

実施	91
未実施	16
不明	10

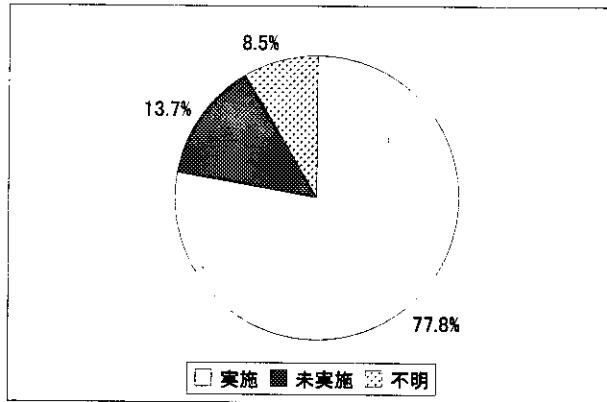


図2.44 湯の消毒の常時実施の有無

塩素	44
オゾン	24
紫外線	7
銀イオン	1
塩素+オゾン	13
不明	2

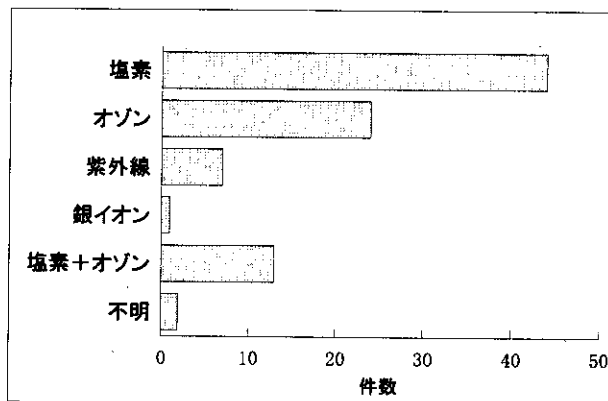


図2.45 湯の消毒方法

協力できる	88
協力できない	19
不明	10

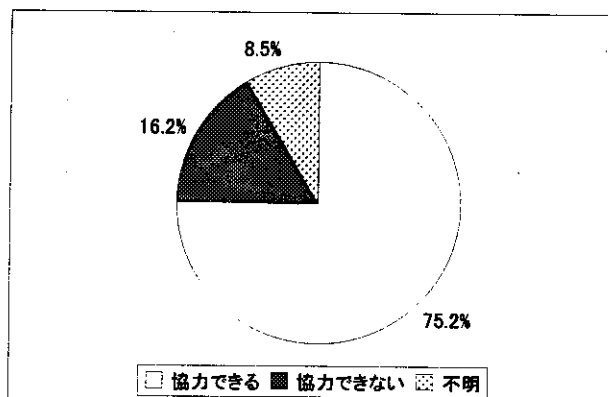


図2.46 実態調査協力の可否

3. 実態調査

3.1 レジオネラ属菌の検出実態（関東地区）

3.1.1 調査対象施設

調査対象施設は、既に独自調査を終えた東京都を除く、関東地区（神奈川県、埼玉県、千葉県）の社会福祉施設とした。調査対象施設は、特別養護老人ホームおよび児童福祉施設、知的障害者施設、社会援護施設等を含めた社会福祉施設について「2. アンケート調査」を実施し、循環式浴槽を設置している施設のうち実態調査に協力できるとの回答が得られた施設数とした。

3.1.2 調査項目

調査項目は、レジオネラ属菌（レジオネラ属菌数、免疫血清による型別）および公衆浴場法の公衆浴場における水質等に関する基準に規定されている浴槽水の水質基準に挙げられている項目（濁度、過マンガン酸カリウム消費量、大腸菌群）を実施した。また、採水時に浴槽水の水温および遊離残留塩素濃度の測定を実施した。

3.1.3 調査方法

社会福祉施設の浴槽にて細菌試験用、理化学試験用およびアメーバ試験用の試料を採取した。採水容器は滅菌条件、採水量は1ℓとした。採水は原則として1浴槽1検体とした。採水者は調査員が担当した。

