

温泉水を移送して利用する入浴施設における *Legionella pneumophila* Serogroup 4 の汚染源および汚染経路の追究

吉田 徹也¹⁾、井川 由樹子²⁾、関口 真紀³⁾、中沢 春幸⁴⁾、塚田 昌大⁵⁾

- 1) 長野県健康福祉部食品・生活衛生課
- 2) 長野県環境保全研究所感染症部
- 3) 長野県佐久保健福祉事務所
- 4) 一般社団法人長野県食品衛生協会松本食品衛生検査所
- 5) 長野県松本保健福祉事務所

2017年10月、長野県内にある入浴施設の露天風呂浴槽水から、*Legionella pneumophila* 血清群4 (SG4)が検出された。この施設は、入浴施設と異なる場所にある源泉から温泉水をタンクローリー車で移送し、浴用として使用していたことが特徴的であった。浴槽水の汚染源および汚染経路を明らかにするため、*L. pneumophila* の分離を試みたところ、源泉の温泉水をタンクローリー車へ注入するホース外側表面、タンクローリー車タンク内部および入浴施設側温泉水受入タンク貯留水から *L. pneumophila* SG4 が検出された。分離菌株のパルスフィールドゲル電気泳動法による泳動パターンは一致しなかったものの、源泉の温泉水を注入するホースの外側表面に付着した本菌が、露天風呂浴槽水の汚染源になり得ることを示した。

なお、本研究は、タンクローリー車のタンク内が *L. pneumophila* の汚染源になる可能性をわが国で初めて報告するものである。

Key words : レジオネラ・ニューモフィラ (*Legionella pneumophila*)、移送 (transport)、温泉水 (hot spring water)、タンクローリー (tank truck)、入浴施設 (bathing facility)

I. 序文

レジオネラ症は、細胞内寄生性のグラム陰性桿菌であるレジオネラ属菌 (*Legionella* spp.) による感染症で、高齢者、大酒家、喫煙者、慢性呼吸器疾患・糖尿病・臓器移植患者など感染防御能の低下した者では、発病のリスクが高いとされている¹⁾。発病すると肺炎型では、発熱、乾性咳、全身倦怠感、呼吸困難などの症状を引き起こし、しばしば重症化することがある。わが国の「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」では四類感染症に

(2018年7月10日受付 2018年10月20日受理)

連絡先：〒380-8570 長野県長野市大字南長野字幅下
692-2 長野県健康福祉部食品・生活衛生課
吉田 徹也
E-mail : yoshida_tetsuya@pref.nagano.lg.jp

分類され、患者の全数把握が義務付けられている。本感染症の感染源としては、循環式浴槽水、冷却塔水、修景水や加湿器等が知られている²⁾⁻⁶⁾。

今回、県外自治体に発生届が提出されたレジオネラ症患者が、長野県内の入浴施設を利用していた旨の通報を受け、著者らは患者発生との関連性を調査するために当該施設へ立入り、浴槽水等采取了。採取した浴槽水から *Legionella pneumophila* が分離されたことから、その汚染源や汚染経路を究明するため、より詳細な調査を実施したのでその結果を報告する。

なお、患者発生届が提出された自治体において当該患者の喀痰を用い *L. pneumophila* の分離を試みたものの、検出されなかったことから、当該施設との因果関係は明らかにされなかった。

Table 1 Investigation results on structure, equipment and sanitation management in the bathing facility

Investigation item	Results
Structural system of bathing facility	Recirculating bath system that is a daily use type
Pipework system of bath water	See Fig.1
Type of water used	Mainly hot spring water, use tap water when shortage
Disinfection method of bath water	Automatic injection with sodium hypochlorite solution (Set to 0.4mg/l)
Measurement frequency of residual chlorine concentration in bath water	Twice or three times a day
Replacement frequency of bath water	Once a week
Cleaning frequency of bathtub	Once a week
Cleaning frequency of receiving tank	Once a year
Cleaning frequency of strainer	Once a day
Filter material of circulation bath water system	Sand
Cleaning frequency and cleaning method of the filter	Once a week and backwashing
Self-examination frequency for <i>Legionella</i> spp.	Once a half year
Latest self-examination date and examination result	June 1, 2017, <10cfu/ml

