

[原 著]

冷却塔におけるレジオネラ属菌の検出状況について
—年間を通しての監視の必要性—中田一徳・橋本好司・小山田一法・宮崎雅秀・棚町千代子
糸山貴子・堀田吏乃・福島奈央・佐川公矯
久留米大学病院臨床検査部

(平成 17 年 3 月 3 日受付, 平成 17 年 6 月 10 日受理)

今回我々は、当院に設置されている冷却塔のレジオネラ属菌の生息状況および冷却塔にどのような血清型が生息しているのか疫学的調査を行ったのでその結果を報告する。調査期間は 2003 年 7 月から 2004 年 12 月、当院で通年稼働している冷却塔を対象として本属菌の調査を行った。本属菌の分離には、ろ過濃縮法を行った。冷却塔 13~18 号における本属菌の検出率は、22.2~94.4% であった。また調査期間中、108 回検査した中で検出菌数が 10^5 CFU/100 ml 以上に達したのが 2 回、 10^4 CFU/100 ml 以上であったのが 6 回であった。分離された血清型の割合は 1 群 (57.0%), 4 群 (2.5%), 6 群 (39.2%), 13 群 (1.3%), であった。今回の結果より、冬期にも本属菌が増殖する可能性があるため年間を通して冷却塔の監視を行い、その実態を把握しておくことは院内感染対策としては重要である。

Key words: レジオネラ症, 冷却塔, 血清型, 迅速診断キット

はじめに

レジオネラ属菌は 1976 年米国フィラデルフィアで開催された在郷軍人会において 221 名が原因不明の重症肺炎を発症、34 名が死亡した集団発生において新しい病原菌として発見された¹⁾。その後の調査でも多数の冷却塔水に本属菌が生息していることが明らかになり、レジオネラ症の感染源として冷却塔水の重要性が指摘されている^{2,3)}。わが国では 1981 年に斎藤ら⁴⁾ が初めてレジオネラ症を報告し、同年には柏木ら⁵⁾ により本邦初の院内感染集団発生事例も報告された。その後もレジオネラ症の症例報告^{6)~10)} が続いている。

本属菌は、土壌、河川、湖沼などの自然環境および温泉施設、冷却塔などの人工環境に広く生息しており、冷却塔に生息する本属菌は、生物膜（バイオフィ

ルム）中で増殖する¹⁾。ヒトは、これらの水から発生するエアロゾルを吸入することで感染する。また、本属菌は市中および院内肺炎の重要な原因菌の一つであり、病院に設置されている冷却塔は重要な感染源と言える。これまでにも、冷却塔からの本属菌の検出状況は多数報告されているが、本属菌の検出率が高い夏場での報告がほとんどで 1 年間を通して検出状況を報告した例は少ない。

そこで今回我々は、当院に設置されている冷却塔の本属菌の生息状況を 2003 年 7 月から 2004 年 12 月まで、毎月 1 回調査したので、その結果を報告する。

調査期間および方法

1) 調査期間および試料採取

調査期間は 2003 年 7 月から 2004 年 12 月、当院で稼働している冷却塔を対象として本属菌の調査を行った。対象とした冷却塔は全部で 6 棟、冷却塔 13~18 号について、毎月 1 回の調査を行った。

試料採取は、対象とした冷却塔より 500 ml の水を採取した。

2) レジオネラ属菌の分離および同定

本属菌の分離には、新版レジオネラ症防止指針¹⁾ に

著者連絡先: (〒830-0011) 福岡県久留米市旭町 67
久留米大学病院臨床検査部
中田一徳
TEL: 0942-35-3311 (内線 5445)
FAX: 0942-31-7760
E-mail: nakata_kazunori@kurume.u-ac.
jp

記載されている方法を参考にした。当検査室では、ろ過濃縮法を行っている。以下に当検査室で行っている基本的な検出手順を示す (Fig. 1)。採取した試料をフィルターで吸引ろ過し、滅菌生理食塩水 2.5 ml を加える。これに加熱処理と酸処理を施したものを前処理液とした。その 100 μ l を GVP α 寒天培地 (日研生物医学研究所) に塗抹し 35°C で湿潤培養し、1 日目、2 日目に発育したコロニーは白金耳にて取り除き、3 日目以降発育してきた青みを帯びた灰白色の湿潤集落について確認試験を行った。なお、疑わしい集落が見

