

大阪府内の特定建築物内水景施設におけるレジオネラ調査

枝川亜希子*¹ 中野 仁*¹ 東恵美子*¹ 奥村早代子*¹
安達史恵*¹ 松島加代*² 足立伸一*¹

噴水や人工滝などの水景施設は、適切な維持管理が実施されていなければレジオネラ症の感染源となる恐れがある。本研究では、大阪府内の特定建築物敷地内に設置されている水景施設を対象に、レジオネラ属菌などの微生物生息実態と水質状況について調査を行った。

28施設31試料について調査を行った結果、レジオネラは培養法で3試料 (9.7%、10~90CFU/100mL、*Legionella pneumophila* SG7、SG8、*L. anisa*) から検出した。LAMP 法は、16試料 (51.6%) が陽性であった。遊離残留塩素濃度が0.5mg/L 以上の試料からは、大腸菌、大腸菌群、レジオネラ、アメーバは検出されなかった。

キーワード：水景施設、レジオネラ、アメーバ、水質

key words : Amenity water facilities、*Legionella* species、Free-living amoebae、Water quality

水景施設は、人工的に造られた噴水や滝、池などの水環境で、公園、学校、ショッピングセンター、ホテルのロビーなど屋内外を問わず設置されている。これら施設の演出は、人が直接水と接触することができる形態や、施設周辺から離れて鑑賞する形態などがある。人が直接水に接触しない形態であっても、風向きの影響により飛散した水が人に触れる可能性があることから、これら水景施設に使用する水は、演出形態に関わらず衛生的に良好な水質を確保することが必要となっている。特に、エアロゾルを発生しやすい施設については、適切な維持管理が実施されていなければ、レジオネラ属菌 (以下、レジオネラ) の汚染によりレジオネラ症の感染源となる恐れがある。

本研究では、大阪府内の特定建築物敷地内に設置されている水景施設を対象に、レジオネラやその宿主となるアメーバなどの微生物類生息実態と水質状況を把握する目的で、水質調査を行ったので報告する。

調査方法

1. 調査対象施設及び調査期間

大阪府内の特定建築物敷地内に設置されている水景施設 28 施設 31 試料について調査を行った。調査期間は、2014 年 6~11 月であった。

2. 施設の概要及び検査項目

1) 施設の概要

施設の概要については、用途、設置場所、演出形態について、調査票による聞き取りを行った。

2) 検査項目

検査項目は、気温、水温、遊離残留塩素濃度、pH、臭気、外観、TOC、過マンガン酸カリウム (KMnO₄) 消費量、色度、濁度、一般細菌、大腸菌、大腸菌群、レジオネラ (培養法、LAMP 法)、アメーバとした。

3) 検査方法

理化学項目、微生物項目 (一般細菌、大腸菌、大腸菌群) の検査は、上水試験方法¹⁾に記載されている方法により行った。レジオネラについては、培養法及び LAMP 法を行った。培養法は、レジオネラ症防止指針²⁾に記載されている方法、LAMP 法は、Loopamp レジオネラ検出試薬キット E (栄研化学)³⁾を用い、プロトコールに従い行った。アメーバの検出は、培養

*¹大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部生活環境課

*²大阪府健康医療部環境衛生課

Investigation of *Legionella* Species from Amenity Water Facilities of Specified Buildings in Osaka Prefecture

by Akiko EDAGAWA, Hitoshi NAKANO, Emiko AZUMA, Sayoko OKUMURA, Fumie ADACHI, Kayo MATSUSHIMA and Shinichi ADACHI

法により行い、検出したアメーバは顕微鏡観察により形態学的同定を行った。その内、*Naegleria* 属についてはPCR法及びシーケンスにより遺伝学的に種の同定を行った⁴⁾。