II. 材料と方法

A. 施設立入調査

2017年10月31日に長野県外の医療機関でレジオネラ症として診断・届出された患者(発病日:10月29日)が、長野県内の入浴施設を10月22日に利用していたため、患者発生届のあった自治体から10月31日に当該施設に対する調査依頼があった。そこで、同日、著者らは当該施設の立入調査および検査試料の採取を行い、さらに11月8日および11月28日に入浴施設だけでなく源泉施設についても、立入調査および検査試料の採取を追加して行った。立入時の聞き取り調査項目は、浴槽の配管系統、使用水の種類、浴槽水の消毒方法、レジオネラ属菌自主検査実施状況、施設利用者数等であった(Table 1)。

B. *Legionella* spp. 検査試料

源泉水貯湯タンク内温泉水(Fig.1, A)、温泉水注入用ホース内残留水(Fig.1, B)、温泉水注入用ホース外側表面拭き取り(ホース表面)(Fig.1, C)、温泉水移送用タンクローリー車タンク内洗浄水(タンクローリー内)(Fig.1, D)、温泉水受入用ホース内残留水(Fig.1, E)、温泉水受入タンク内温泉水(受入タンク水)(Fig.1, F)、男性用室内浴槽水(Fig.1, G)および男性用露天風呂浴槽水(露天風呂水)(Fig.1, H)の8検体を検査試料とし、*Legionella* spp. の分離を試みた。検査試料の採取日は、Table 2 に示した。

受入タンク水、室内浴槽水および露天風呂水は、あらかじめ1/500量となるよう25%チオ硫酸ナト

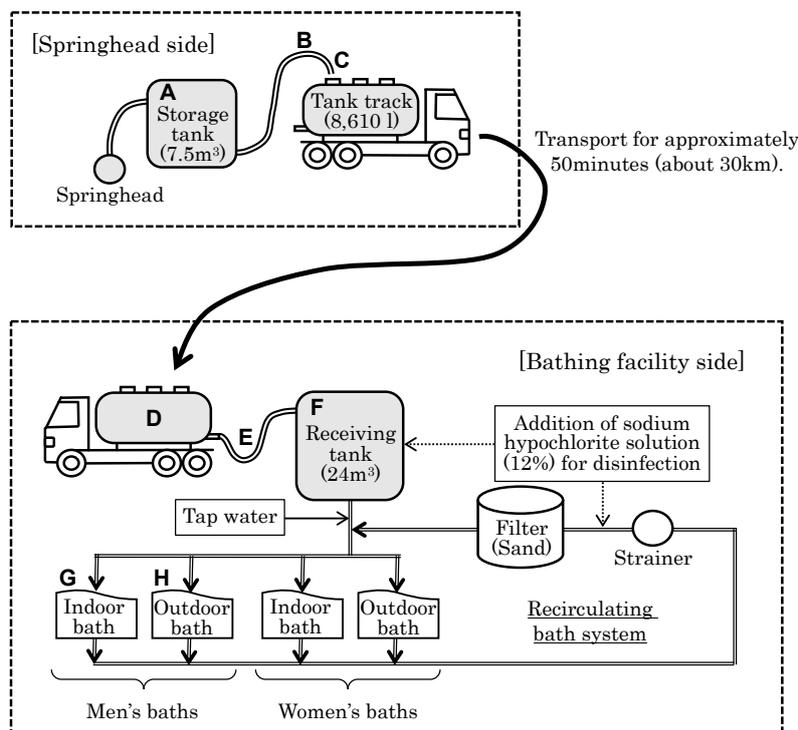
リウム溶液を加えた容器に採取した。ホース表面は、ふきふきチェックII(栄研化学株式会社、東京)を用い採取した。タンクローリー内洗浄水は、空のタンクローリー車タンクに蒸留水5lを投入し、5分間程度通常走行した後に、排出口から採取した。

