

琵琶湖・淀川水質保全機構
平成29年 水質保全研究助成 成果報告会

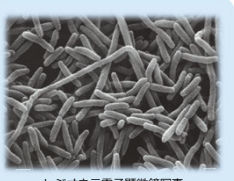
淀川水系に棲息する自由生活性アメーバを 宿主とするレジオネラ属菌に関する研究

地方独立行政法人
大阪健康安全基盤研究所*
衛生化学部 生活環境課
枝川 亜希子

* 旧) 大阪府立公衆衛生研究所

レジオネラ属菌

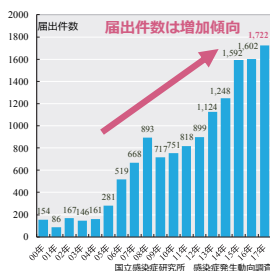
- 好気性グラム陰性桿菌
- 環境中に広く生息
特に、浴槽水、冷却塔水、噴水など
人工的な水環境から高率に検出
- レジオネラ症の原因菌
菌を含むエアロゾルをヒトが肺に
取り込むことにより感染
- 自由生活性アメーバに寄生・増殖



レジオネラ電子顕微鏡写真
L. pneumophila

レジオネラ症 感染症法4類（全数把握）

レジオネラ属の細菌が原因で起こる呼吸器感染症



届出件数は増加傾向

感染源

- 国内では、感染源が特定された事例の半数以上を浴槽水が占める
- 国外では、冷却塔水、水景施設、給湯設備加湿器、水道水など

↓
水道水系でのレジオネラ
汚染が問題になっている

米国フリント市での事例

水道水源をレジオネラが検出されるフリント川に
切り替えた2015年にレジオネラ症が87件に増加¹⁾
(うち10人死亡)



The effects of Flint's lead poisoning disaster - CNN Video

- 例年は10件程度
- 市当局は、水源の切り替えとの因果関係は少ないと主張

水道水源のレジオネラ汚染が周辺地域の
レジオネラ症発生に関連している可能性が指摘

¹⁾State of Michigan, Flint Water Advisory Task Force FINAL REPORT, 2016

自由生活性アメーバ

- 環境中に広く生息
河川水、浴槽水、冷却塔水、土壌など
- 稀に強い病原性を有する種が存在するが、
多くは非病原性

公衆衛生上の問題点

病原細菌類の増殖の場として感染症発生に関与

Amoeba-Resistant Bacteria (ARB)
レジオネラ、非結核性抗酸菌、サルモネラ
大腸菌O157、緑膿菌など

日本国内の水道原水のレジオネラ

- 水道関連の検査項目にレジオネラはない
- 一般細菌・従属栄養細菌の培地では増殖しない

↓

生息状況に関する知見は非常に少なく、
分布実態は明らかになっていない

淀川水系を対象に、レジオネラやその宿主となる
アメーバの分布実態を明らかにする。

調査概要

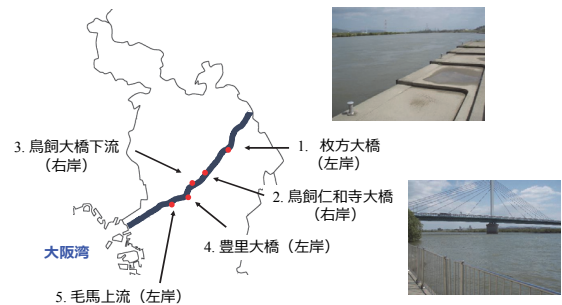
- 調査期間：平成29年5月～12月
淀川5地点から毎月1回採水 計40試料

● 調査項目

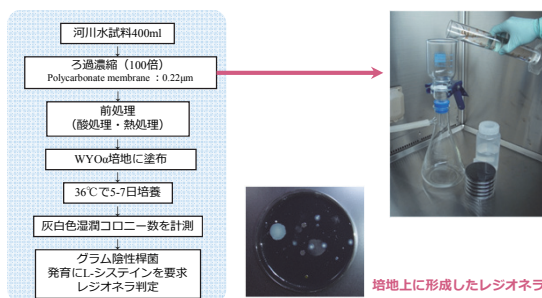
	方法
レジオネラ	培養法 リアルタイムPCR法
自由生活性アメーバ	培養法(フィルター添付法)

従属栄養細菌、ATP、気温、水温、pH、濁度、色度

採水地点



レジオネラ培養法*



*レジオネラ発防止指針第4版

レジオネラの検出 (Real-time PCR法)

- DNAの抽出：QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN)
- Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit (Takara Bio Co.)

