

札幌市内の冷却塔水における *Legionella* 属菌の検出状況について

川合 常明 早川 祥美*1 浦嶋 幸雄 大森 茂*2
大谷 崇 清水 良夫 菊地由生子 谷 喜代嗣*3
大江 節男*3 市川 修三*3

要 旨

札幌市内の特定建築物における冷却塔水の *Legionella* 属菌の検出状況を知るために、平成3、4年に35施設の冷却塔について調査したところ、15施設から *Legionella* 属菌が分離され、検出率は42.9%であった。また、分離された *Legionella* 属菌はすべて *Legionella pneumophila* であり、1群が15株、4群が1株であった。

次に、平成4年度は冷却塔の清掃後における *Legionella* 属菌数の経日的変化を調査し、除菌剤による抑制効果について検討したところ、除菌剤を使用した場合約2週間程度は増殖を抑制できることが確認できた。

1. 緒 言

Legionnaires' disease¹⁾の原因菌である *Legionella* 属菌は1979年 Brennerら²⁾により発見されたGram陰性桿菌で、熱性疾患や肺炎を起こし国内外で集団・散发事例^{3,4,5,6)}などが報告されている。熱性疾患としてはポンチアック熱型と呼ばれ、発熱を主症状とし予後は良好でほとんどが5日以内に改善する。しかし、肺炎型は高熱、悪寒、頭痛、咳嗽、筋肉痛を伴った重症の肺炎を発症する。通常、進行が早く激症の場合には呼吸不全、DIC、腎不全などに陥り、7日以内に死亡する例が多いと言われている⁷⁾。

Legionella 属菌は土壌・河川水など自然界に広く分布しており、ビルの空調機器の冷却塔水からも高頻度に検出されている^{8,9,10,11)}。

Legionnaires' diseaseの感染経路は、土壌や水中の *Legionella* 属菌が冷却塔水に混入、増殖し空調設備の不備などにより室内空気を汚染し、空气中に浮遊した *Legionella* 属菌を吸引することにより感染が起こる場合が多いと言われている⁷⁾。

そこで、市内の特定建築物の冷却塔水における *Legionella* 属菌の検出状況および冷却塔の清掃後における菌数の経日的変化を調査し、除菌剤による抑制効果について検討したので報告する。

2. 材料および方法

2-1 調査期間および対象施設数

平成3年8月、市内の特定建築物25施設の冷却塔水について検査を行った。

平成4年8月、市内の特定建築物のうち冷却塔に除菌剤を使用している（以下、除菌剤あり）6施設および除菌剤を使用していない（以下、除菌剤なし）4施設の計10施設を抽出し冷却塔の清掃前の検査を行った。

次に、*Legionella* 属菌を検出した4施設について清掃翌日、8日後、15日後、1カ月後の菌数の経日変化を調査した。

なお、清掃作業の内容は通常行っている下部水槽の洗淨だけでなく、充填剤、消音マットに付着している沈澱物、スケールなどを取り除く作業を行った。

2-2 試 料

ビル屋上に設置された空調設備の冷却塔水を用いた。

2-3 検査項目

細菌検査 *Legionella* 属菌、一般細菌数

理化学検査 水温、pH、導電率、塩素イオン、有機物等（過マンガン酸カリウム消費量）

なお、細菌検査の一般細菌数は衛生試験法・注解の水質試験法、理化学検査は上水試験方法にそれぞれ準

*1環境管理部 *2中央保健所 *3保健衛生部

扱した。また、導電率の一部は現場で測定した。

2-4 培地および免疫血清

BCYE 培地 (BBL), WYO 培地 (栄研), 血液寒天培地 (日水), *Legionella* 免疫血清 (デンカ生研)

2-5 試料の処理

冷却塔水 500 ml を採水し, そのうち 200 ml を図 1 の手順¹²⁾により試料の処理を行った。

2-6 分離培養, 確認培養および同定

処理済みの試料を図 2 の手順¹²⁾により分離, 同定を行った。血清学的検査は *Legionella* 免疫血清を用いてスライド凝集法により行った。

なお, *Legionella* 属菌の菌数は BCYE, WYO 培地上のコロニー数から算出した。

3. 結果

3-1 *Legionella* 属菌の検出状況

平成 3 年は 25 施設 (25 検体) 中 11 施設 (44%) の冷却塔水から *Legionella* 属菌が分離された (表 1)。血清型は *L. pneumophila* 1 群が 11 株, *L. pneumophila* 4 群が 1 株であり, 2 菌種分離されたものが 1 検体あり, 25 検体から 12 株が分離された。