さらに、一部の試料採取にあたっては、DPD(N,N-ジエチル-p-フェニレンジアミン)試薬(笠原理化学工業株式会社、埼玉)を用いた比色法による残留塩素濃度の測定、温度測定およびガラス電極式水素イオン濃度指示計D-51(株式会社堀場エステック、京都)を用いたpH測定も併せて実施した。

C. *Legionella* spp. 検査方法

Legionella spp. の分離は、病原体検出マニュアル⁷⁾ およびレジオネラ症防止指針第3版⁸⁾ に準じて実施した。すなわち、浴槽水等500ml以上採水できた試料については500mlを、500mlに満たない試料(温泉水注入用ホース内残留水、温泉水受入用ホース内残留水)は全量を0.2μmのメンブランフィルター(47mm径)で吸引ろ過し、滅菌精製水5mlを入れたコニカルチューブに移した後、1分間ボルテックスミキサーで攪拌した。得られた振出し液5mlは、熱処理(50℃、20分間)および酸処理(等量のHCl-KCl緩衝液(pH2.2)を添加し混和後、室温で5分間処理)を行い、その100μlをGVPN寒天培地(関東化学株式会社、東京)2枚に塗布し、36±1℃で7日間培養した。分離培地上の発育コロニーを釣菌し、L-システイン要求性、好氣的条件下での発育、グラ

Fig.1 A diagram of hot spring water supply from springhead to bathing facility. Capital letters A to H indicate the sampling sites.



ム染色、レジオネラ免疫血清「生研」(デンカ生研株式会社、東京)による凝集試験を実施し、同定した。さらに、出現したコロニー数を計数し、得られた数から試料 100mlあたりの菌量(cfu/100ml)を算出した。

D. パルスフィールドゲル電気泳動

パルスフィールドゲル電気泳動(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE)は、Changら⁹⁾の方法に準じて実施した。

溶菌は proteinase K(0.1mg/ml)(和光純薬工業株式会社、大阪)、菌体染色体 DNA の切断は *Sfi* I (50units/sample)(タカラバイオ株式会社、滋賀)により処理し、その後電気泳動は CHEF DR III(Bio-Rad Laboratories, Richmond)を用い実施した。検体としてホース表面(Fig.1, C)、タンクローリー内(Fig.1, D)、受入タンク水(Fig.1, F)および露天風呂水(Fig.1, H)からそれぞれ分離した *L. pneumophila* を 24 株供試した。

E. PFGE パターン解析

PFGE パターンは、FPQuest(ver.4.5)ソフトウェア(Bio-Rad Laboratories, Richmond)によって解析を行い、デンドログラムを作成した。

III. 成績

A. 施設立入調査結果

当該入浴施設の浴槽水管理システムは「連日使用型循環式」であり、源泉とは直結しておらず、主に浴槽水として用いていたのは、異なる場所の入浴施設専用の源泉からタンクローリー車によって移送した温泉水であった(Table 1)。

施設までの温泉水の移送方法を Fig.1 に示した。源泉から湧出する温泉水は 7.5m³ のタンクに一旦貯湯され、そこから合成樹脂製のホースを経由してタンクローリー車のタンクにポンプで注入されていた。温泉水は、約 30km を 50 分間程度かけて当該入浴施設までタンクローリー車によって移送され、到着後に入浴施設側の受入口から配管を経由し、24m³ の受入タンクに貯湯されていた。温泉水の移送は週に 3 回程度行われており、移送に使用されたタンクローリー車の積載量は 8,610l であった。次の移送までの間、入浴施設の湯量が不足した場合は、水道水が補充されていた。受入タンク内の温泉水は、男女それぞれの室内浴槽および露天風呂に配湯され、その後ヘアキャッチャーならびに砂ろ過装置でろ過す