採水位置は浴槽壁面から約50cm、水深約30cmの浴槽中央付近の中層域とし、採水時に表層の水が浸入しないよう採水容器を逆さにして浴槽内に入れ、中層域で容器を傾け、浴槽水の採取を実施した。容器は満杯にせず、上部に空間を残し、採水後はねじ栓を固く締めた。

採水ポイントについては、事前調査で浴槽内の湯水吹出口付近と浴槽中央付近の2ヶ所で調査し比較した結果、レジオネラ属菌数が同数であったことから湯水は浴槽内を常に循環していると判断し、浴槽の代表的なところ1箇所とした。また、循環式と他方式の浴槽におけるレジオネラ汚染状況を比較するため循環式浴槽でない方式の浴槽を利用している社会福祉施設に調査協力を仰ぎ、同様の実態調査を実施した。

試料の搬入については採水日当日に検査施設に検体の搬入が可能である場合は、直接採水者が検体を検査施設に持ち込み検査を実施した。採水日に検体が搬入できない場合は、保存中にレジオネラ属菌が増殖しないよう冷蔵保存し、翌日検査施設に検体を搬入した。

3.1.4 試験方法

レジオネラ属菌については「新版レジオネラ症防止指針」（厚生省生活衛生局企画課監修）に準拠し、実施した。なお、検体の濃縮操作については冷却遠心濃縮法を、前処理については酸処理法を用いた。

まず、滅菌遠心管に検水200mlを入れ、5000～7000rpm、15～25℃、30分間遠心した。上清を捨て、1mlの滅菌蒸留水で管内壁をよく洗い、沈渣を懸濁した（濃縮倍率200倍）。

次に酸処理法で前処理を実施した。0.2M HCl・KCl buffer (pH2.2±0.2) と濃縮検水とを等量混合し、室温に5～20分間置いた。

菌数を予測できないため濃縮検体と非濃縮検体を同時に検査を実施した。前処理検体100μlをWY0α寒天培地に塗布した。塗布後のシャーレを裏返しにして密封容器に入れ、36±1℃で5～7日間培養した。培養5日目にレジオネラ属菌と思われる集落を数え、検水の濃縮倍率と接種液量から原水100ml当たりのレジオネラ菌数（CFU/100ml）を算出した。次に、WY0α寒天培地上に出現した集落を平板1枚当たり10個程度釣菌し、区画したBCYEα寒天平板培地とL-システイン不含培地の双方に画線培養した。培養24～48時間後にBCYEα寒天培地にのみ発育したグラム陰性桿菌をレジオネラ属菌と推定した。

レジオネラ免疫血清を使用してスライド凝集反応を行い、血清による型別を行った。なお、レジオネラ免疫血清で凝集が認められなかった場合はDNA-DNAハイブリダイゼーションを実施し、種を決定した。

大腸菌群は下水の水質検定方法に準じてデソキシコール酸塩培地による方法を使用した。試料採取後、すみやかにその1mlをペトリー皿にとり、あらかじめ溶解し約46℃の保温したデソキシコール酸塩培地約15mlを加え、よく混和して静置し、凝固後、更に先のデソキシコール酸塩培地約10mlをこれに重層し、再び静置し、凝固後これを逆さにしてふらん器に入れ、35～37℃で約18時間培養した後、発生した大腸菌群の定型的赤色円形集落の個数を算定し、評価した。

理化学試験については公衆浴場法に規定されている水質基準に関する省令で定める検査方法（上水試験方法）に準拠して試験を実施した。

3.1.5 調査結果

(1) レジオネラ属菌の検出状況および血清群分布

循環式浴槽の浴槽水75試料について検査したところ、39試料（52.0%）からレジオネラ属菌が検出された。検出菌数については 10^3 以上 10^4 未満が23試料と最も多く、次いで 10^4 以上、 10^5 未満 10^6 が11試料であった。なお、最高検出菌数は 6.6×10^5 CFU/100mlであった。

分離された菌種はすべて*Legionella pneumophila* であり、3群と5群が高頻度に分離され、次いで1群と6群が多く分離された。冷却塔におけるレジオネラ属菌の生息等報告では*L. pneumophila* 1群が高率に分離されるとのことから特異性を示したものと考えられた。