平成 4 年は 10 施設 (10 検体) 中 4 施設 (40%) から分離され, 血清型はすべて *L. pneumophila* 1 群であった (表 2)。

2 年にわたる調査により, 合計 35 施設中 15 施設

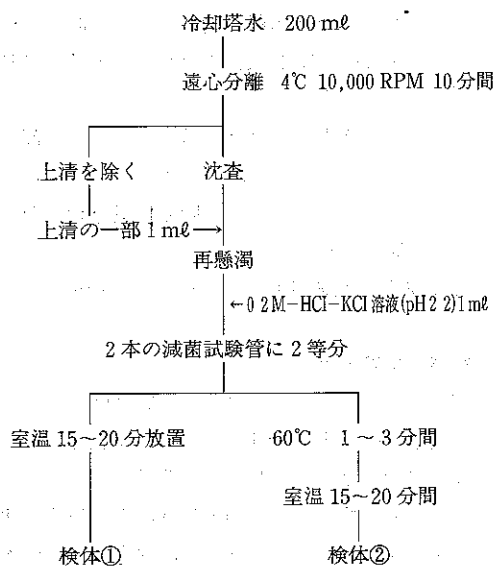


図 1 冷却塔水の前処理方法

分離培養

BCYE 培地, WYO 培地

←検体①, ②各々 0.1 ml ずつ分注
コンラージ棒で塗抹

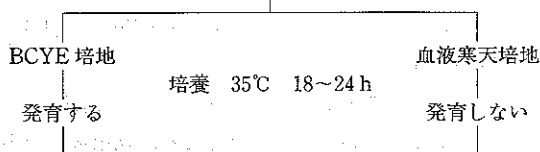
培養 35°C 4~7 日 観察 (乾燥に注意)

BCYE 培地—灰白色, 平滑な集落

WYO 培地—灰白色, 円形, 湿潤して光沢あり, 集落の外辺部がやや透明な集落

紫外線照射—蛍光を發しない

確認培養



BCYE 培地にのみ発育したものをレジオネラ菌属と推定する。

→保存用培地で保存

同定

グラム染色 — 陰性

紫外線照射 — 蛍光を發しない

血清群別 — レジオネラ免疫血清

図 2 冷却塔水からのレジオネラ属菌の分離方法

(42.9%) から *Legionella* 属菌が分離されたことになる (表 3)。

3-2 理化学検査結果および除菌剤の薬剤成分

水温は 11.6~34.0°C, pH は 7.6~8.8, 導電率は 0.213~7.97 mS/cm, 塩素イオンは 23.8~1242.0 mg/l, 有機物等は 2.6~129.0 mg/l, 一般細菌数は 0~4.0×10⁴ であった。(表 1, 2, 4)。

また, 除菌剤は一般に冷却塔用の水処理剤として市販されており, 冷却水系内の藻の発生, スケール (カルシウム塩, ケイ酸塩等) の付着, 金属の腐食を防止するために使用されていた。このうち藻の発生を防止するための薬剤成分は有機ヨウ素系, 有機窒素系, 有機窒素イオウ系 (イソチアゾロン系), トリアジン系および尿素系であった。

3-3 清掃後の *Legionella* 属菌数の経日変化

除菌剤ありの 2 施設のうち 1 施設では, 清掃翌日に検出されたものの, 8 日後には不検出となり 15 日後まで不検出であった。また, 残りの施設では翌日は不検

