

## 南極昭和基地における循環式風呂の微生物調査 —レジオネラ菌と一般細菌について—

大野義一朗<sup>1,3</sup>・宮田敬博<sup>1,4</sup>・吉田和隆<sup>1,5</sup>・  
大谷眞二<sup>2,6</sup>・草谷洋光<sup>2,7</sup>・山本啓之<sup>8</sup>

### Microbiological study of the circulating bath system at Syowa Station

Giichirou Ohno<sup>1,3</sup>, Takahiro Miyata<sup>1,4</sup>, Kazutaka Yoshida<sup>1,5</sup>, Shinji Ohtani<sup>2,6</sup>,  
Hiromitsu Kusagaya<sup>2,7</sup> and Hiroyuki Yamamoto<sup>8</sup>

**Abstract:** Background; The circulating bath is known to have the potential to allow growth of microorganisms including pathogenic bacteria such as *Legionella*. Legionellosis, which causes severe pneumonia, may be difficult to manage in the Antarctic winter season. JARE-39 (1998–1999) and -40 (1999–2000) did microbiological studies of Syowa Station's circulating bath. Methods; Water samples including bath sink, water supplying outer tank, and filter of bath circulation system were collected and stored by freezing or in cold storage. After the samples were brought back to Japan, they were examined to detect colonies of legionellae and other microorganisms; DNA testing to detect legionellae by PCR was also carried out. JARE-40 determined total counts of bacteria and *Escherichia coli* in the bath, and periodically measured the water temperature. Epidemiological analysis of bath-related diseases was done for JARE-39. Findings; Specimens from bath-water and filter of water-supply system showed positive result of the *Legionella*-specific DNA by PCR method. These samples, however, were all negative by the culture method for legionellae. Bath-water temperature in August exceeded 44.6°C on average. By the end of the winter the water temperature came down 1 to 2 degrees, and then total counts of bacteria and *E. coli* were measured. During the winter season of JARE-39, outbreaks of gastroenteritis and upper respiratory illness occurred. Systematic microbiological and epidemiological

<sup>1</sup>第39次日本南極地域観測隊 JARE-39.

<sup>2</sup>第40次日本南極地域観測隊 JARE-40.

<sup>3</sup>東葛病院外科, Department of Surgery, Tokatzu Hospital, 409, Shimohanawa, Nagareyama 270-0174.

<sup>4</sup>大阪大学医学部附属病院救命救急センター, Trauma and Acute Critical Care Center, Osaka University Hospital, 2-15 Yamadaoka, Suita 565-0871.

<sup>5</sup>国土交通省中国地方整備局, Ministry of Land Infrastructure and Transport Cyugoku Regional Development Bureau, 6-30, Kamihacchôbori, Naka-ku, Hiroshima 730-8530.

<sup>6</sup>山陰労災病院 外科, Department of Surgery, San-in Rousai Hospital, 1-8-1, Kaikeshinden, Yonago 683-8605.

<sup>7</sup>国境無き医師団, Medecins Sans Frontieres, スリランカ勤務.

<sup>8</sup>聖マリアンナ医科大学微生物学教室, Department of Microbiology, St. Marianna University School of Medicine, Miyamae-ku, Kawasaki 216-8511.

surveillance in the station is necessary to prevent outbreaks of infectious diseases.

**要旨:** 24時間風呂は微生物が繁殖しやすく、越冬期間中の状況では診断治療が難しいレジオネラ症の感染源として危険性が指摘されている。JARE-39 (1998-1999)、-40 (1999-2000) は昭和基地の24時間風呂の細菌調査を行った。浴槽水、130 k/l 造水槽水、24時間風呂循環回路のフィルターを持ち帰りレジオネラ菌とその他の細菌について培養検査、PCR 検査を行った。また JARE-40 で越冬中に浴槽水の一般細菌と大腸菌の培養検査、浴槽水温調査を行った。さらに疾患統計から風呂に起因する可能性のある疾患の発生を調査した。その結果フィルターと浴槽水から PCR にて *Legionella pneumophila* と塩基配列が一致するレジオネラ菌遺伝子を検出したがレジオネラ菌分離培養は陰性であった。8月の浴槽水温は平均 44.6°C と高温で少数の一般細菌が検出されたが、水温が1-2°C 低下した越冬後半には一般細菌が増加し大腸菌群も検出された。39次隊越冬中に胃腸炎と上気道炎の集団発生があったが風呂との因果関係は不明であった。今後も定期検査が望ましく、遠隔地で可能な検査体制の確立が望まれる。