（表3.1.1～3.1.4）

表3.1.1 関東地区におけるレジオネラ属菌の検出状況(その1)

	検出試料	不検出試料
試料数 (%)	39 (52.0%)	36 (48.0%)

表3.1.2 関東地区におけるレジオネラ属菌の検出状況(その2)

検出菌数 (CFU/100ml)	試料数 (%)
$10 \sim 10^2$	3 (7.7%)
$10^2 \sim 10^3$	0 (0.0%)
$10^3 \sim 10^4$	23 (59.0%)
$10^4 \sim 10^5$	11 (28.2%)
$10^5 \sim 10^6$	2 (5.1%)

表3.1.3 関東地区において検出された分離菌種

<i>L. pneumophila</i>	1群	2群	3群	4群	5群	6群
分離試料数	5	2	15	3	12	7

表3.1.4 関東地区における調査結果

施設 NO	水温 (°C)	残留塩素 (mg/l)	大腸菌群数 1ml中	レジオネラ菌数 100ml中	レジオネラ菌種	血清群	KMnO4	濁度
1	38	0.0	0	2,000	<i>L.pneumophila</i>	5群	2.1	0
2	40	0.0	0	不検出			2.7	0
3	51	0.0	0	不検出			1.5	0
4	41	0.4	0	不検出			2.0	0
5	39	0.0	0	不検出			2.3	0
	39	0.0	0	不検出			2.5	0
	38	0.0	0	不検出			2.9	0
	39	0.0	0	不検出			2.9	0
6	41	10.0	0	不検出			0.0	0
7	40	0.0	0	2,000	<i>L.pneumophila</i>	2群、5群、6群	1.8	0
8	41	0.0	0	34,000	<i>L.pneumophila</i>	3群、5群	3.8	0
9	41	0.0	0	10,000	<i>L.pneumophila</i>	1群	2.5	0
	41	0.0	0	2,000	<i>L.pneumophila</i>	1群	2.3	0
10	45	0.0	0	1,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	2.3	0
	42	0.0	0	89,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	4.3	0
11	41	0.3	0	不検出			2.1	0
	41	<0.1	0	1,000	<i>L.pneumophila</i>		2.2	0
12	41	0.0	0	2,000	<i>L.pneumophila</i>	1群	2.0	1
13	40	0.0	0	4,000	<i>L.pneumophila</i>	1群、3群	3.3	0
	41	0.0	0	5,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	1.5	0
	41	0.0	0	20	<i>L.pneumophila</i>	5群	1.4	0
14	40	0.2	0	不検出			2.4	0
15	42	0.5	0	不検出			3.8	0
	42	0.5	0	不検出			3.3	0
16	40	0.0	0	不検出			2.3	0
17	28	<0.1	0	不検出			1.0	0
18	41	<0.1	0	19,000	<i>L.pneumophila</i>	2群、3群	1.4	0
19	48	0.0	0	不検出			1.7	0
	45	0.0	0	不検出			1.5	0
	42	0.0	0	3,000	<i>L.pneumophila</i>	4群、5群	1.5	0
20	32	0.8	0	不検出			1.2	0
21	42	<0.1	0	1,000	<i>L.pneumophila</i>	5群	2.5	0
	41	0.0	0	不検出			2.3	0
22	40	0.0	0	40	<i>L.pneumophila</i>		1.7	0
23	39	0.0	0	6,000	<i>L.pneumophila</i>	6群	2.6	0
24	46	0.0	0	不検出			1.4	0
25	41	0.0	0	3,000	<i>L.pneumophila</i>	6群	2.0	0
26	40	0.0	0	不検出			2.7	0
27	42	0.0	0	46,000	<i>L.pneumophila</i>	4群	4.6	0
28	35	0.1	0	不検出			3.3	0
29	42	0.0	0	130,000	<i>L.pneumophila</i>	5群	4.2	0
	42	0.0	0	98,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	3.9	0
	42	0.0	0	660,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	7.9	0
30	42	0.8	0	不検出			1.5	0
31	40	0.4	0	不検出			1.4	0
32	42	<0.1	0	31,000	<i>L.pneumophila</i>	1群、5群	1.8	0
33	40	<0.1	0	3,000	<i>L.pneumophila</i>	5群	2.2	0
34	41	0.0	0	不検出			1.2	0
35	39	0.0	0	不検出			1.0	0
36	32	0.0	0	不検出			2.0	0
37	38	>5	0	不検出			0.0	0
38	41	0.0	0	5,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	2.9	0
39	42	0.0	0	不検出			2.3	0
	41	0.0	0	不検出			2.3	0
	40	0.0	0	90,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	2.5	0
40	43	0.0	0	18,000	<i>L.pneumophila</i>	5群、6群	3.3	0
	43	0.0	0	16,000	<i>L.pneumophila</i>	6群	3.8	0
41	39	0.0	0	不検出			2.4	0
	39	0.0	0	10	<i>L.pneumophila</i>	5群	2.6	0
42	39	0.0	0	不検出			2.0	0
	39	0.0	0	1,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	1.8	0
	40	0.0	0	2,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	2.0	0
	38	0.0	0	1,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	2.1	0
43	35	0.0	0	41,000	<i>L.pneumophila</i>		3.3	0
	40	0.0	0	6,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	2.7	0
44	44	0.0	0	1,000	<i>L.pneumophila</i>	3群	2.5	0
45	42	0.0	0	不検出			1.5	0
46	41	0.1	0	不検出			1.8	0
	42	0.2	0	不検出			1.4	0
47	43	0.0	0	2,000	<i>L.pneumophila</i>	6群	2.4	0
	43	0.0	0	不検出			2.3	0
48	41	0.0	0	5,000	<i>L.pneumophila</i>	5群	2.6	0
	41	0.0	0	2,000	<i>L.pneumophila</i>	6群	1.5	0
49	30	0.0	0	3,000	<i>L.pneumophila</i>	4群	3.3	0
50	41	0.0	0	不検出			2.5	0