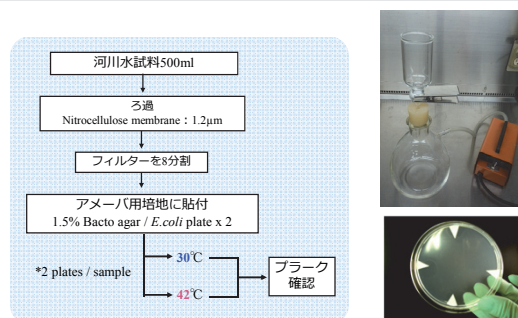
【反応液組成 (1test)】		【反応条件】	
2×Cycleave Reaction Mixture	12.5 μL	95℃	10sec
Primer / Probe Mix	2.5 μL	95℃	5sec
Sample DNA	5 μL	55℃	10sec
total	25 μL	72℃	25sec

測定：ABI PRISM 7900HT (Applied Biosystems)
データ解析：SDS v2.4.1 software (Applied Biosystems)

キットのプロトコール通りに行った。



アメーバ検出方法*



*レジオネラ発防止指針第4版

調査結果

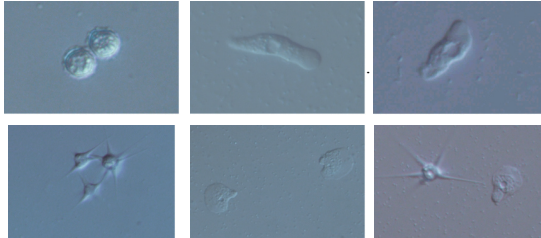
	陽性試料数	陽性率 (%)
レジオネラ 培養法	0 / 40	0
リアルタイムPCR法	40 [※] / 40	100
アメーバ 培養法	25 / 40	62.5

[※]コピー数：5.9×10²～5.3×10⁴

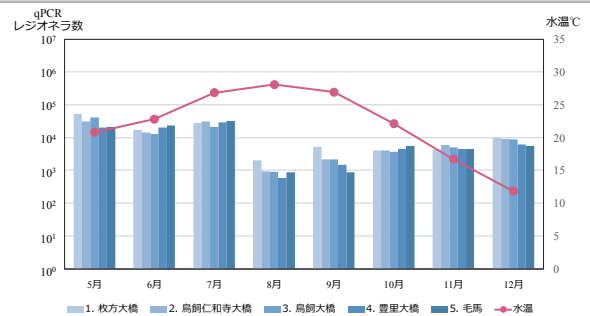
	測定値	中央値
従属栄養細菌	1.4×10 ⁴ ～ 3.6×10 ⁵	8.6×10 ⁴
ATP	84 ～ 707	198
気温	12.2 ～ 38.6	25.6
水温	11.0 ～ 29.1	22.9
pH	6.4 ～ 7.5	7.0
濁度	1.5 ～ 12.2	5.0
色度	3.7 ～ 16.1	7.2

検出したアメーバ

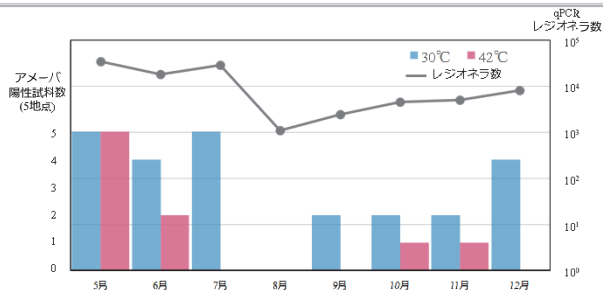
Acanthamoeba spp., *Naegleria* spp., *Vannella* spp. など



レジオネラ数と水温

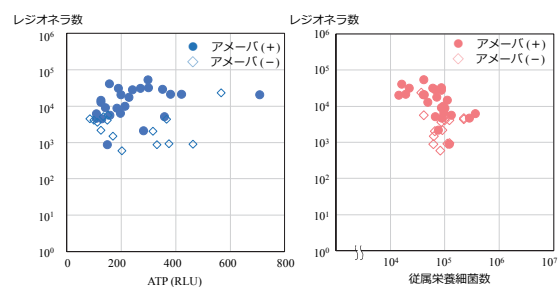


アメーバ検出とレジオネラ数



アメーバが生息すると、レジオネラ数が多くなった (有意差あり)

レジオネラとATP・従属栄養細菌

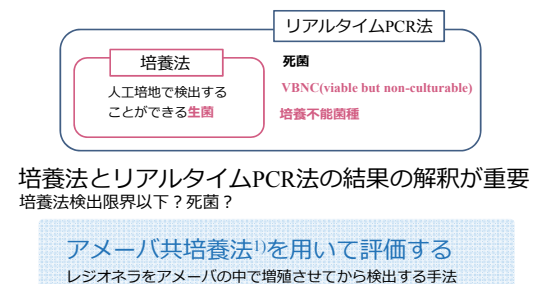


レジオネラとATP・従属栄養細菌との間に相関性は認められなかった。

まとめ

- レジオネラは、培養法では検出しなかったが、リアルタイムPCR法ではすべての試料が陽性となった。
- アメーバは、62.5%が陽性となり、*Acanthamoeba*、*Naegleria*など、レジオネラの宿主となる種が複数検出された。
- アメーバが生息すると、レジオネラ数が多い傾向が見られた。
- 浴槽水などでレジオネラ汚染との関連性が確認されている従属栄養細菌・ATPについては、水道原水では相関性がなかった。

今後の課題



¹⁾ Edagawa A et al., *Int J Environ Res Public Health*, 12:13118-13130 (2015)

謝辞

本研究は、
公益財団法人 琵琶湖・淀川水質保全機構
「平成29年度 水質保全研究助成」により行った。
記して、感謝を申し上げます。

ご清聴、ありがとうございました。

調査研究協力：大阪健康安全基盤研究所 生活環境課

Osaka Institute of Public Health