## 1. はじめに

昭和基地では24時間循環式浴槽（以下24時間風呂）を使用している。24時間風呂は高価で貴重な水を節約でき随時入浴できる利便性を有するが、各種微生物が繁殖しやすいことが指摘されている（藪内、1996）。特に環境常在細菌であるレジオネラ菌は24時間風呂で容易に繁殖し、入浴者が菌を吸い込むと肺炎を発生する場合がある（Fallon and Rowotham, 1990）。レジオネラ肺炎は特殊な抗生剤、人工呼吸器治療などを要し、致死率も高く越冬中に発生すれば深刻な事態となる。南極の自然環境はレジオネラ菌生息に不適で、また昭和基地の上水製造過程は微生物汚染の可能性が低い。しかし外洋航海中の船内循環式浴槽でレジオネラ症が発生しており（Jeringan *et al.*, 1996）、昭和基地でも器材や人を介して持ち込まれたレジオネラ菌が生息する可能性がある。

第39次日本南極地域観測隊越冬隊（以下39次隊、39名1998年2月～1999年1月）と40次隊（40名、1999年2月～2000年1月）は、昭和基地の24時間風呂の細菌学調査を行い、大腸菌群とレジオネラ菌遺伝子を検出したので報告する。

## 2. 昭和基地の24時間風呂の概況

### 2.1. 浴室の概要

風呂の洗い場は蛇口が3基あり、浴槽は3人が同時に入れる大きさである（図1）。風呂使用規則は各隊で決める。初めて女性が越冬した39次隊では女性専用バスユニットを設置し24時間風呂は男性が使用した。入浴時間は平日17-23時、休日15-23時であった。

### 2.2. 給湯システム

水は屋外の130 k/l 造水槽（開放型）で融雪し、隣接する100 k/l 貯水槽（屋根付き型）に常時満水となるように貯水する。ここからフィルターを介して給水する配管系統を中水と呼び、掃

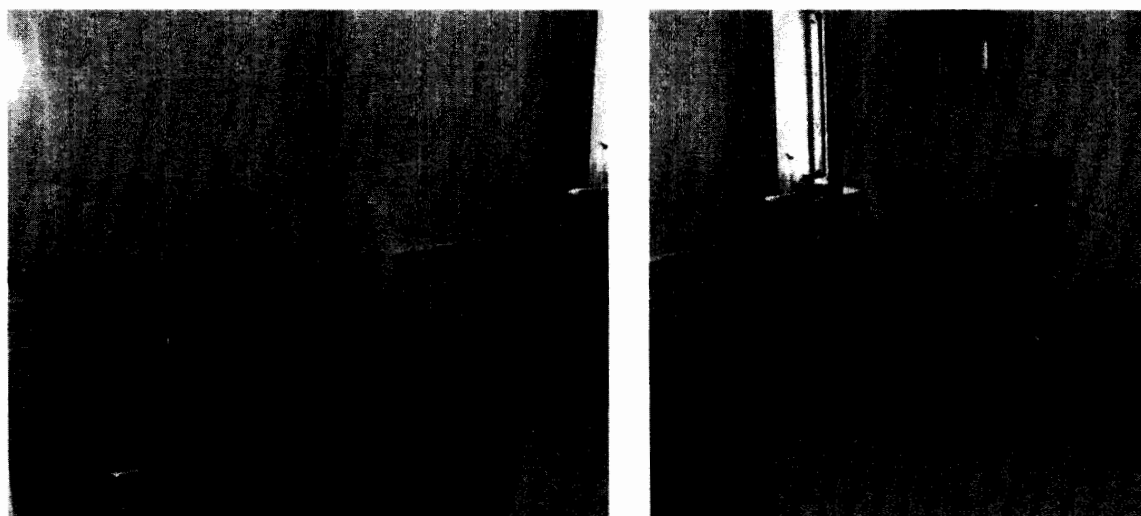


図1 昭和基地の24時間風呂の概要

Fig. 1. The 24-hour bath at Syowa Station (left: bathtub, right: washing place).

