

# 温泉水中におけるアメーバの生息状況と除去技術 に関する調査研究

【保健衛生室】

柏木淳子・田中卓実・黒川ちひろ

Investigation of Amoeba in Hot spring Bathes and disinfect techniques

Junko KASHIWAGI, Takumi TANAKA, Chihiro KUROKAWA

## Abstract

Occurrence of Legionella and Amoeba were investigated in whirlpool bathes in Tottori. Legionella species were isolated from 11 out of 19 water samples, and amoebas were isolated from 10 water samples. In areas where a residual chlorine concentration of 0.2mg/L was maintain above the control standard (0.2mg~0.4mg/L), Legionella species and Amoeba were not detected. We examined the susceptibility of *L.pneumophila* and *Naegleria fowleria* to Ultraviolet and Ultrasonic waves. UV irradiation results in a 2 ~ 3 logarithm decrease in waterborne L.p I in 2 minutes, and in a 1 ~ 2 logarithm of N.I in 5 minutes. Ultrasonic irradiation results in a 2.5 ~ 3 logarithm decrease in waterborne L.p I in 30 minutes, and in a 1.5 ~ 2 logarithm of N.I in 15 minutes.

## 1 はじめに

近年、公衆浴場などを原因としたレジオネラ属菌の集団感染が相次いで発生し、社会的関心が高まっている。レジオネラ属菌は湿った土壌や水中に存在し、他の細菌や藻類の栄養を吸収したり、細菌捕食性の原虫類（アメーバ）に寄生したりして増殖する細菌である<sup>1)</sup>。浴槽水や冷却塔等の人工環境水は細菌を餌とするアメーバや繊毛虫が多数生息しており、レジオネラ属菌の増殖しやすい環境であることから、衛生管理が重要視されている。レジオネラ属菌は他の細菌に比べて、高温環境に生息でき、塩素耐性を示す。さらに宿主アメーバがレジオネラを環境変化や薬剤等の作用から保護していると考えられているため、レジオネラ属菌の増殖を抑制するには、アメーバを除去することが必要となる。従来清掃、水質管理、塩素消毒等だけではレジオネラ症防止対策は不十分であり、新しい殺菌、消毒法の開発が望まれている。本研究では、県内の温泉施設について実態調査を行うとともに、紫外線、超音波がアメーバ除去に有効であるかを検討したのでその結果を報

告する。

## 2 調査方法

### 1) 実態調査

浴槽水、貯湯槽水を検体とし、6施設、19検体を調査した。レジオネラ属菌及びアメーバの検出は新版レジオネラ症防止指針<sup>2)</sup>に基づいて行った。

- (1) レジオネラ属菌：検体をメンブランフィルターで吸引ろ過し、そのフィルターを5mlの滅菌蒸留水で洗浄し、酸処理後に100 $\mu$ lをWYO $\alpha$ 寒天培地に塗布した。37℃で5～7日間培養し、レジオネラ属菌と同定されたコロニー数を計測した。得られたコロニー数から試料水100mlあたりのコロニー数を算出した。
- (2) アメーバ：検体50mlを遠心分離し、その沈渣に1mlの滅菌蒸留水を加え、十分に攪拌した後、アメーバ用培地に塗布した。これを42℃で2～5日培養し、出現したプラークをクローニングした。同定可能なものは形態観察、PCR、RFLPで同定し、それ以外は国立感染症研究所に同定を依頼し

た。

## 2) 除去技術の検討

- (1) 紫外線：蒸留水と、市販の温泉の基を使用した温泉水1～3を試験水とした。試験水に2～3 logの*Legionella pneumophila* I（以下L.p I）または2 log程度の*Naegleria lovaniensis*（以下N.l）を添加し、紫外線（300 $\mu$ W/cm<sup>2</sup>）を照射した。試験水を1 mlずつ各培地に塗布し、培養して出現したコロニー数、プラーク数を測定した。
- (2) 超音波：紫外線と同様の試験水に100～1000のL.p I又は10～100のN.lを添加し、硬質ガラス製バイアル瓶に入れ、超音波（周波数200kHz、出力200W）を照射した。紫外線と同様に培養し、コロニー数、プラーク数を測定した。