ることで再利用されていた。浴槽水の消毒は、砂ろ過装置の直前および温泉水受入タンクに12%次亜塩素酸Na溶液を自動注入することで行われていた。しかし、立入調査時(10月31日)、受入タンク水の残留塩素濃度を測定したところ、0.05mg/ℓ未満であり(Table 2)、後日、受入タンクへ次亜塩素酸Na溶液を送りこむチューブの詰まりが原因であることが判明した。

当該施設における浴槽水等の衛生管理状況はTable 1に示したとおり、「レジオネラ症を予防するために必要な措置に関する技術上の指針(「指針」)¹⁰⁾」に基づき概ね適切に実施されていた。浴槽水は次亜塩素酸Naの濃度が0.4mg/ℓになるように設定されており、その濃度の確認は毎日2回から3回測定され、記録は保管されていた。2017年10月中旬から下旬における測定記録を確認したところ、概ね0.2～0.4mg/ℓの範囲で維持管理されていた。浴槽水は週に1度完全に換水し、その際に浴槽の清掃および消毒がされていた。温泉水受入タンクの洗浄および消毒は年に1度の頻度で、ヘアキャッチャー(ストレーナー)の清掃は毎日行われていた。ろ過器のろ材は砂が用いられ、週に1度逆洗浄が行われていた。当該施設において*Legionella* spp.の自主検査は、半年ごとに実施されていた。直近の検査は2017年6月1日に行われ、すべての浴槽水および源泉側温泉水とも10cfu/100ml未満の結果であった。

一方、温泉水の受入タンクよりも上流側(Fig.1, A-E)における衛生管理は、指針にも規定がないことから、一部不十分であった。具体的には、源泉側の温泉水注入用ホースの先端部は老朽化し、舗装されていない地面に接触した状態で放置されており、清掃、消毒、乾燥などは行われていなかった。また、温泉水を移送するタンクローリー車のタンクの洗浄および消毒は、受入タンク等と同様の方法で年に1度専門業者に依頼して行われていたものの、*Legionella* spp.の自主検査はされていなかった。入浴施設側の温泉水受入口についても、源泉側同様ホース先端部が地面と接触した状態で放置され、そこから温泉水貯湯タンクまでの配管の洗浄および消毒も行われていなかった。

なお、2017年10月中における当該入浴施設の1日あたり平均利用者数は、およそ330名であった。

B. *Legionella* spp. の検出状況

Table 2に*Legionella* spp.の検出状況を示した。

Legionella spp.が検出されたのは、源泉側のタンクローリー車に温泉水を注入するホース表面、タンクローリー内、入浴施設側の受入タンク水および露天風呂水の4検体で、分離されたのはいずれも*L. pneumophila*血清群4型(SG4)であった。受入タンク水および露天風呂水の*L. pneumophila*菌数は、それぞれ 2.7×10^2 cfu/100mlおよび 1.0×10^3 cfu/100mlであった。参考値ではあるが、タンクローリー内洗浄水の菌数は 5.24×10^3 cfu/100mlであった。

C. PFGE による解析結果

ホース表面由来3株(菌株No. C_1～C_3)、タンクローリー内由来10株(菌株No. D_1～D_10)、受入タンク水由来10株(菌株No. F_1～F_10)および露天風呂水由来1株(菌株No. H_1)についてPFGEを行ったところ、その泳動パターンは多様性に富み、すべての検査試料に共通するPFGEパターンを示す菌株は認められなかった(Fig.2)。また、露天風呂水由来株のPFGEパターンと同じパターンを示す株は認められず、最も類似していたのは受入タンク水由来株であった。