られない場合は 7 日間湿潤培養を続けた。

本属菌の確認試験として、グラム染色を行うとともに、血液寒天培地 (日本ベクトンディッキンソン) と GVP α 寒天培地に 35°C で 3 日間純培養し、L-システイン要求性を確認した。菌体が細長いグラム陰性桿菌で GVP α 寒天培地のみに発育した菌を本属菌と推定した。また、*Legionella pneumophila* の補助試験として、馬尿酸加水分解試験を行った。

本属菌の同定には、被検菌を滅菌生理食塩水に混濁し、オートグレーブで 30 分滅菌処理し、遠心分離した沈渣をレジオネラ免疫血清 (デンカ生研) によるスライド凝集反応を行った。

3) 冷却塔の消毒

冷却塔の消毒については、検出菌量が 10⁴ CFU/100 ml 以上検出された冷却塔を対象として、その検査月の月末に次亜塩素酸の濃度が 2.0 ppm になるように添加した。消毒の効果は翌月の生菌数測定で判定した。

結 果

1) 各冷却塔のレジオネラ属菌の検出状況

18 カ月にわたり毎月調査を行った冷却塔 13~18 号における本属菌の検出状況を Table 1 に示した。検出率が高い順に、14 号 (17/18, 94.4%), 17 号 (16/18, 88.9%), 16 号 (15/18, 83.3%), 18 号 (14/18, 77.8%), 15 号 (6/18, 33.3%), 13 号 (4/18, 22.2%) であった。今回の調査期間中 13~18 号の冷却塔ではほぼ年間を通して検出された。

しかし、塩素消毒を行ったところ菌量は減少した。生菌数については、消毒後に増加は見られず 10⁴ CFU/100 ml 以下で安定した。

2) 分離株の血清型分布

分離菌株は全部で 79 株分離され、その血清型の割合を Table 2 に示す。血清型の詳細は 1 群 (45/79,

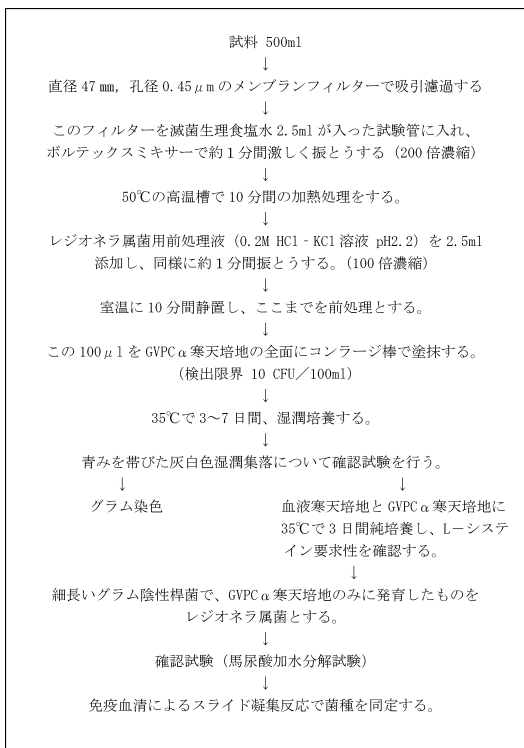


Fig. 1. Detection procedure of Genus *Legionella*.

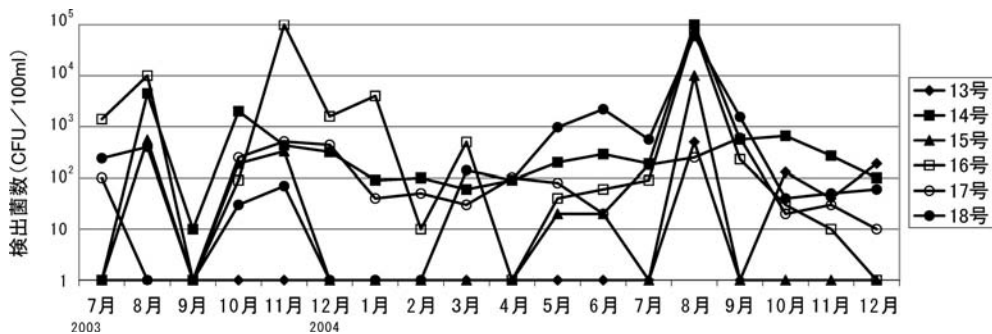


Fig. 2. Seasonal change of Genus *Legionella* detection in each cooling tower.

Table 1. Positivity rate of Genus *Legionella*.