(2) 殺菌消毒方法とレジオネラ属菌検出率

今回調査した循環式浴槽75件の殺菌方法については塩素、オゾン、紫外線照射、銀系抗菌剤を単独で利用しているものと塩素とオゾンを併用しているもの合計5種類あった。5種類のうちオゾンを利用して殺菌処理を行っているものではレジオネラ属菌が検出された試料が多かった。

(3) 遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌検出率

レジオネラ属菌の検出状況と残留塩素との関係については残留塩素が0.1mg/ℓ以上確保されていた浴槽水からレジオネラ属菌は検出されなかった。しかし、残留塩素が不検出(0.1mg/ℓ未満)の浴槽水61試料のうち39試料(63.9%)からレジオネラ属菌が検出された。

(表3.1.5)

表3.1.5 レジオネラ属菌の検出状況と残留塩素との関係

	残留塩素	
	検出 (0.1mg/ℓ以上)	不検出 (0.1mg/ℓ未満)
レジオネラ属菌検出(39試料)	0	39
レジオネラ属菌不検出(36試料)	14	22

(4) レジオネラ属菌数と理化学検査項目との関係

レジオネラ属菌以外に検査を実施した濁度、過マンガン酸カリウム消費量については公衆浴場法の水質基準(濁度;5度未満、過マンガン酸カリウム消費量;25ppm未満)に適合していた。これらの結果よりレジオネラ属菌と理化学検査項目の間に相関関係は見られなかった。

また、レジオネラ属菌の検出状況と湯温との関係については、検出、不検出との間に差が見られなかった。しかし、レジオネラ属菌が存在した場合、湯温はレジオネラ属菌の発育可能範囲(25~43℃)であるため浴槽内でレジオネラ属菌が増殖する可能性がある。(表3.1.6)

表3.1.6 レジオネラ属菌の検出状況と湯温との関係

	平均(℃)	範囲(℃)
レジオネラ属菌検出(39試料)	40.8	(30~45)
レジオネラ属菌不検出(36試料)	40.0	(28~46)