結果

1. 施設の概要

水景施設 28 施設の概要について、表 1 に示す。用途は学校が 10 施設 (35.7%) と最も多く、次いで博物館が 6 施設 (19.4%) であった。設置場所は屋外が 20 施設 (64.5%)、半屋内が 6 施設 (19.4%)、屋内が 5 施設 (16.1%) であった。

表1 水景施設の用途と演出形態

用途	施設数	演出形態*			
		噴水	落水	流水	溜水
学校	10	2	2	3 (1)	3 (2)
博物館	6		2	4	
旅館	4		3	1 (1)	
店舗	3	2	1		
その他	5	2 (1)	2 (1)		1
計	28	6 (1)	10 (1)	8 (2)	4 (2)

* () 内数は自然観察施設数

2. 水質検査結果

31 試料の水質検査結果を表 2 に示す。採水時の気温は 23~39℃、水温は 20~33℃、pH は 1 試料 (No.9 : 3.1) を除き、6.1~8.7 であった。TOC は 1 試料 (No.9 : 36mg/L) を除き、0.3~9.1mg/L の範囲であった。

3. レジオネラとアメーバの検出

レジオネラ及びアメーバの検出について、表2及び表3に示す。レジオネラは、培養法により31試料のうち3試料 (9.7%) から検出した。検出菌数は10~90

CFU/100mLであった。検出菌種は、*L. pneumophila* SG7、SG8、*L. anisa*であった。LAMP法では、16試料 (51.6%) が陽性であった。アメーバは5試料 (16.1%) から *Naegleria* spp.、*Vannella* spp. などを検出し、アメーバ数は1~4PFU/mLであった。*Naegleria* spp.については、PCR法及びシーケンス法により種の同定を行った結果、*N. pagei*を検出した。レジオネラ又はアメーバを検出した6試料は、すべてLAMP法が陽性であった。

4. 遊離残留塩素濃度と微生物の関係

遊離残留塩素濃度別に大腸菌、大腸菌群、レジオネラ、アメーバ、一般細菌の培養陽性試料数及び一般細菌数を表4に示す。一般細菌以外の4項目については、残留塩素濃度が0.5mg/L以上の試料からは検出されなかった。残留塩素濃度0.5mg/L未満の試料は、一般細菌数が高い傾向がみられた。

表4 遊離残留塩素濃度と微生物の検出状況

遊離残留塩素濃度 (mg/L)	試料数	培養検査					陽性試料数	一般細菌数* (CFU/mL)
		大腸菌	大腸菌群	レジオネラ	アメーバ	一般細菌		
<0.05	14	5	7	3	4	8	(4.0×10 ² ~1.6×10 ⁶)	
0.05~<0.5	5	3	3	0	1	4	(9.0×10~1.3×10 ³)	
0.5~<1.0	2	0	0	0	0	1	(5.1×10 ¹)	
1.0~<1.5	3	0	0	0	0	3	(1.0×10 ⁰ ~1.7×10 ²)	
1.5~<2.0	1	0	0	0	0	0	—	
2.0 ≤	6	0	0	0	0	2	(1.0×10 ¹)	
計	31	8	10	3	5	18		

* (最小~最大)

考察

特定建築物敷地内の水景施設については、施設管理

表3 レジオネラ及びアメーバを検出した試料

試料 No.	レジオネラ			アメーバ	
	培養法 (CFU/100mL)	菌種・血清群	LAMP法	(PFU/mL)	種
16	90	<i>L. pneumophila</i> SG7, <i>L. anisa</i>	+	1	<i>Vannella</i> spp.
15	70	<i>L. pneumophila</i> SG7, <i>L. anisa</i>	+	0	
11	10	<i>L. pneumophila</i> SG8	+	4	<i>Naegleria pagei</i> , <i>Vannella</i> spp., Unidentified
2	<10		+	3	Unidentified
7	<10		+	1	Unidentified
29	<10		+	1	<i>Vannella</i> spp.