除や洗濯等に使用する。中水から脱塩装置で飲料用水（上水と呼ぶ）をつくり、消毒用塩素を加え発電棟内の5 k $l$ 冷水槽に貯水する。風呂の浴槽水はこの上水を用いる。

熱は発電機の冷却水回路を利用している。発電機で加熱された冷却水は、暖房用熱交換器、浴槽用熱交換器で放熱したのち発電機に戻る。エンジンの過熱を防ぐ目的で途中でオイルクーラー回路があり、バイパス可能な屋外ラジエーターにつながっている。この排熱効果は強く作動すると冷却水回路全体の温度が下がり浴槽温も低下する。

### 2.3. 施設概況

1999年現在の施設概況は循環濾過装置（日機装エイコー株式会社，製品名：モノフロー，型式：BUK-510V，製造日：1990年9月），フィルター（株式会社ロキテクノ（0943-32-6000），製品名：ジャバラフィルター，型式：250L-NPW-25），逆浸透膜脱塩装置（日東電工株式会社，製品名：RO精製水ユニット，型式：RSP-30-600X型，製造日：1994年10月），その濾過水製造（脱塩しゴミを除去する）部分（日東電工株式会社，製品名：ROモジュールエレメント，型式：NTR-759HR-S4N），浴槽（株式会社大西熱学，大きさ：1.6×1.0×0.75 m，材質：SUS304（ステンレスの種類））である。

### 2.4. 衛生管理

40次隊では24時間風呂の循環部分のフィルター交換を約3カ月に1回行い，その際に浴槽水も入れ替えた。消毒薬は使用していない。

## 2.5. 利用状況

39 次隊の入浴実態調査を行った。1998 年の A 期: 5 月 26 日～6 月 1 日と B 期: 6 月 29 日～7 月 5 日の 2 週間について 10 分ごとに 24 時間風呂の利用状況を調査した。

① 1 日当りの入浴人数は 14～26 (平均 20.1) 人で、総入浴人数は A 期 137 名, B 期 145 名であった。② 各隊員の 14 日間の入浴回数は 0～14 (平均 7.6) 回であった。③ 1 時間当りの利用者数は夕食時間 (18 時～18 時 30 分) の 18 時台, 行事の多い 20 時台が少ないがその他はほぼ均等に分散していた (図 2)。④ 夕食時間を除く入浴時間帯 (17 時～18 時, 18 時 30 分～23 時) の各調査点の入浴人数は 0 人 26%, 1 人 26%, 2 人 33%, 3 人 11%, 4～5 人 4% で 6 人以上の同時入浴はなかった (図 3)。⑤ 各隊員の入浴時間帯と最頻時間帯を 1 時間ごとに区分して調査した。以前は年齢等で入浴序列が決まる傾向もあったが (松田, 1985), 現在は風呂の許容量に余裕もあり分散して各人の生活にあわせた時間帯に入浴していた (図 4)。

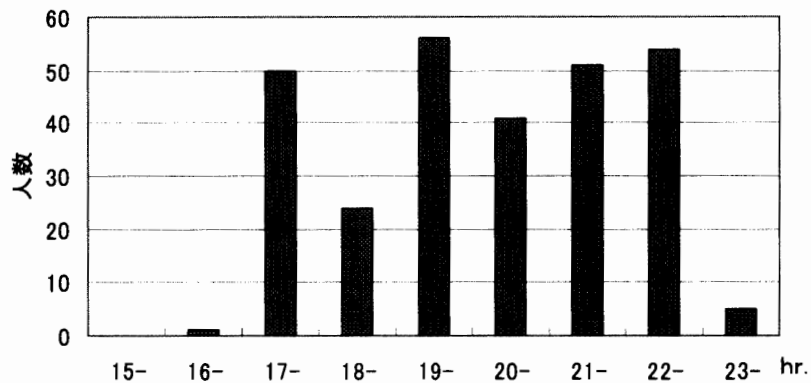


図 2 時間帯別入浴人数 (14 日間延べ 282 人の集計)

Fig. 2. The number of bathers by time zone (a total of 282 in 14 days).