PFGE解析の結果、Dice係数が90%を超えたのは、受入タンク水由来5株(菌株No. F_1,4,6,7,8)(Fig.2, I)、ホース表面由来1株およびタンクローリー内由来2株(菌株No. C_1, D_3,4)(Fig.2, II)、タンクローリー内由来2株および受入タンク水由来2株(菌株No. D_6,8, F_5,10)(Fig.2, III)ならびにホース表面由来2株、タンクローリー内由来1株および受入タンク水由来1株(菌株No. C_2,3, D_9, F_3)(Fig.2, IV)であった。

IV. 考察

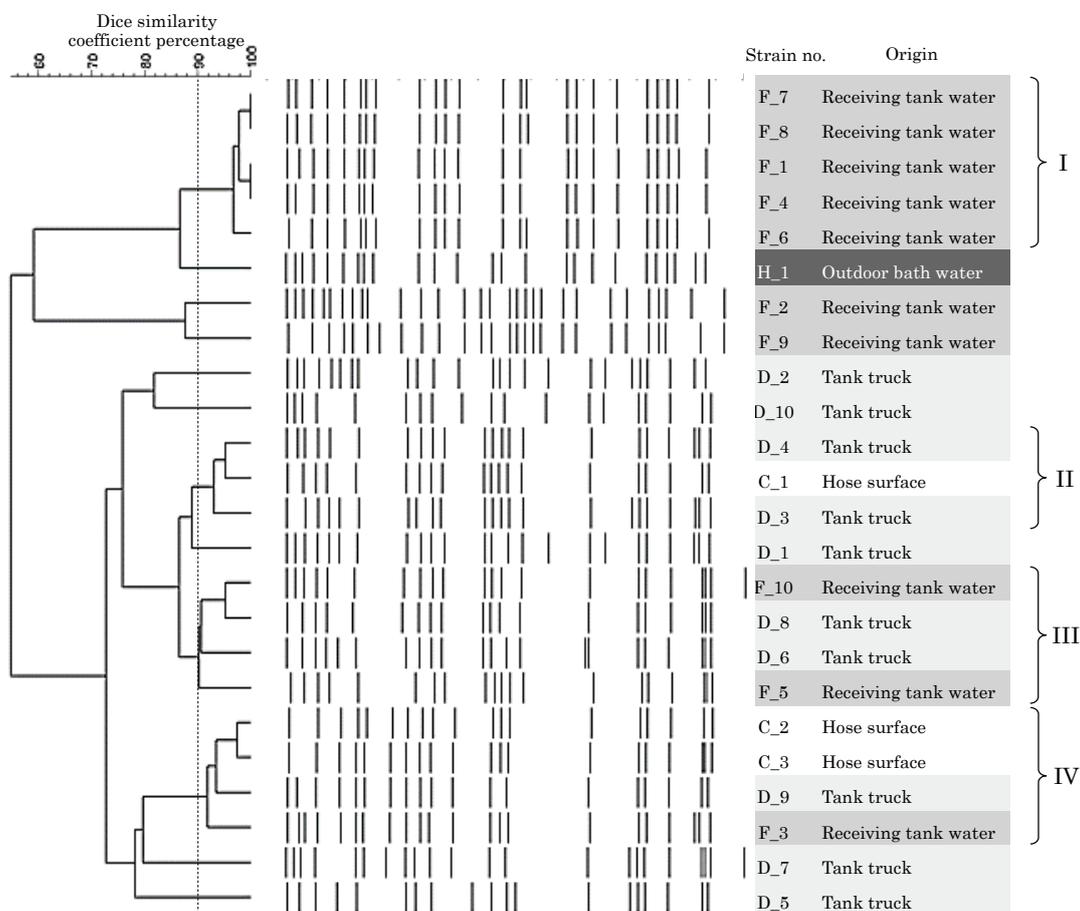
今回、露天風呂水から*L. pneumophila* SG4が検出されたため、汚染源および汚染経路の究明を行ったところ、ホース表面、タンクローリー内など複数の検査試料から同じ血清群4である本菌が検出された。*L. pneumophila*は環境中に広く分布し、諸外国において土壌からの分離報告もされている¹¹⁾。我が国においても、伊藤ら¹²⁾が全国各地の土壌から本菌の分離を試み、工事現場や河川敷の土壌といった湿潤な環境から*L. pneumophila* SG4を検出している。これら既存の報告から、今回の調査において、ホース表面から本菌が分離されたのは、当該ホースの未使用時に放置されていた場所の土壌中に本菌が存在し、ホースは直置きされることによって継続的に汚染を