表2 水景水31試料の水質検査結果

試料 No.	用途	設置場所	演出形態	消毒方法	気温 (°C)	水温 (°C)	pH	臭気	外観	濁度 (度)	色度 (度)	TOC (mg/L)	KMnO ₄ 消費量 (mg/L)	遊離残留塩素 (mg/L)	一般細菌 (CFU/mL)	大腸菌	大腸菌群	レジオネラ属菌		アムパーバ (PFU/mL)
																		培養法 (CFU/100mL)	LAMP 法	
1	店舗	屋外	噴水	塩素	33	27	6.9	塩素臭	ほとんど無色透明	0.10	0.6	3.5	1.0	2.0<	0	-	-	<10	-	0
2	学校	半屋内	流水	未実施	26	22	6.1	弱塩素臭	ほとんど無色透明	0.12	1.1	0.3	1.0	0.2	9.0×10 ⁰	+	+	<10	+	3
3	学校	屋外	流水 落水	塩素	31	26	6.4	塩素臭	ほとんど無色透明	0.41	1.3	1.9	2.2	1.0	1.0×10 ⁰	-	-	<10	-	0
4	学校	半屋内	流水	無	29	24	7.6	微弱臭	ほとんど無色透明	0.46	2.1	0.7	2.2	<0.05	1.5×10 ³	+	+	<10	+	0
5	集会場	半屋内	噴水	塩素	28	23	7.1	弱塩素臭	ほとんど無色透明	1.46	3.7	4.6	8.1	0.2	1.3×10 ³	+	+	<10	+	0
6	旅館	屋内	落水	塩素	24	20	7.0	塩素臭	ほとんど無色透明	0.07	0.4	0.7	1.1	2.0<	1.0×10 ⁰	-	-	<10	-	0
7	旅館	屋外	落水	塩素	29	26	6.5	微弱薬品臭	ほとんど無色透明	2.86	1.3	2.7	5.5	<0.05	1.6×10 ⁶	-	+	<10	+	1
8*	集会場	屋外	落水	未実施	33	28	7.9	微弱臭	微弱黄褐色	1.06	2.2	1.4	9.0	<0.05	7.1×10 ²	+	+	<10	+	0
9	学校	屋外	噴水	塩素	35	32	3.1	強塩素臭	微弱黄褐色	0.65	1.5	3.6	1.0	2.0<	1.0×10 ⁰	-	-	<10	-	0
10	博物館	半屋内	流水	塩素	35	27	8.0	弱塩素臭	ほとんど無色透明	0.04	0.2	0.7	測定不能	1.3	1.0×10 ⁰	-	-	<10	-	0
11	博物館	屋外	流水	塩素	37	29	8.1	微弱薬品臭	ほとんど無色透明	0.34	0.9	1.0	測定不能	<0.05	7.5×10 ⁴	+	+	10	+	4
12	博物館	屋外	流水	塩素	33	29	7.6	微弱臭	ほとんど無色透明	0.04	0.2	1.2	0.7	2.0	1.0×10 ⁰	-	-	<10	+	0
13	博物館	屋外	流水	塩素	28	27	8.3	微弱臭	ほとんど無色透明	0.06	0.3	0.7	測定不能	0.3	8.6×10 ²	+	+	<10	-	0
14	博物館	屋外	流水 落水	塩素	38	33	8.1	弱塩素臭	ほとんど無色透明	0.05	0.3	1.0	測定不能	2.0<	0	-	-	<10	-	0