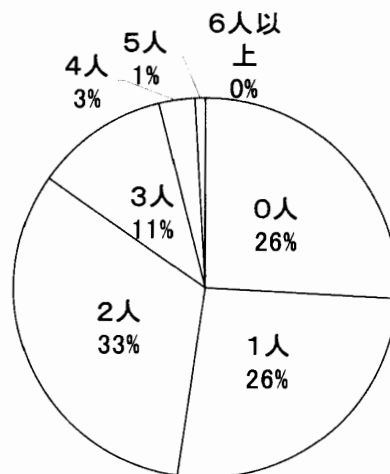


図 3 同時入浴人数 (17 時から 23 時までの各観察点における入浴人数)

Fig. 3. The number of bathers at one time (every 10 min from 1700 to 2300 LT).

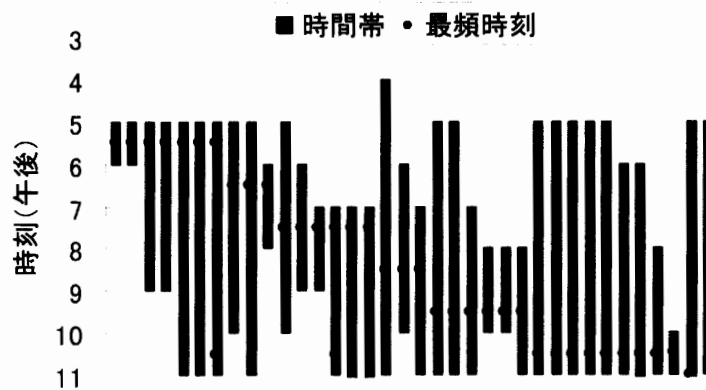


図4 各隊員の入浴時間帯と最頻入浴時刻

Fig. 4. The bathing time zone and the bathing time most frequently used by each party member.

### 3. 24時間風呂細菌調査の方法

#### 3.1. 浴槽水の細菌汚染調査

39 次隊は浴槽水, 40 次隊は浴槽水, 130 kI 造水槽水, 24 時間風呂循環回路のフィルターを持ち帰り, レジオネラ菌とその他の細菌について国内で培養検査, PCR 検査を行った。水試料の持ち帰り方法は凍結保存とパラホルムアルデヒド処理冷蔵保存, フィルターはビニール袋に入れて冷蔵保存した。凍結試料は解凍後に 200 ml を遠心分離 (7000 rpm, 10 分) し, その沈渣を滅菌純水 2 ml に再懸濁して検査用試料とした。パラホルムアルデヒド処理は水 500 ml に PBS (粉末; 日水製薬) 4.8 g, パラホルムアルデヒド 5 g を混合し, 1 時間保温 (40-50°C) したのちに冷蔵したが, 帰国時白濁を認め検査は行わなかった。フィルターは 5×5 cm を切出し滅菌試験管 (15 ml 容量) に入れ, 滅菌純水 2 ml を加えボルテックスミキサーで 1 分間混合し, その懸濁水を検査用試料とした。レジオネラ菌とその他の細菌や原生動物の培養検査 (藪内ら, 1998; Yamamoto *et al.*, 1996), 及び PCR 検査 (Miyamoto *et al.*, 1997; 山本, 1998) は既に報告されている常法に従った。PCR により検出された遺伝子断片は, Dye-Terminator 法 (PE バイオシステム社) により塩基配列を読み出して解析した。

40 次隊で浴槽水の一般細菌と大腸菌について昭和基地で培養検査を行った。1999 年 3, 6, 8, 10, 12 月の 5 回, 柴田科学機械工業株式会社製の一般細菌試験紙及び大腸菌試験紙を用い, それぞれ 37°C で 24 時間, 15 時間の培養後にコロニー (個/ml) を数えた。

#### 3.2. 風呂の浴槽水温調査

40 次隊で浴槽水温調査を行った。1999 年 5, 6, 8, 10, 12 月の 5 回で 3 時間ごとに 24 時間測定した。浴槽水を攪拌し, 水深約 15 cm で測定した。温度計の目盛りは 1°C 刻みで, 小数点以下は目測した。