冷却塔	検出回数/検査回数	陽性率 (%)
13号	4/18 カ月	22.2
14号	17/18	94.4
15号	6/18	33.3
16号	15/18	83.3
17号	16/18	88.9

57.0%), 4群 (2/79, 2.5%), 6群 (31/79, 39.2%), 13群 (1/79, 1.3%), であった。1群, 6群は調査期間中を通して検出されたが4群は2003年11月と12月のみ, 13群は2004年8月のみで検出された。

3) 各冷却塔の検出菌量

冷却塔13~18号の検出菌量の推移をFig. 2に示した。検出菌量が 10^4 CFU/100 ml以上に達したものは6回, そのうち指針で定められた要緊急処理範囲($\geq 10^5$ CFU/100 ml)を超えた検体は, 2003年11月16号と2004年8月14号の2回であった。

考 察

厚生省レジオネラ研究班が1979年から1992年までに報告した本邦レジオネラ肺炎患者86例の調査報告¹¹⁾では, 患者の平均年齢は58.7歳で院内感染は19例(24%)と少なかった。しかし, 致命率での比較では市中感染61例中16例(26%), 院内感染19例中10例(53%)で, 市中感染に比べ高かった。このことから, 病院に設置されている冷却塔の状況を把握しておくことは重要と思われた。

環境検査において検査結果をいかに評価するかであるが, 今回我々はレジオネラ症防止指針¹²⁾で冷却塔水を対象とした以下に示す表を参考にして評価を行った。

望ましい範囲	10^2 未満 CFU/100 ml
要観察範囲	$10^2 \sim 10^3$ 未満
要注意範囲	$10^3 \sim 10^5$ 未満
要緊急処理範囲	10^5 以上

上の表で評価すると要緊急処理範囲($\geq 10^5$ CFU/100 ml)を超えた検体は2003年11月16号と2004年8月14号の冷却塔で検出され, 血清型4群と1群であった。今回の調査で塩素消毒の対象としたのは, 検出菌量が 10^4 CFU/100 mlを超えた2003年11月の冷却塔16号と2004年8月の冷却塔14号, 15号, 16号, 18号, の5カ所である。それぞれ月末に消毒を行ったが, それ以降生菌数の増加は見られず良好な結果となった。このことから, 冷却塔の定期的な細菌

Table 2. Serotype of Genus *Legionella* detected in this study.

検体	菌 種	分離数	分離率 (%)	
冷却塔	<i>L. pneumophila</i>	1群	45	57.0
		4群	2	2.5
		6群	31	39.2
		13群	1	1.3
計		79	100.0	

検査の実施と生菌数の増加が認められた場合, 消毒を行うことにより生菌数は安定すると思われる。

今回調査した結果, 菌量に差はあるもののほとんどの冷却塔から本属菌が検出され, 当院の冷却塔にも広く生息している実態が明らかになった。通常, 本属菌の調査はこれまでに多数の報告^{13)~15)}があるように6月~10月の水温が上昇する時期に行う施設が多い。これは, 我々の調査結果とも一致し, 夏場は特に注意深く監視する必要があると再認識した。しかし, 冷却塔16号では, 寒冷期である11月に 10^5 CFU/100 ml以上の本属菌が検出されている。このことは, 本属菌が検出された冷却塔水をそのまま4°Cの低温室に置けば, 年余にわたって生存する¹⁾。との報告があるように冬季に冷却塔水が停滞している中でも本属菌は増殖可能であり, 今回の16号のように水温が10°C以下の状態でも本属菌は 10^5 CFU/100 ml以上検出される。そのため間歇運転するときに本属菌がエアロゾルとなって飛散することは十分に考えられ, 冷却塔を使用しない時期は冷却水を抜くことが重要と考える。また, 冷却水を抜くことができない施設では冬期にも本属菌が増殖する可能性があるため年間を通して冷却塔の監視を行い, その実態を把握しておくことは院内感染対策としては重要である。

血清型の検出状況は, 1群が約半数に検出された。これは全国の調査結果¹⁶⁾とも一致する所見であった。しかし, その他の血清型も少数だが検出されている。現在保険適応となっている本属菌の迅速診断キットは, 血清抗体価測定は1群のみ, 尿中抗原測定も1群以外には著しく感度が低い¹⁶⁾。しかし, 今回の調査結果から血清型1群以外に血清型4群, 6群, 13群が約40% 検出されている。これからもその他の血清型が検出される可能性は十分考えられる。実際に血清型7群による集団感染と思われる事例¹⁾も報告されているので, 現在の迅速診断測定キットでは見逃してしまう可能性が示唆されるため, 疑わしい患者の検体は本属