15	学校	屋内	落水	紫外線	23	27	7.0	ほとんど無臭	ほとんど無色透明	<0.01	0.3	0.7	1.9	<0.05	5.8×10 ²	-	-	70	+	0
16	学校	屋外	溜水	塩素	32	29	8.2	微弱臭	ほとんど無色透明	0.17	0.5	3.0	2.4	<0.05	4.4×10 ²	-	+	90	+	1
17*	旅館	屋内	流水	未実施	30	27	7.4	微弱臭	ほとんど無色透明	2.71	2.9	0.7	3.8	<0.05	5.4×10 ³	+	+	<10	-	0
18	旅館	屋内	落水	塩素	29	28	7.7	塩素臭	ほとんど無色透明	1.47	5.1	2.6	4.3	1.0	1.7×10 ²	-	-	<10	-	0
19	事務所	屋外	噴水	紫外線	29	26	7.8	微弱臭	ほとんど無色透明	1.32	2.3	1.8	5.1	<0.05	1.5×10 ⁴	+	+	<10	+	0
20	興行場	屋外	落水	塩素	28	22	7.6	微弱薬品臭	ほとんど無色透明	1.08	1.2	2.2	4.0	0.05	7.2×10 ¹	-	-	<10	+	0
21	博物館	半屋内	落水	塩素	33	31	7.6	微弱薬品臭	ほとんど無色透明	2.30	0.4	2.6	1.1	<0.05	8.6×10 ⁵	+	+	<10	-	0
22	学校	屋外	噴水	未実施	34	32	8.7	微弱臭	ほとんど無色透明	5.18	1.9	2.2	8.0	<0.05	7.3×10 ³	+	+	<10	+	0
23*	学校	屋外	流水	未実施	33	27	7.2	微弱臭	ほとんど無色透明	0.52	2.5	0.8	3.6	<0.05	5.8×10 ³	+	+	<10	+	0
24*	学校	屋外	溜水	未実施	33	29	7.1	弱臭	微黄褐色	5.03	3.0	9.1	32	<0.05	1.5×10 ⁴	+	+	<10	-	0
25*	学校	屋外	溜水	未実施	35	25	6.8	微弱臭	微弱黄褐色	3.12	1.3	3.8	14	<0.05	3.5×10 ³	+	+	<10	+	0
26	店舗	屋外	噴水	塩素	33	30	7.4	弱塩素臭	ほとんど無色透明	0.25	0.9	3.2	4.8	0.6	5.1×10 ¹	-	-	<10	+	0
27	事務所	屋外	溜水	塩素	32	31	8.2	微弱臭	ほとんど無色透明	0.45	5.1	1.7	測定不能	2.0	0	-	-	<10	-	0
28	博物館	屋外	流水	塩素	39	33	8.1	弱塩素臭	ほとんど無色透明	0.01	0.1	0.6	測定不能	1.5	0	-	-	<10	-	0
29	店舗	半屋内	落水	塩素	30	28	6.9	微弱臭	ほとんど無色透明	0.57	0.7	1.4	2.1	<0.05	4.0×10 ²	+	+	<10	+	1
30	学校	屋内	落水	紫外線	26	27	6.9	弱塩素臭	ほとんど無色透明	0.02	0.3	0.6	1.0	0.6	0	-	-	<10	-	0
31	学校	屋外	溜水	塩素	34	29	6.9	微弱臭	ほとんど無色透明	0.01	0.1	0.5	0.8	0.2	0	-	-	<10	-	0

