, L.A., Withere, L.E., Etkind, P. & Novick, L.F.: Pontiac fever associated with a whirlpool spa. Am. J. Epidemiol., 120: 809-817, 1984.
- 2) Mangione, E.J., Remis, R.S., Tait, K.A., McGee,

- H.B., Gorman, G.W., Wentworth, B.B., Baron, P.A., Hightower, A.W., Barbaree, J.M. and Broome, C.V.: An outbreak of Pontiac fever related to whirlpool use, Michigan 1982. J.A.M. A., 253: 535—539, 1985.
- 3) Dutka, B.J. & Evans, P.: Isolation of *Legionella pneumophila* from Canada hot springs. Can. J. Public. Health, 77: 136—138, 1986.
- 4) Bornstein, N., Marmet, D., Surgot, M., Nowicki, M., Arslan, A., Esteve, J. & Fleurette, J.: Exposure to Legionellaceae at a hot spring spa: a prospective clinical and serological study. Epidem. Inf., 102: 31—36, 1989.
- 5) Fallon, R.J. & Rowbotham, T.J.: Microbiological investigations into an outbreak of Pontiac fever due to *Legionella micdadei* associated with use of a whirlpool. J. Clin. Pathol., 43: 479—483, 1990.
- 6) 浜柴晃一, 浜本龍生, 鳥飼勝隆: 温泉水の誤嚥により発症したと考えられるレジオネラ肺炎の1症例. 感染症誌, 67: 163—166, 1993.

Distribution of Legionellae in Hot Spring Bath Water in Japan

Eiko YABUUCHI, Li WANG, Michio ARAKAWA* & Ikuya YANO

Department of Bacteriology, Osaka City University Medical School

*Second Department of Internal Medicine, Gifu University School of Medicine