表1 平成3年・冷却塔水の検査結果

採水日：平成3年8月7, 19, 20日

施設番号	水温 ℃	pH	導電率 mS/cm	塩素イオン mg/ℓ	有機物等 mg/ℓ	一般細菌数 個/ml	レジオネラ属菌	血清型
1	23.7	—	2.220*	219.8	8.4	1.5×10 ²	—	
2	21.8	—	0.413*	61.1	9.5	4.0×10 ²	—	
3	23.8	—	0.309*	24.7	4.8	7.3×10 ²	—	
4	24.8	—	0.522*	39.6	3.3	2.3×10 ²	—	
5	21.9	—	0.617*	97.5	7.0	8.6×10 ²	+	L. pneumophila 1群
6	22.0	8.7	1.370	187.3	42.5	4.0×10 ⁴	+	L. pneumophila 1群
7	23.4	8.3	0.370	60.0	8.8	3.0×10 ²	—	
8	22.4	8.4	0.372	29.3	4.6	1.1×10 ²	—	
9	29.5	8.4	0.249	24.0	3.4	6.5×10 ²	+	L. pneumophila 1群
10	25.2	8.7	4.130	411.2	9.0	8.9×10 ²	+	L. pneumophila 1群
11	24.2	8.6	0.533	41.6	3.4	8.4×10 ²	+	L. pneumophila 1群
12	24.2	8.6	1.240	136.8	6.9	4.3×10 ³	+	L. pneumophila 1群
13	27.1	8.1	0.321	51.4	15.1	6.0×10 ²	+	L. pneumophila 1群
14	27.2	8.6	2.640	434.8	129.0	3.0×10 ²	—	
15	28.4	8.5	1.160	192.6	41.1	9.7×10	+	L. pneumophila 1,4群
16	26.0	8.2	1.100	83.6	2.6	2.0×10 ²	—	
17	26.4	8.4	0.926	68.2	8.1	5.2×10	+	L. pneumophila 1群
18	27.0	8.3	0.242	35.4	6.6	0	+	L. pneumophila 1群
19	27.2	8.2	1.710	321.6	12.0	5.3×10 ²	—	
20	27.9	8.4	7.970	1242.0	35.8	8.1×10 ²	—	
21	26.0	8.5	0.213	29.6	5.4	3.0×10 ²	—	
22	34.0	8.6	1.540	264.6	40.5	3.8×10 ²	+	L. pneumophila 1群
23	28.4	8.6	1.440	149.6	9.9	3.2×10 ²	—	
24	25.2	8.6	0.726	53.2	3.8	2.2×10 ²	—	
25	28.8	8.5	0.249	36.4	5.4	2.2×10 ²	—	

導電率の*印は現場で測定した値である。

表2 平成4年・冷却塔水の検査結果

採水日：平成4年8月4日

施設番号	水温 ℃	pH	導電率 mS/cm	塩素イオン mg/ℓ	有機物等 mg/ℓ	一般細菌数 個/ml	レジオネラ属菌 個/100 ml	血清型	除菌剤
1	26.0	8.5	1.180	97.8	23.0	3.0×10 ³	0	—	使用
2	22.0	8.3	0.534	84.0	6.6	3.2×10 ²	80	L. pneumophila 1群	使用
3	28.0	8.0	0.328	43.4	8.7	1.4×10 ⁴	210	L. pneumophila 1群	使用
4	21.0	8.8	1.684	174.2	11.9	8.0×10 ²	0	—	使用
5	26.0	8.7	2.200	411.3	8.4	9.0×10 ²	0	—	使用
6	22.0	8.6	0.863	59.4	5.4	8.3×10	0	—	使用
7	31.5	8.2	0.402	60.1	6.2	8.7×10	3400	L. pneumophila 1群	—
8	18.0	8.2	0.553	85.2	7.0	9.1×10	420	L. pneumophila 1群	—
9	18.5	8.5	0.629	30.2	3.2	9.7×10	0	—	—
10	16.5	7.7	2.410	332.2	13.2	1.3×10 ⁵	0	—	—

表3 Legionella 菌属の検出状況

調査年	検体数	検出数(%)	L. pneumophila	
			1群	4群
平成3年	25	11 (44.0)	11	1
平成4年	10	4 (40.0)	4	—
計	35	15 (42.9)	15	1