## 3 結果び考察

### 1) 実態調査

表1に実態調査の結果を示す。6施設19検体のうち5施設11検体からレジオネラ属菌が検出され、

4施設10検体よりアメーバが検出された。レジオネラ属菌、アメーバの検出されなかった7検体中5検体では遊離残留塩素濃度が0.2ppm以上であった。レジオネラ属菌は、*L. pneumophila* I群、III群、IV群、V群が検出され、その菌数は10～100であった。アメーバでは、*Legionella*属、*Hartmannella*属、*Acanthamoeba*属、*Platyamoeba*属が検出された。*Acanthamoeba*はアメーバ性結膜炎の原因アメーバである。また、鳥取県で始めてA施設から*Legionella australiensis*が検出された。このアメーバはヒトへの病原性は確認されていないが、マウス接種実験では病原性が見られるアメーバであるため、今後注目していかなければならないアメーバだと考えられる。今回の調査では循環式、掛け流し式などの管理方式や泉質に関係なくレジオネラ属菌、アメーバが検出された。浴槽水中の残留塩素濃度が0.2ppm以上の場合には検出されない傾向にあったが、レジオネラ属菌、アメーバの検出された施設では塩素管理が不十分である実態が明らかとなった。鳥取県が定めている「公衆浴場における衛生等管理要領」「旅館

Table 1 Occurrence of Legionella and amoeba

| Facilities | No. of sample | redidual chlorine conc. (ppm) | Legionella (CFU/100ml) | Amoeba (P/50ml) |
|------------|---------------|-------------------------------|------------------------|-----------------|
| A          | 1             | 0.04                          | <10                    | —               |
|            | 2             | 0.03                          | 20                     | + (*1)          |
|            | 3             | 0.02                          | 30                     | +               |
|            | 4             | 0.28                          | <10                    | —               |
|            | 5             | 0.87                          | <10                    | —               |
|            | 6             | 0.89                          | <10                    | —               |
|            | 7             | 0.12                          | <10                    | +               |
|            | 8             | 0.04                          | 480                    | —               |
| B          | 1             | 0                             | 500                    | +               |
|            | 2             | 0                             | 350                    | +               |
|            | 3             | 0                             | 350                    | +               |
| C          | 1             | 0                             | 40                     | —               |
| D          | 1             | 0                             | 20                     | +               |
|            | 2             | 0                             | 520                    | +               |
| E          | 1             | 0.41                          | 0                      | —               |
|            | 2             | 0.92                          | 0                      | —               |
|            | 3             | 0.1                           | 150                    | +               |
|            | 4             | 0.1                           | 50                     | +               |
| F          | 1             | 0                             | 0                      | —               |

(\* 1) : *N. australiensis*検出

業における衛生等管理要領」では「通常0.2ppmないし0.4ppmに維持する」とされており、これを遵守すれば浴槽中のレジオネラ属菌及びアメーバの増殖は抑制されるものと考えられた。

## 2) 除去技術の検討

- (1) 紫外線：L.p I は2分間で1/100～1/1000に不活化され、N.Iは5分間で1/10～1/63に不活化された。また温泉水2、3は濁っていたため効果が得られないと予想されたが、結果に差は見られなかった。紫外線の効果について、短時間の照射では十分な効果が得られないこと、濁度や紫外線ランプを覆うガラス管の曇りにより効果が減少することが知られている。これらの要因を排除できれば、紫外線による浴槽水中のアメーバの除去効果は十分に期待できると考えられた。
- (2) 超音波：L.p I は30分間で1/316～1/1000に不活化され、N.Iは15分間で1/32～1/100に不活化されたことから、超音波によるアメーバ除去についても効果のあることが示された。ただし、紫外線、

超音波共に試験水1では良好なデータが得られなかった。

## 4 まとめ

- 1) 実態調査：レジオネラ属菌、アメーバともに鳥取県内に広く浸潤していると考えられた。検出率は残留塩素濃度に影響されると考えられ、定められている衛生管理要領の遵守が重要である。
- 2) 除去方法の検討：紫外線で、アメーバは十分に不活化されることが分かった。濁度や照射時間等の条件を満たせば紫外線による浴槽水中のアメーバの除去効果は十分に期待できると考えられる。超音波は15～30分間照射すればアメーバを不活化できると分かった。紫外線ほど即効性はないが、濁度等を考慮する必要がなく、かつ安全に扱えるため、超音波は有効な除去方法になりうると考えられる。