Table 2 Isolation of *Legionella pneumophila* serogroup 4

Sampling site in Fig.1	Specimens	Sampling date	<i>L. pneumophila</i> (cfu/100ml)	Residual chlorite concentration (mg/l)	Water temperature (°C)	pH
A	Hot spring water in the storage tank	Nov. 8, 2017	Neg.	NT	35.2	7.56
B	Spring-head side Residual water in the hose	Nov. 28, 2017	Neg.	NT	NT	NT
C	Swab of the outer surface of the hose	Nov. 28, 2017	Pos. (30*)	NT	NT	NT
D	Washing water in the tank of tank truck	Nov. 8, 2017	Pos. (5,240*)	NT	16.9	6.91
E	Residual water in the hose	Nov. 8, 2017	Neg.	NT	NT	NT
F	Bathing facility side Hot spring water in the receiving tank	Oct. 31, 2017	Pos. (270)	0.05>	33.2	8.24
G	Men's indoor bath water	Oct. 31, 2017	Neg.	0.4	39.1	9.07
H	Men's outdoor bath water	Oct. 31, 2017	Pos. (10)	0.7	38.9	7.63

NT: Not tested, Neg.: Negative, Pos.: Positive, *: Reference value

Fig.2 PFGE pattern of chromosomal DNA of *Legionella pneumophila* SG4 isolates digested by *Sfi* I, and dendrogram generated by FPQuest software. The alphabetical code of the strain number indicates the sampling site in Fig. 1.



受けていた可能性が示唆された。さらに、汚染されたホースを用いてタンクローリー車へ温泉水を注入する際に、本菌がタンク内へ移行したものと考えられた。そして、一旦タンクローリー車のタンクが本菌に汚染されると、適切に洗浄・消毒しない限り継続的に受入タンクへ本菌を供給し続けることになったと推測された。また、温泉水で満たされたローリー内の温度は35℃前後で、施設の受入タンクに温泉水を移した空の状態でもタンクローリー内は、春期から秋期には本菌の発育可能な温度(25～43℃)になったことが推測され、タンク内に本菌の生息場所を提供していた可能性がある。

各検査試料由来菌株のうち無作為に抽出した24株についてPFGE解析を行ったところ、一部については類似度の高いパターンを示す菌株が認められた。すなわち、ホース表面由来株とタンクローリー内由来株(Fig.2, II)、ホース表面由来株、タンクローリー内由来株および受入タンク水由来株(Fig.2, IV)ならびにタンクローリー由来株および受入タンク水由来株(Fig.2, III)である。このことから、土壤中に潜んでいた多様な *L. pneumophila* 菌株が、ホース表面→タンクローリー内→受入タンク水と汚染域を継続的に広げていったことが推察された。さらに、それぞれの環境において適応した一部の菌株は、当該部位で増殖し菌叢を形成していた可能性があった。特に環境中の *Legionella* spp. の増殖の場として報告¹³⁾されているアメーバが存在すると、アメーバ体内の本菌を物理的、化学的な侵襲から保護することから、源泉直結型の入浴施設と同様の衛生管理では不十分で、受入タンクの本菌が露天風呂まで到達し検出されたと考えられた。しかし、今回解析に用いた菌株には露天風呂水由来株と類似度の高い菌株は確認されなかったことから、浴槽周辺の土壌等の外部環境など、推察した汚染経路とは全く異なる経路での汚染も否定できないが、分離菌株が非常に多様性に富んでいることから、供試菌株数を増やすことで当該浴槽水由来株と同一あるいは類似のパターンを示す菌株が認められる可能性が高いと思われる。残念ながら、露天風呂水からは本菌が1菌株しか分離されなかったため、さらに菌株を増やして比較検討を実施することはできなかった。