出であったが、8日後には再び検出された(表4)。

一方、除菌剤なしでは、調査期間を通して検出され、清掃後の菌数は明らかに減少するが、8日後には増加し1ヵ月後には平均約2000個/100mlであった(表4)。

また、清掃前後の菌数は除菌剤ありでは平均165個/100mlであったが、除菌剤なしでは、平均1180/100mlであった。

4. 考 察

今回調査した結果、35施設の冷却塔のうち15施設から Legionella 属菌が分離され、検出率は42.9%で

あった。伊藤ら¹¹⁾の全国的な分布調査では13.3%~51.2%、平均36.7%であり、これに較べると比較的高い検出率を示した。一般に東北、北海道は東京、大阪、九州などと較べると検出率は低いといわれているが、今回の調査では札幌市内の冷却塔も他の地域と同様な検出状況にあることが確認された。また、分離菌の菌種はすべて L. pneumophila 1群であり、さらにそのうちの1検体から同時に L. pneumophila 4群が1株ではあったが分離された。この成績は、これまでの環境調査の報告¹¹⁾と一致する結果が得られた。

稼働中の冷却塔の水温は11.6~34.0℃と幅広く、このような環境中でも Legionella 属菌は生息していたことを示していた。しかし、Legionella 属菌の培地上の至適温度条件は36℃前後であるにもかかわらず生息できるのは冷却塔水中の藍藻類と共生し、また Acanthamoeba などの原正動物の細胞内に寄生して増殖する¹³⁾ためであると考えられた。

冷却塔の清掃後における Legionella 属菌数の経日変化を調査した結果、何の処置も施さなければ菌数は

表4 冷却塔清掃前後の検査結果

採水月日：清掃前：'92.8.4, 清掃翌日：'92.8.20, 8日後：'92.8.27, 15日後：'92.9.3, 1ヵ月後：'92.9.21

	施設	採水月日	水温 ℃	pH	導電率 mS/cm	塩素イオン mg/l	有機物等 mg/l	一般細菌数 個/ml	レジオネラ 属菌数 個/100ml	血 清 型
除菌剤 使用	A	清掃前	22.0	8.3	0.534	84.0	6.6	3.2×10 ²	80	L. pneumophila 1群
		清掃翌日	27.0	8.1	0.383	52.0	8.0	7.6×10 ²	300	L. pneumophila 1群
		8日後	25.5	8.1	0.592	111.4	8.3	8.0×10 ²	0	—
		15日後	23.0	8.3	0.473	59.1	6.3	5.4×10 ²	0	—
		1ヵ月後	16.0	7.6	0.203	23.8	2.7	2.4×10 ²	20	L. pneumophila 1群
	B	清掃前	28.0	8.0	0.328	43.4	8.7	1.4×10 ⁴	210	L. pneumophila 1群
		清掃翌日	28.0	8.0	0.379	50.2	8.9	5.1×10 ³	0	—
		8日後	27.8	8.1	0.478	69.6	6.6	1.7×10 ³	30	L. pneumophila 1群
		15日後	28.2	8.2	0.465	60.1	7.2	1.3×10 ³	430	L. pneumophila 1群
		1ヵ月後	21.8	7.9	0.233	29.2	3.1	2.6×10 ²	580	L. pneumophila 1群
除菌剤 未使用	C	清掃前	31.5	8.2	0.402	60.1	6.2	8.7×10	3400	L. pneumophila 1群
		清掃翌日	27.5	8.0	0.396	48.9	9.1	2.6×10 ²	60	L. pneumophila 1群
		8日後	28.0	8.2	0.494	69.0	5.9	6.5×10	1300	L. pneumophila 1群
		15日後	28.0	8.4	0.828	121.9	11.8	1.1×10 ⁴	1300	L. pneumophila 1群
		1ヵ月後	13.0	8.0	0.370	48.5	4.0	1.2×10	2100	L. pneumophila 1群
	D	清掃前	18.0	8.2	0.553	85.2	7.0	9.1×10	420	L. pneumophila 1群
		清掃翌日	26.0	8.3	0.564	81.0	5.8	1.2×10 ²	200	L. pneumophila 1群
		8日後	23.6	8.4	0.694	108.1	8.4	1.6×10 ²	750	L. pneumophila 1群
		15日後	21.2	8.4	0.717	104.4	8.1	6.4×10 ²	270	L. pneumophila 1群
		1ヵ月後	11.6	7.9	0.520	75.9	4.8	2.1×10 ²	2000	L. pneumophila 1群

約1～2週間で清掃前の状態まで復活するが、除菌剤を使用した場合約2週間程度は増殖を抑制できることが確認できたことから、定期的な清掃および除菌剤などの使用は *Legionella* 属菌の抑制に効果があると考えられた。

