

## 我が国の土壌における *Legionella* 属菌の分離状況

岡部 弥穂, 古畑 勝則, 福山 正文

麻布大学大学院環境保健学研究科

### 1. はじめに

近年, 集団感染や院内感染などが報道されている *Legionella pneumophila* は, 呼吸器系の病原細菌であり, 本菌に対する社会的関心が高まっている。本菌は元来, 自然環境下に生息していると考えられているが, 冷却塔水や温泉などの人工的な水環境にも生存していることが報告されている。本菌は自然界において微細藻類と共生するほか, 自由生活性アメーバ類などの原生動物と寄生関係にある。現在, 日本国内における人工的水環境からの本菌の分離報告は多数みられるが, 自然環境下における報告はあまりみられない。そこで今回, 演者らは, 我が国の土壌における *Legionella* 属菌の分布状況を明らかにするため, 全国各地の土壌から本菌の分離を試みた。

### 2. 材料及び方法

2001 年 1 月～12 月の期間に 47 都道府県における道端, 庭, および公園などの表層から採取した土壌 50 g に, 蒸留水 100 ml と PYGC 培地で培養した *Acanthamoeba* 液 0.1 ml を加えて攪拌し, 37℃で 4 週間増菌培養した。この培養液に低 pH 溶液 (pH 2.2) を加え, 混在菌の発育を抑制した後, WYO $\alpha$  培地と GVPC $\alpha$  培地に塗抹し, 37℃で 1 週間分離培養した。発育した湿潤灰白色で淡い酸臭のある集落を純培養後, システイン要求性試験のため, 血液寒天培地を用いて 37℃で 5 日間培養した。この培地に集落が発育しないことを確認後, グラム染色を行って陰性長桿菌であることを確認した。その後, *Legionella* 属菌と推定された菌株について, 免疫血清によるスライド

凝集反応およびラテックス凝集反応, さらに, DNA-DNA hybridization を行い, 菌種の同定を行った。

### 3. 結果

供試した土壌 1,362 例中 86 例 (6.3%) から本菌が分離された。その内訳を地域別にみると, 沖縄が 12.1% と最も高く, 四国は 2.8% と最も低い分離率であった。また, 47 都道府県別にみると, 31 都道府県から本菌が分離され, 長崎県が 16.7% と最も高く, 千葉県が 2.2% と最も低い分離率であった。

本菌の分離状況を試料採取場所別にみると, 道端から 26.7%, 庭から 16.3%, 植え込みから 14.0%, 畑から 1.6%, 駐車場から 9.3%, 空き地から 8.1% に分離された。その他にも, 公園や原野, 工事現場など 12ヶ所から分離された。

月別に本菌の分離状況をみると, 3月に 12.9% と最も高率に分離されたが, 6月には 1 例も分離されなかった。また, 季節別では, 1 年の中で, 9 月から 11 月の秋期の分離率が 9.6% と最も高く, 6 月から 8 月の夏期は 2.1% と最も低い分離率であった。

分離した菌株について同定したところ, *L. pneumophila* が 80.2% と最も高率に分離され, この他, *L. feereii* や *L. bozemanii*, *L. aniza* など 7 菌種が分離された。また, *L. pneumophila* の血清群別では 1 群に 32% と最も高率に型別された。

以上のことから *Legionella* 属菌は我が国の土壌に広く分布し, ほぼ 1 年を通して分離されることが明らかとなり, 中でも *L. pneumophila* が優占種であった。