今回、著者らは、温泉水を移送するタンクローリー内が *L. pneumophila* の汚染源になりうることをわが国で初めて明らかにした。Valeroら¹⁴⁾は、路面

を高圧水で洗浄する作業者が *Legionella* 感染症に罹患したのは、洗浄作業車両のタンク内が本菌によって汚染されていたことが原因であった可能性を示唆している。また、Litwinら¹⁵⁾は、キャンピングカーの給水タンク内から *Legionella* spp. が分離されたことから、レジオネラ感染症の感染源となる可能性を指摘している。そして、いずれもタンク内の洗浄や消毒といった定期的な衛生管理が重要であると言及している。

施設管理者には、「指針」に基づき入浴施設の適切な衛生管理の実施が求められている。しかし、本事例のように使用する温泉水の源泉が入浴施設から離れている場合、源泉側や温泉水の移送工程における衛生管理については、現在のところ「指針」には具体的な記載がないため、行政による衛生指導を実施する上においても盲点となっている。このため、今回著者らは当該入浴施設事業者に対し、レジオネラ感染症を防止するために、以下の点等について助言指導を行った。

- ・源泉側ホースの衛生管理(ホース先端部の地面への直置き禁止、ホースの定期的な洗浄・消毒の実施等)
- ・タンクローリー車の衛生管理(タンク洗浄・消毒の頻回実施、移送時温泉水の消毒(次亜塩素酸Naの添加)、タンク内の *Legionella* spp. 自主検査等)
- ・受入タンクの衛生管理(タンク内温泉水の消毒(次亜塩素酸Naの添加)等)

近年、入浴施設の業務形態は多様化している。入浴施設の衛生管理には「指針」の遵守は必須であるが、さらに *Legionella* spp. の生態や施設の事業形態を踏まえた上で、それぞれの施設に合った衛生管理プログラムを十分検討し適切に管理することが重要である。

本件は、レジオネラ症患者発生届が提出されたことから、当該患者が利用した入浴施設に立入り疫学等調査を行うとともに、各種検査資料から *L. pneumophila* の分離を試みた事例であった。一般的に、患者と入浴施設の因果関係を明らかにするためには、疫学調査結果に加え、それぞれから分離された菌株について、PFGE法等の疫学マーカーを用いた菌株間の解析を行う必要がある。ところが、本事例は最終的にレジオネラ症患者から本菌を分離できなかったため、入浴施設との関連性を解明するにはいたらなかった。

V. 利益相反

申告すべきものなし

(非学会員共同研究者：山崎光隆(長野県松本保健福祉事務所)、清水秀樹、岡田幸恵(長野県長野保健福祉事務所))