*: 自然観察施設

者により衛生上必要な措置を行うなど、維持管理に努めなくてはならない。特に、エアロゾルが発生しやすい演出形態の施設については、レジオネラ症感染の危険性があるため衛生管理が重要となっている。国内におけるレジオネラ感染源は、浴槽水が多く報告されているが⁵⁾、国外においては水景施設を感染源とするレジオネラ症が報告されており⁶⁾、我が国においても同様の感染が危惧されている。

そこで今回、大阪府内の水景水 31 試料について調査を行った結果、レジオネラの培養法での検出率は9.7%、検出菌数は10~90CFU/100mLであった。大阪府が平成12年に実施した水景水38試料を対象とした調査⁷⁾では、検出率21.1%、検出菌数は17~6300CFU/100mLであったことから、これらと比較して本調査の検出率及び検出菌数は低かった。一方、LAMP法では51.6%が陽性であった。遺伝子を対象とした検査法は、生菌だけでなく死菌も含めて陽性となることから、LAMP法の陽性はレジオネラの痕跡も含めて示すものである。今回、対象とした水景水の半数以上にレジオネラ遺伝子が存在することが明らかになった。

アメーバの検出を行った結果、*Naegleria spp.* や *Vannella spp.* が検出された。アメーバを検出する試料からは、レジオネラが高率で検出されることが報告されている²⁾。今回の調査でも、検出されたアメーバ種は、これまでにレジオネラやその他細菌類の宿主となることが報告されている種であること⁸⁾、LAMP法でレジオネラが陽性であったことから、アメーバの存在がレジオネラ汚染に関連している可能性が考えられた。アメーバは環境中に広く生息し、多くの種は非病原性であるが、*Naegleria* 属の中にはヒトに対して強い病原性を有する *Naegleria fowleri* が存在する。今回1試料から検出された *Naegleria spp.* についてはPCR法を行い、それに続くシーケンスにより種の同定を行った結果、*N. fowleri* でないことを確認した。

有機物汚染の指標として、 KMnO_4 消費量とTOCを測定した。 KMnO_4 消費量は、水景水31試料のうち6試料(19.4%)において、分解後にシュウ酸ナトリウムを添加しても KMnO_4 の赤紫色が消えない(KMnO_4 が消費されていない)現象が生じ、測定が不能であった。 KMnO_4 消費量の測定については、塩素消毒剤に含まれる塩素酸イオンや臭素酸イオンの存在により、負の妨害が生じることが報告されている⁹⁾。そこで、今回調

査対象とした全試料について半定量的に塩素酸イオンを測定したところ、データは示していないが、 KMnO_4 消費量が測定不能であった6試料は他の試料と比較して高い測定値を示す一方で、TOCの測定値が低い傾向にあった。すなわち、本来試料の KMnO_4 消費量が低いことに加え、高濃度の塩素酸イオンによる負の妨害が生じ、測定が不能であったと考えられた。

一方、TOCについては、すべての試料について定量が可能であった。水道水の有機物汚染の指標は、2005年に KMnO_4 消費量からTOCに変更されている。浴槽水やプール水については KMnO_4 消費量が項目として挙げられているが、水景水については明確な記載はない。今回の調査結果からは、19.4%の試料で KMnO_4 消費量が測定不能であったこと、また、測定可能であった試料についても、塩素酸イオンの負の妨害により、実際の値より低く測定されている可能性が考えられることから、塩素による消毒を繰り返す水景水の有機物汚染の指標は、TOCの方が適していると考えられた。

pHについては、1試料(No.9)がpH3.1で酸性を示した。この施設に関しては、その後の聞き取り調査により消毒剤として塩素化イソシアヌール酸を使用していることが明らかになった。採水時の消毒剤の添加濃度は不明であるが、残留塩素濃度が2.0mg/L以上であること、TOCが35.7mg/Lと高い値を示していること、また強塩素臭であったことから、消毒剤の影響によりpHが酸性となっていたと考えられた。その他の試料については、水質項目で異常値を示すものはなかった。

遊離残留塩素濃度と微生物の関係については、レジオネラが検出された3試料は、遊離残留塩素が検出されなかった。また、レジオネラの宿主となるアメーバ類が検出された5試料のうち、1試料は遊離残留塩素濃度が0.2mg/Lであったが、その他の4試料は0.05mg/L未満であった。レジオネラは、環境中でアメーバに寄生し増殖する。宿主となるアメーバは、大腸菌などの細菌類を餌として生息するため、アメーバやその餌となる細菌類の抑制がレジオネラの抑制に重要である。今回、遊離残留塩素濃度が0.5mg/L以上の試料からは、大腸菌、大腸菌群、レジオネラ、アメーバは検出されなかった。一般細菌については、遊離残留塩素濃度が0.5mg/L以上の6試料からも検出されたが、全体として遊離残留塩素濃度0.5mg/L未満の試料は、一般細菌数が高い傾向がみられた。これらの結果は、遊離残留塩素