### 3.4. 風呂関連疾患

39 次隊の越冬診療記録上は 199 件の傷病が発生した (大野・宮田, 2000), これをもとに風呂起因の可能性のある疾患について調査した。

## 4. 結 果

### 4.1. レジオネラ菌検査

40 次隊の浴槽用フィルターから PCR 法にてレジオネラ菌遺伝子を検出した。PCR 増幅遺伝子のシーケンスを解読した塩基配列は *Legionella pneumophila* と一致した。レジオネラ菌分離培養は陰性であった。40 次隊浴槽水は解凍直後の 2000 年 7 月の検査では培養, PCR 法ともレジオネラ菌陰性であった。しかし解凍試料を冷蔵庫保管し, 12 月に再検査したところ, PCR 法でレジオネラ菌遺伝子を検出した。分離培養ではレジオネラ菌は陰性であった。

39 次隊浴槽水, 40 次隊 130 k/l 水槽水は分離培養および PCR 法ともレジオネラ菌陰性であった。レジオネラ菌の宿主であるアメーバの検出を寒天平板により試みたがいずれの試料も陰性であった。

### 4.2. その他の細菌検査

39 次隊浴槽水を蛍光染色法で調べたところ小コロニー形成状態の細菌を認め, 菌体数は  $10^5$ - $10^6$  個/ml と推定された。試料をフィルターろ過して捕集した菌体をアクリジンオレンジで染色した (図 5)。赤から黄色の菌体を多数認めた。緑色の菌体は DNA だけで増殖活性の低い状態, 赤から黄色の菌体は RNA 量が多く増殖活性の高い状態と推定される。

40 次隊浴槽水の培養検査から皮膚常在ブドウ球菌などの球菌を検出した。腸球菌用培地からはコロニーは検出されなかった。レジオネラ菌用培地ではカビが 4 コロニー検出された。

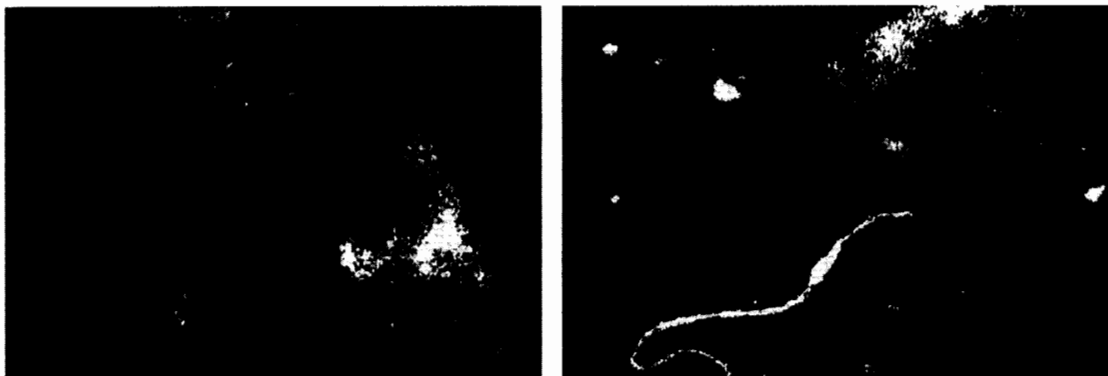


図 5 アクリジンオレンジ染色で検出された浴槽水の細菌

Fig. 5. Fluorescent staining examination of bathtub water of JARE-39. Large numbers of red-yellow bacteria with high proliferating activity were found.

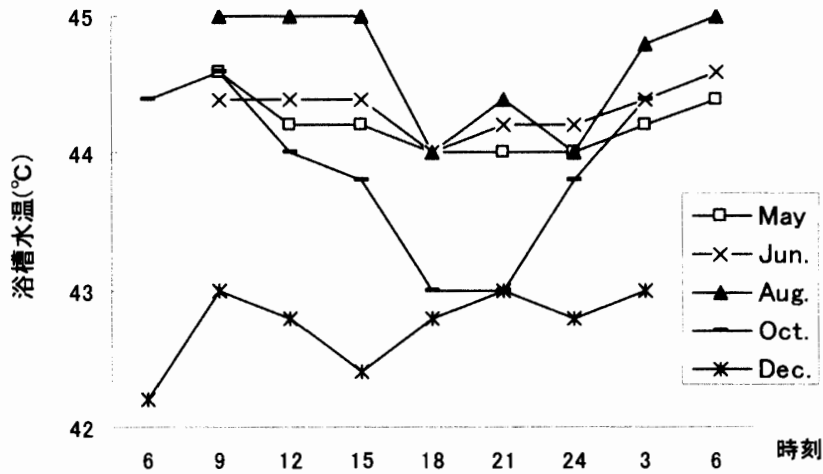


図6 昭和基地の浴槽水温の日内変動

Fig. 6. Circadian changes in the bathtub water temperature at Syowa Station.