菌用の寒天培地を用いての培養が必要であると考え
る。

文 献

- 1) 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. (財)ビル管理教育センター, 東京.
- 2) 藪内英子. 1987. *Legionella*. 医学細菌学 2 卷. (三輪谷俊夫監修), p. 364-442, 菜根出版, 東京.
- 3) 藪内英子, 荒川迪夫. 1989. レジオネラ感染症, 1. レジオネラ症の現状と診断の進歩—疫学的見地から—. 細胞内増殖性菌による最近話題の感染症. (副島林造, 松本 明編), p. 297-316, 医療ジャーナル社, 大阪.
- 4) 斎藤 厚, 下田昭文, 長沢正夫, 他. 1981. 本邦で初めての Legionnaires' disease (レジオネラ症). 感染症誌 55: 124-128.
- 5) 柏木征三郎, 林 純, 原 寛, 他. 1981. 在郷軍人病の病院内発生. 日本医事新報 2986: 15-20.
- 6) 真柴晃一, 浜本龍生, 鳥飼勝隆. 1993. 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.
- 7) 徳田 均, 矢作直也, 笠井昭吾, 他. 1997. 公衆浴場での溺水後発症した *Legionella pneumophila* serogroup 6 による劇症肺炎の 1 例. 感染症誌 71: 169-174.
- 8) 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. 感染症誌 69: 646-665.
- 9) 岡崎美樹, 小出道夫, 斎藤 厚. 1998. 造園業者に発症した *Legionella longbeachae* 肺炎の 1 例. 感染症誌 72: 1076-1079.
- 10) 酒井英明, 赤井畑美津子, 新妻一直, 他. 2004. 乳児院におけるレジオネラ症の集団発生例. 感染症誌 78: 404-410.
- 11) 荒川迪夫, 稲松孝思, 江崎孝行, 他. 1993. 本邦レジオネラ肺炎患者について—1979 年から 1992 年まで—. 環境感染 8(2): 1-10.
- 12) (財)ビル管理教育センター. 1994. 厚生省生活衛生局企画課監修, レジオネラ症防止指針.
- 13) 佐藤俊郎, 高橋令子, 阿部公二, 他. 2002. レジオネラ属菌の温泉中における生息動向. 平成 14 年度全国環境衛生職員団体協議会事例研究発表会 (第 46 回全国環境衛生大会研究集会) において, 最優秀発表賞を受賞した研究論文の概要.
- 14) 糸数清正, 平良勝也, 中村正治, 他. 2002. 沖縄県における循環式浴槽水のレジオネラ属菌調査について. 沖縄県衛生環境研究所報 第 36 号.
- 15) 古畑勝則. 1998. 水環境におけるレジオネラ属菌の汚染と制御. 日食微誌 15(1): 1-9.
- 16) 病原微生物検出情報 Vol. 21, No. 9 (2000. 9. 15).

About the Appearance Situation of Genus *Legionella* in the Cooling Tower —Necessity of Watch through Year—

Kazunori Nakata, Kouji Hashimoto, Kazunori Oyamada, Masahide Miyazaki,
Chiyoko Tanamachi, Takako Itoyama, Rie Horita, Nao Hukushima,
Kimitaka Sagawa, MD

Department of Laboratory Medicine, Kurume University Hospital

In this study we investigated seasonal changes of Genus *Legionella* in the cooling towers of air-conditioners installed at Kurume University Hospital, using a filtration-concentration method. The study period was from July 2003 to December 2004. Serotypes of the *Legionella pneumophila* were also determined. We tested water obtained from 6 cooling towers each month for 18 months. The detection incidence of *Legionella pneumophila* was 22.2%, 94.4%, 33.3%, 83.3%, 88.9%, and 77.8%, respectively. We detected more than 10^5 CFU/100 ml *Legionella pneumophila* twice, and more than 10^5 CFU/100 ml *Legionella pneumophila* 6 times during the course of this study. Serotypes detected were type 1 (57.0%), type 4 (2.5%), type 6 (39.2%), and type 13 (1.3%). These results strongly suggest that it will be necessary to carefully monitor seasonal changes of *Legionella pneumophila* in the cooling towers of the hospital air-conditioners throughout the year to prevent an outbreak of *Legionella* infection in the hospital. Moreover, samples of suspected *Legionella*-infected patients should be studied by culture methods using appropriate agarose plates, because the rapid detection kit now widely used for Genus *Legionella* has a low sensitivity except for *Legionella pneumophila* serotype 1.