しかし、一度汚染された冷却塔から *Legionella* 属菌を除去することは極めて困難であることが知られているため、最近、薬剤によって *Legionella* 属菌の増殖を抑制する抗レジオネラ用空調水処理剤¹⁴⁾ が市販されるようになったが、冷却塔から飛散した水滴中に含まれる薬剤による人体への被害、排水による環境汚染など安全性についても充分確認されるのであれば、今後普及していくものと考えられる。

現在のところ Legionnaires' disease の予防対策としては、(1)冷却塔から冷却水の飛散を防止すること、(2)空調用外気取り入れ口の位置は冷却塔とは隣接していないこと、(3)冷却水の水質管理を徹底して行い、特に冷却塔内での藻の発生防止として除菌剤などを冷却塔水に添加することなどが挙げられる。

Legionnaires' disease の発症に関して *Legionella* 属菌の菌数がどの程度以上あると危険かということがいまだ不明であるが、菌数が多い程危険性も増すことが予測されることから、定期的な清掃、除菌剤の使用など適切な方法により菌数を極力抑えるように努力する必要があると考えられた。

5. 結 語

平成3, 4年8～9月に札幌市内の特定建築物35施設の冷却塔水から *Legionella* 属菌を検出し、4施設に

ついて *Legionella* 属菌の経日変化を調査したところ、次ぎの結果が得られた。

- (1) 35施設中15施設(42.9%)から分離された。
- (2) 分離された *Legionella* 属菌の血清型は *L. pneumophila* 1群が15株、4群が1株であった。
- (3) *Legionella* 属菌の増殖抑制には冷却塔清掃後の除菌剤による処理が有効であると考えられた。

6. 文 献

- 1) Fraser et al: N. Eng. J. Med, 297, 1189-1197, 1977.
- 2) Brenner et al: Ann. Internal. Med, 90, 656-658, 1979
- 3) 齊藤厚・感染症学雑誌, 55, 124-128, 1981.
- 4) 国立予防衛生研究所・病原微生物検出情報月報, 92, 10, 199-200, 1987.
- 5) 同上・病原微生物検出情報月報, 95, 1, 17, 1988.
- 6) 松田啓子・感染症学雑誌, 64, 9, 1162-1167, 1990.
- 7) 日本公衆衛生協会・伝染病予防必携(第3版), 256-258, 1987.
- 8) 齊藤厚・感染症学雑誌, 55, 6, 439-446, 1981.
- 9) 伊藤直美・臨床と細菌, 9, 1, 98-100, 1982.
- 10) 中浜力・感染症学雑誌, 57, 8, 643-655, 1983.
- 11) 伊藤直美・感染症学雑誌, 57, 8, 682-694, 1983.
- 12) 日本公衆衛生協会・微生物検査必携, 細菌・真菌検査(第3版), F31-F48, 1987.
- 13) 池戸正成・医学のあゆみ, 8, 32, 1990.
- 14) 抗レジオネラ用空調水処理剤協議会・ビルと環境, 58, 36-38, 1992.

Detection of *Legionella sp.* in Cooling Tower Water in Sapporo City

Tsuneaki Kawai, Yoshimi Hayakawa*¹, Yukio Urashima, Shigeru Ohmori*²,
Takashi Otani, Yoshio Shimizu, Yuko Kikuchi, Kiyotsugu Tani*³,
Setsuo Ooe*³ and Shuzou Ichikawa*³

In order to evaluate the contaminative state of *Legionella sp.* in cooling tower water in Sapporo, we investigated 35 Samples in specific buildings over a 2 year period from 1991 to 1992. As a result, *Legionella sp.* was detected in 15 samples, the detection rate being 42.9

Moreover, all of the isolated *Legionella sp.* were *Legionella pneumophila*, in which serogroup I was identified in 15 samples and serogroup IV was identified in one Sample.

In 1992, We investigated the bacterial content change after the cooling towers had been cleaned, and studied the controlled effect of fungicides.

Finally we confirmed that multiplication of this bacteria could be controlled within 2 weeks by using fungicides.

*¹Sapporo Environmental Management Department

*²Sapporo Chuo Health Center

*³Sapporo Health Management Department