(5) レジオネラ属菌検出状況と清掃頻度との関係

レジオネラ属菌の検出状況と清掃頻度については浴槽内の清掃が24回/年以下の施設では26施設(66.7%)からレジオネラ属菌が検出したのに対し、25~52回/年の施設では9施設(23.1%)、53~104回/年の施設は無かったことから、清掃頻度が高いほどレジオネラ汚染には一般に有効であると考えられる。ただし、105回/年以上清掃を実施している施設でも3施設でレジオネラ属菌が検出されているが、そのうち1施設は毎回換水はせず(換水頻度は12回/年)に浴槽内の壁面をブラシで擦るなどして垢等の汚れを取り、そのまま循環させてろ過装置で汚れを除去していた(表3.1.7)。

表3.1.7 循環式浴槽におけるレジオネラ属菌の検出と清掃状況について

清掃 (回/年)	不検出	検出	検出濃度(CFU/100ml)		
			$10^2 >$	$10^2 \leq, 10^4 >$	$10^4 \leq$
24回以下	11	26	2	15	9
25~52回	13	9	0	6	3
53~104回	3	0	0	0	0
104回以上	3	3	0	2	1
不明	6	1	1	0	0
計	36	39	3	23	13

(6) レジオネラ属菌検出状況と換水頻度との関係

レジオネラ属菌の検出状況と換水との関係については、換水の実施回数が24回/年以下の施設では27施設(69.2%)からレジオネラ属菌が検出されたのに対し、25回~52回/年の施設では9施設(23.1%)、53回/年以上の施設では2施設(5.1%)(うち1施設は温泉水

利用施設) とレジオネラ属菌検出状況が低下していることから全換水の頻度の増加はレジオネラ汚染対策には有効であると考えられた。(表3.1.8)

表3.1.8 循環式浴槽におけるレジオネラ属菌の検出と全換水状況について

全換水 (回/年)	不検出	検出	$10^2 >$	$10^2 \leq, 10^4 >$ (CFU/100ml)	$10^4 \leq$
24回以下	11	27	2	15	10
25~52回	16	9	0	6	3
53~104回	3	0	0	0	0
104回以上	4	2	0	2	0
不明	2	1	1	0	0
計	36	39	3	23	13

(7) レジオネラ属菌の検出状況と逆洗頻度との関係

レジオネラ属菌の検出状況と逆洗との関係については、使用しているろ過装置に逆洗機能がない施設では18施設(46.1%)からレジオネラ属菌が検出されているが、ろ過装置に逆洗機能がある施設でも14施設(35.9%)からレジオネラ属菌が検出されており、ろ材の逆洗を適切に行う必要性が考えられた。(表3.1.9)

表3.1.9 循環式浴槽におけるレジオネラ属菌の検出と逆洗状況について

逆洗 (回/年)	不検出	検出	$10^2 >$	$10^2 \leq, 10^4 >$ (CFU/100ml)	$10^4 \leq$
24回以下	4	3	0	2	1
25~52回	3	2	0	2	1
53~104回	1	1	0	0	0
104回以上	11	8	0	4	3
不明	2	0	0	0	0
逆洗機能無	12	18	1	13	4
逆洗有無未回答	3	8	2	2	4
計	36	39	3	22	14

(8) 他方式（貯め込み式）の浴槽の調査結果

他方式（貯め込み式）の浴槽を使用している施設を調査した結果、2施設ともレジオネラ属菌、大腸菌群は不検出であった。

3.1.6 考察

今回の調査結果を東京都が1998年に行った特別養護老人ホームの調査結果と比較すると、レジオネラ属菌の検出率では、東京都の調査結果は62.8%であったのに対し、今回の調査では52.0%とやや低率であった。菌数をみると、東京都の調査では約40%が 10^3 のオーダーであり、今回の調査結果と類似した傾向がみられた。また、分離菌種を比較しても *L. pneumophila* の3群と5群が高頻度に分離される傾向は今回の調査結果と共通していた。このように今回の関東地域での調査結果は、東京都の調査結果とほぼ同様な成績であり、社会福祉施設の浴槽水におけるレジオネラ属菌の汚染状況を反映しているものと考えられた。