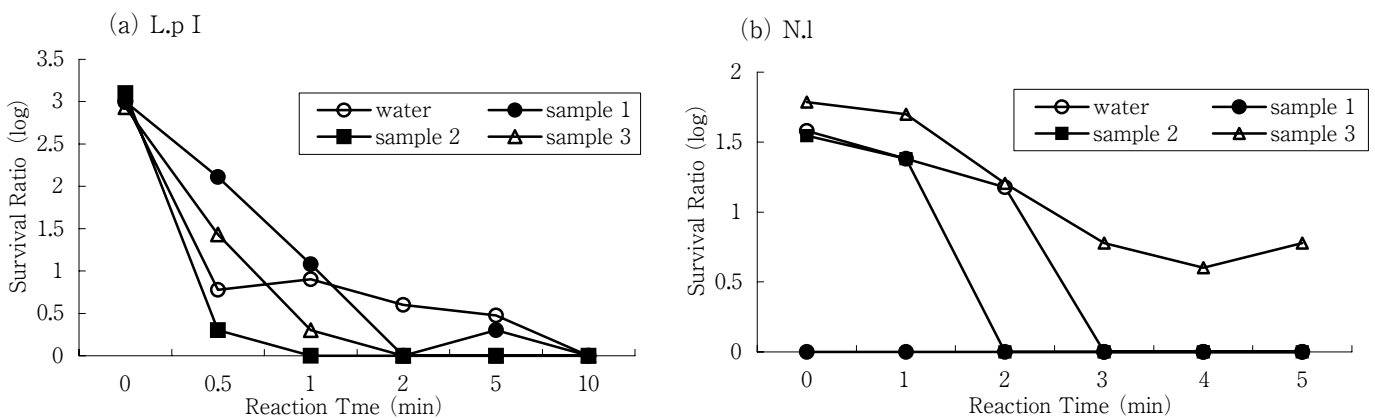


Fig. 1 Effect of Ultraviolet irradiation

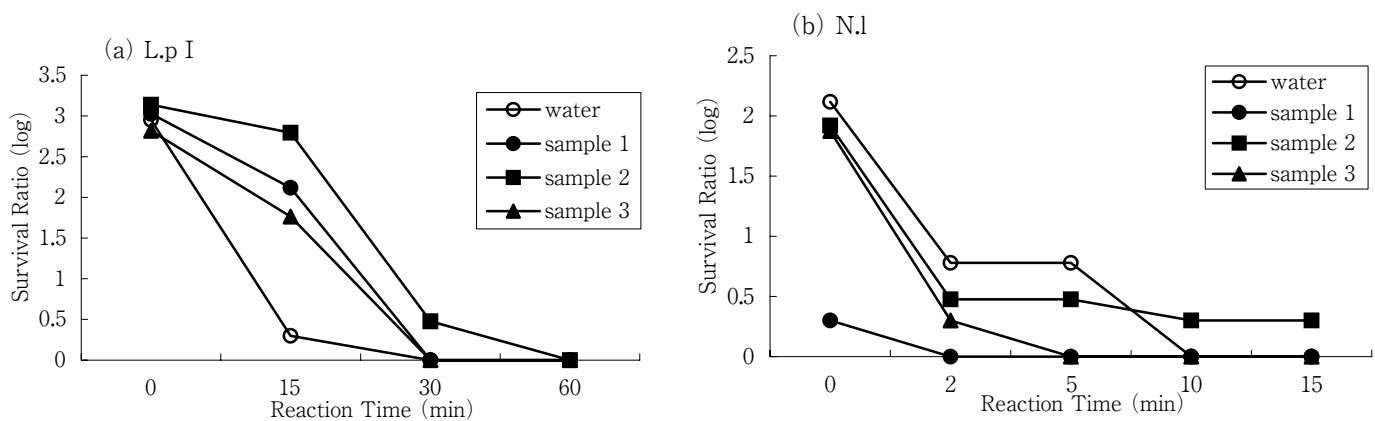


Fig.2 Effect of Ultrasonic irradiation

参考文献

- 1) 八木田健司, 泉山信司, 遠藤卓郎: レジオネラ属菌の水系汚染—宿主アメーバの果たす役割, 水環境学会誌, 26(1), 14-19(2003)
- 2) 厚生省生活衛生局企画課監修: 新版レジオネラ症防止指針, (財)ビル管理教育センター 1999