### 4.3. 浴槽水温の変化

浴槽水温が最も高かったのは8月の日平均44.6°C (最高45°C, 最低44°C) で、深夜から日中は高く入浴時間帯に下がる傾向があった。5,6月は8月に比して水温は平均, 最高温度で低いが、最低温度や日内変化の傾向は変わらなかった。12月は平均42.8°C (最高43°C, 最低42.2°C) と低下し夜間も高温になることはなかった。10月はその中間で冬と同じ日内変化を示したが、水温は平均43.9°C (最高44.6°C, 最低43°C) であった (図6)。8月は熱交換器回路が45°C に設定されていたが、夏は各室温が20°C を越えたため暖房調整のため熱交換器回路の設定を下げていた。

### 4.4. 昭和基地での浴槽水細菌検査

一般細菌は通年検出されたが、10, 12月には倍増し大腸菌も検出された (図7)。

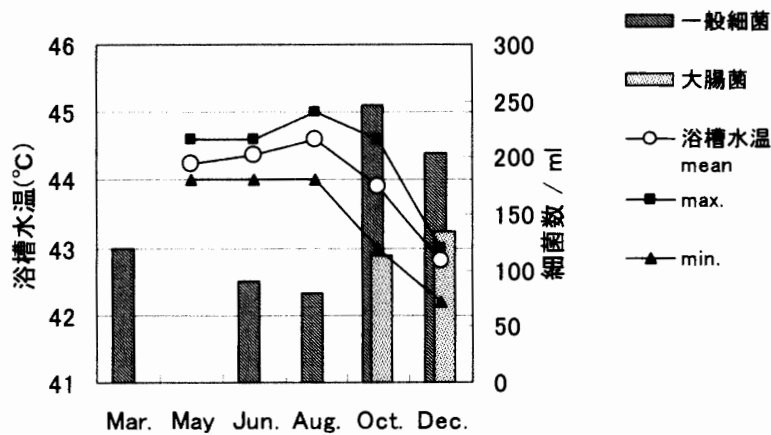


図7 浴槽水温と細菌数の季節変化

Fig. 7. Seasonal changes in the bathtub water temperature and the number of bacteria.

#### 4.5. 風呂に起因する可能性のある疾患の検討

風呂を介する感染症としては浴槽水内病原菌の吸入による呼吸器疾患, 飲水による消化器疾患, 接触性表皮感染などが発生する可能性がある。39 次隊では上気道炎 18 件, 急性胃炎 10 件, 急性腸炎 7 件, 腹痛 4 件, 白癬 3 件, 湿疹 4 件であった。集団発生としては胃腸炎 1 回 (1998 年 3 月, 原因不明, 11 名に下痢), 上気道炎 1 回 (1998 年 12 月~1999 年 1 月, 40 次隊合流後に発生, 17 人罹患) があった。39 次隊ではこれらの疾患と風呂との因果関係を調べる細菌検査, 血清検査は行われていない。

### 5. 考 察

今回の調査で 24 時間風呂からレジオネラ菌遺伝子が検出された。しかし培養検査は陰性であり, 検体保存中に菌が混入した可能性も否定できないため, ただちに臨床上危険な状態ではない。今後は 24 時間風呂をはじめ生活環境内についてレジオネラ菌やその他の微生物の生息状況を把握することが望ましい。菌の培養同定ができれば由来や汚染経路の解明なども可能となり, 昭和基地の衛生管理の枠を越えた意義を持つ。定期検査や感染症発生時の原因病原体の同定が必要だが, そのためには遠隔地で可能な培養同定方法や良好な状態で検体を持ち帰る方法, 帰国後の検査体制の確立が望まれる。