今回の調査結果では、レジオネラ属菌の検出状況と残留塩素との関係では残留塩素が0.1mg/ℓ以上確保されていた浴槽水からはレジオネラ属菌は検出されなかった。一方、残留塩素が不検出（0.1mg/ℓ未満）であった浴槽水61試料のうち39試料（63.9%）からレジオネラ属菌が検出された。また、東京都の調査でもレジオネラ属菌が検出された試料ではほとんどが残留塩素は検出されなかった。このように、レジオネラ属菌の汚染に対しては遊離残留塩素を0.1mg/ℓ以上保持することが有効であると考えられた。

一方、オゾンを利用して処理を行っている場合ではレジオネラ属菌が検出された試料が多く、この傾向は東京都の調査結果でも顕著であった。このことから、浴槽水におけるレジオネラ属菌対策には現状のオゾン処理では十分な効果は期待できない。

また、循環式ではないホテル等の風呂で利用されている貯め込み式の浴槽については、レジオネラ属菌、大腸菌群ともに不検出であった。

3.2 レジオネラ属菌の検出実態（関西地区）

3.2.1 調査対象施設

特養老人ホームにおける循環式浴槽の設置状況を把握するため事前にアンケートによる調査を実施した。アンケート調査は大阪府内（ただし、大阪市、堺市を除く）の特別養護老人ホーム（以下「特養施設」と称す）132施設について行った。

（1）調査対象施設数

事前のアンケート調査の結果、循環式浴槽を設置していると回答したのは88/132施設（66.7%）であった。調査員が個々の特養施設の現地調査を実施し浴槽およびろ過装置の確認、聞き取り調査を行い、個別調査票を作成した。最終的に、浴槽水採取可能な施設83施設を調査対象施設に選定した。

（2）調査件数

調査件数は、特養施設83施設の循環式浴槽水125検体及び水道水以外の原水（温泉水など）4検体の合計129検体とした。

（3）浴槽水及び原水の採取数

特養施設には循環式浴槽用ろ過器が複数設置されているもの、また入所者用浴槽が複数設置されているものがあり、できるだけその実態を反映するため、以下の条件で検体を採取した。

- ・循環式浴槽用ろ過機が1基、1浴槽設置されている特養施設では1検体を採水する。
- ・循環式浴槽用ろ過機が2基、2浴槽以上設置されている特養施設では、ろ過機の系統ごとに利用者数の多い浴槽から2検体を採水する。
- ・水道水以外の原水（温泉水など）を使用している施設では、原水からのレジオネラ属菌の汚染も考えられることから原水を採水し検体とする。

3.2.2 調査項目

レジオネラ属菌及び公衆浴場法に規定されている濁度、水素イオン濃度、過マンガン酸カリウム消費量、大腸菌群などを調査項目とする。その他の項目として、色度、一般細菌、電気伝導度を測定した。なお、水温及び遊離残留塩素濃度は採水時に測定する。

3.2.3 調査方法

(1) 採水位置

対象浴槽の対角線の交点部位表面から20cmの水深部を採水する。

(2) 採水者

調査対象特養施設の浴槽使用直後、保健所職員が直接採水する。尚、特養施設側の事情で保健所職員が採水できない場合は、当該特養施設職員に依頼する。

(3) 採水量及び容器

細菌試験用の容器は、チオ硫酸ナトリウム添加（20mg/100ml）滅菌500ml瓶、理化学試験用容器は1ℓ採水瓶とする。

(4) 試料の搬入方法

採水した検体は、保冷材の入ったクーラーボックスに保存し、2時間以内に検査室に搬入する。

3.2.4 試験方法

検体中のレジオネラ属菌数が予測できないため冷却遠心法により濃縮した試料及び非濃縮試料を同時に試験する。試験法は「新版レジオネラ症防止指針」（厚生省生活衛生局企画課監修）に準じて行う。公衆浴場法に規定された項目については、同法に準じて行う。それ以外の項目については、上水試験方法に準じて試験する。