濃度が0.5mg/L以上を確保することが出来れば、微生物に対する抑制効果が得られることを示すものであり、レジオネラなどには、遊離残留塩素濃度の管理が重要であることが示唆された。

水景施設のレジオネラについては、100CFU/100mL以上検出された場合には、直ちに噴水などを止めるなど対策を講じることが示されている²⁾。今回の調査においては、レジオネラが検出された3施設の検出菌数はすべて100CFU/100mL未満であったが、LAMP法では51.6%がレジオネラ陽性であったこと、レジオネラの宿主となるアメーバが検出された試料もあることから、今後も継続した維持管理が重要であると考えられた。これまで、水景施設の維持管理に関しては、ヒトへの感染リスクから水質検査の頻度を算出する方法が示されている³⁾が、水景施設のレジオネラ汚染リスクを推定する方法は示されていない。大阪府では、今回の水質検査結果を基礎的データとして、水景施設のろ過機の有無や配管洗浄、消毒方法といった維持管理からレジオネラ汚染リスクを推定できる「大阪府版水景施設におけるレジオネラ属菌汚染リスク評価法」を作成している¹⁰⁾。そのリスク評価法においては、清掃や消毒等の維持管理を行うことで水景施設のレジオネラ汚染リスクを低減させることが可能であることが示されている。今後は、特定建築物敷地内に設置されている水景施設の監視指導に上記リスク評価法を活用すると共に、水景水の水質状況の確認を継続的に行い、水景施設を感染源とするレジオネラ症の防止を行っていくことが重要である。

本調査は、環境衛生業務検討委員会事業指導部会において実施したものであり、大阪府健康医療部環境衛生課、保健所環境衛生監視員、調査に関係した多くの方々に深謝致します。

文 献

- 1) 日本水道協会：上水試験方法（2011）
- 2) 財団法人ビル管理教育センター：第3版 レジオネラ症防止指針（2009）
- 3) 栄研化学：Loopamp レジオネラ検出試薬キット E

添付文書

- 4) Edagawa A, Kimura A, Kawabuchi-Kurata T, Kusuhara Y, Karanis P. : Isolation and genotyping of potentially pathogenic *Acanthamoeba* and *Naegleria* species from tap-water sources in Osaka, Japan, *Parasitol Res*, **105**, 1109-1117（2009）
- 5) 国立感染症研究所感染症情報センター：IASR (Infectious Agents Surveillance Report), **34**, 155-157（2013）
- 6) O'Loughlin RE, Kightlinger L, Werpy MC, Brown E, Stevens V, Hepper C, Keane T, Benson RF, Fields BS, and Moore MR. : Restaurant outbreak of Legionnaires' disease associated with a decorative fountain: an environmental and case-control study, *BMC Infect Dis*, **7**, 93（2007）
- 7) 平成12年度厚生科学研究補助金（生活安全総合研究事業）室内空気中の微生物汚染に関する調査研究報告書：79-166（2000）
- 8) 八木田健司, 泉山信司：レジオネラ症のリスクマネジメント4 レジオネラ属菌とアメーバ, *防菌防黴誌*, **38**, 167-179（2010）
- 9) 吉川循江, 田中礼子, 日高利夫：遊泳用プール水における過マンガン酸カリウム消費量に与える塩素酸イオン及び臭素酸イオンの影響, *分析化学*, **4**, 335-340（2010）
- 10) 窪田智史, 中川明子, 鳥居将士, 疋田裕子, 谷口直生, 枝川亜希子, 足立伸一, 大武佐弥子, 松島加代, 坂部憲一：特定建築物における水景施設の実態調査～大阪府版水景施設におけるレジオネラ属菌汚染リスク評価法の作成～, 第42回建築物環境衛生管理全国大会抄録集, 80-81（2015）