今回の調査では高い浴槽水温が微生物の生息を抑制していた。しかし浴槽水温が 1-2°C 低下しただけで, 越冬後半には検出される一般細菌数が増加し大腸菌群も検出された。各種病原菌の増殖可能温度は皮膚常在菌の黄色ブドウ球菌は 45°C, レジオネラ菌は 42°C, アメーバは 42°C とされている。これらの病原体にとって昭和基地の浴槽温は増殖至適ではないが生残可能であり, 感染予防には病原微生物が増殖生存しにくい条件の保持が必要である (前島, 1996)。具体的には定期的な浴槽洗浄と水交換が最も簡便で確実な衛生管理法だが, 昭和基地の水事情は便所の水洗化によりさらに厳しくなっている。今後は計画的な高水温管理, 消毒薬の使用なども検討されるべきであろう。

南極の自然環境に病原体は生息せず, 越冬中は閉鎖空間なので外部から持ち込まれることもない。基地内で発症する感染症の原因微生物は, 生活環境に生息する細菌や真菌, 隊員自身が持つ常在性細菌などに限られる。これらの発症にはヒト生体防御機構の問題があると予測される。南極越冬は寒冷や昼夜リズムの破壊などの環境ストレス, 隔絶小集団であることや食糧補給ができないという生活ストレスなどが存在する。越冬が人の免疫機能に与える影響や菌交代現象など病原体にあたる影響については, 各国が様々な実験調査をおこなってきたが結論はでておらず今後の課題となっている。また南極での感染症発生の調査研究は, 環境特性が類似している将来の宇宙活動における人間と微生物の関係を考える上でも重要となろう。



## 6. ま と め

昭和基地の24時間風呂の細菌汚染状態の検査を行った。今回の検査ではレジオネラ菌の遺伝子を検出した。今後も定期的な検査が継続されることが望ましい。

## 文 献

- Fallon, R.J. and Rowotham, T.J. (1990): Microbiological investigations into an outbreak of fever due to *Legionella micdadei* associated with use of a whirlpool. *J. Clin. Pathol.*, **43**, 479-483.
- Jeringan, D.B., Hofmann, J., Cetron, M.S., Genese, C.A., Nuorti, J.P., Fields, B.S., Benson, R.F., Carte, R.J., Edelstein, P.H., Guerreo, I.C., Paul, S.M., Lipman, H.B. and Breiman, R.F. (1996): Outbreak of Legionnaire's disease among cruises passengers exposed to a contaminated whirlpool spa. *Lancet*, **347**, 494-499.
- 前島 健 (1996): 給水・給湯設備とレジオネラ症。建築設備&昇降機, **3**, 6-15
- 松田達郎 (1985): 集団の科学。人は群れるとどうふるまうか? 東京, 講談社, 187 p. (ブルーバックス B-741).
- Miyamoto, H., Yamamoto, H., Arima, K., Fujii, J., Maruta, K., Izu, K., Shiomori, T. and Yoshida, S. (1997): Development of a new seminested PCR method for detection of *Legionella* species and its application to surveillance of legionellae in hospital cooling tower water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 2489-2494.
- 大野義一郎・宮田敬博 (2000): 日本南極地域観測隊における越冬期間中の歴代傷病統計: 4233 例の検討。南極資料, **44**, 1-13.
- 藪内英子 (1996): 家庭用24時間風呂浴槽水 *Legionella pneumophila* 及びその他の細菌感染—その生物浄化機構に関連して—。環境感染, **11**, 221-227
- 藪内英子・山本啓之・遠藤卓郎・八木田健司・守尾輝彦 (1998): 東京都内サウナ浴場浴槽水のレジオネラおよびアメーバ調査。環境感染, **13**, 137-140
- Yamamoto, H., Hashimoto, Y. and Ezaki, T. (1996): Study of nonculturable *Legionella pneumophila* cells during multiple nutrient starvation. *FEMS Microb. Ecol.*, **20**, 149-154.
- 山本啓之 (1998): レジオネラ属菌とレジオネラ症: 遺伝子による検出法。臨床と微生物, **25**, 35-39.

(2001年7月17日受付; 2001年8月6日改訂稿受理)