VI. 文献

- 1) 岡部信彦編集者代表: 感染症予防必携第3版(レジオネラ症): p.599-605. 日本公衆衛生協会. 東京. 2015.
- 2) 岡田美香, 河野喜美子, 倉文明, 他: 循環式入浴施設における本邦最大のレジオネラ症集団感染事例 I. 発生状況と環境調査. 感染症誌 79 : 365-74. 2005.
- 3) Osawa K, Shigemura K, Abe Y, et al. : A case of nosocomial *Legionella* pneumonia associated with a contaminated hospital cooling tower. J Infect Chemother 20 : 68-70. 2014.
- 4) Haupt TE, Heffernan RT, Kazmierczak JJ, et al. : An outbreak of Legionnaires disease associated with a decorative water wall fountain in a hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 33 : 185-91. 2012.
- 5) Barrabeig I, Rovira A, Garcia M, et al. : Outbreak of Legionnaires' disease associated with a supermarket mist machine. Epidemiol Infect 138 : 1823-8. 2010.
- 6) Yiallourous PK, Papadouri T, Karaoli C, et al. : First outbreak of nosocomial *Legionella* infection in term neonates caused by a cold mist ultrasonic humidifier. Clin Infect Dis 57 : 48-56. 2013.
- 7) 病原体検出マニュアル レジオネラ症 (http://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/legionella_2012.pdf) : 国立感染症研究所. 平成 23 年 10 月 7 日改訂
- 8) レジオネラ症防止指針作成委員会: レジオネラ症防止指針第3版. 財団法人ビル管理教育センター. 東京. 2009.
- 9) Chang B, Amemura-Maekawa J, Watanabe H : An improved protocol for the preparation and restriction enzyme digestion of pulsed-field gel electrophoresis agarose plugs for the analysis of *Legionella* isolates. Jpn J Infect Dis 2009; 62 : 54-6.
- 10) 厚生労働省告示第 264 号, レジオネラ症を予防するために必要な措置に関する技術上の指針. 2003. (<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/legionella/030725-1.html>)
- 11) van Heijnsbergen E, van Deursen A, Bouwknecht M, et al. : Presence and persistence of viable, clinically relevant *Legionella pneumophila* bacteria in garden soil in the Netherlands. Appl Environ Microbiol 82 : 5125-31. 2016.
- 12) 伊藤直美: わが国全土における *Legionella* の分布調査および検出菌の病原性に関する研究. 感染症誌 57 : 682-94. 1983.
- 13) Rowbotham TJ : Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. J Clin Pathol 33 : 1179-83. 1980.
- 14) Valero N, de Simon M, Galles P, et al. : Street cleaning trucks as potential sources of *Legionella pneumophila*. Emerg Infect Dis 23 : 1880-2. 2017.
- 15) Litwin CM, Asebiomo B, Wilson K, et al. : Recreational vehicle water tanks as a possible source for *Legionella* infections. Case Rep Infect Dis 2013 : Article ID 286347. 3 pages. 2013.

Investigation of Source and Route of Contamination by *Legionella pneumophila* Serogroup 4 in Bath Facility Using Transported Hot Spring Water

Tetsuya Yoshida ¹⁾, Yukiko Igawa ²⁾, Maki Sekiguchi ³⁾, Haruyuki Nakazawa ⁴⁾, Sho-ta Tsukada ⁵⁾

- 1) *Division of Food and Environmental Sanitation, Department of Health and Welfare, Nagano prefectural Office*
- 2) *Division of Infectious Disease, Nagano Environmental Conservation Research Institute*
- 3) *Saku Health and Welfare Office, Nagano Prefecture*
- 4) *Matsumoto Food Sanitation Laboratory, Nagano Prefecture Food Hygiene Association*
- 5) *Matsumoto Health and Welfare Office, Nagano Prefecture*

In October 2017, *Legionella pneumophila* serogroup 4 (SG 4) was detected from an outdoor bath water in a bath facility in Nagano Prefecture. A feature of this facility was that it transported hot spring water from a springhead at a different place with a tank truck and used it as a bath. In order to reveal the source and route of contamination of the bath water, we attempted to isolate *L. pneumophila*. As a result, *L. pneumophila* SG4 was detected from the outer surface of the hose injecting spring water into the tank truck, the inside of the tank of the truck, and the hot spring water in the receiving tank of the bath facility. Although the electrophoretic patterns by pulsed-field gel electrophoresis were not consistent among these isolates, it was shown that this organism adhered to the outer surface of the hose injecting spring water from the springhead can be a contamination source for outdoor bath water.

This study reports the possibility that the interior of the tank of the tank truck will be the source of contamination of *L. pneumophila* for the first time in Japan.