(1) レジオネラ属菌培養試験

①冷却遠心濃縮法

滅菌遠沈管を秤量し、検水200mlを遠沈管に分取、秤量する。7000rpm、30分遠心を行う。沈渣が2mlになるように上清を吸引し捨てる。Vortex mixerで管内壁をよく攪拌、洗浄した後、秤量し、濃縮倍率を計算する。沈渣1mlに0.2M HCl・KCl buffer (pH2.2) 1mlを加え攪拌、室温に20分間放置する。その100μℓをWY0-α寒天培地（栄研化学製）2枚に塗抹する。36±1℃、5～7日間培養する。培養後、レジオネラ属菌を疑う灰白色湿潤コロニーを釣菌しBCYE α培地（栄研化学製）及び血液寒天培地（栄研化学製）に展開する。36±1℃で48時間後、BCYE α培地に発育し、血液寒天培地には発育しないコロニーをレジオネラ属菌陽性と推定する。次にグラム染色（B&M、和光純薬工業製）を行いグラム陰性桿菌であることを確認する。

②直接原液培養法

検水1mlを取り0.2M HCl・KCl buffer (pH2.2) 1mlを加え攪拌、室温に20分間放置する。その100 μ lをWY0- α 寒天培地2枚に塗抹する。36 \pm 1 $^{\circ}$ Cで5~7日間培養する。

(2) 馬尿酸水解試験

1%馬尿酸水解溶液0.4mlにBCYE α 寒天培地48時間培養菌を1白菌耳懸濁し、36 \pm 1 $^{\circ}$ C、18~20時間静置する。3.5%ニンヒドリン・アセトン：ブタノール(1:1)溶液0.2mlを加え静かに混和し36 \pm 1 $^{\circ}$ C、10分間保持する。20分以内に色調変化を確認し、紫青色が発現したものを陽性とする。

(3) 抗血清によるスライド凝集反応

馬尿酸水解試験で陽性になったコロニーについては、*L. pneumophila* 1~15群抗血清によるスライド凝集反応を行う。馬尿酸水解試験で陰性になったコロニーについては、*L. pneumophila* 1~15以外の*L. micdadei*, *L. bozemani*, *L. gormanii*, *L. dumoffii*の抗血清スライド凝集反応を行う(デンカ生研製)。

試験法：生理食塩水0.3mlに被検菌を懸濁、121 $^{\circ}$ C、15分で2回加熱処理を行い、これを抗原液とする。スライドガラス上の区画に各免疫血清と対照として生理食塩液1滴づつを滴下する。これに上記被菌抗原液を1白金耳とりよく混和する。1分以内に凝集が見られたものを陽性とする。

(4) 大腸菌群試験

検水1mlをPBS buffer 9mlに加え希釈操作を行う。これを繰り返し 10^{-1} ~ 10^{-3} の希釈液を作成する。シャーレ2枚に希釈液1mlを採り、デソキシコレイト寒天培地(栄研化学製)を加え混釈する。寒天が固まった後、さらにデソキシコレイト寒天培地を重層する。36 \pm 1 $^{\circ}$ C、18~20時間培養する。

(5) 一般細菌試験

検水1mlをPBS buffer 9mlに加え希釈操作を行う。これを繰り返し 10^{-1} ~ 10^{-3} の希釈液を作成する。シャーレ2枚に希釈液1mlを採り、標準寒天培地(栄研化学製)を加え混釈する。36 \pm 1 $^{\circ}$ C、18~20時間培養する。

3.2.5 調査結果

調査施設概要および調査結果一覧については表3.2.1に示す。

(1) 特養施設浴槽水の殺菌方法の種類

調査した浴槽水125件の殺菌消毒方法は、塩素を使用しているもの、塩素とオゾン、紫外線照射、銀系抗菌剤を併用しているもの、さらにオゾン、紫外線、銀系抗菌剤を単独使用しているなど7種類であった（表3.2.2）。塩素殺菌をしている浴槽は、最も多く86件（68.8%）で、塩素殺菌にオゾン、紫外線照射、銀系抗菌剤を併用しているものを合わせると95件（76.0%）にのぼった。塩素殺菌に次いで多いのは、オゾン殺菌を使用している浴槽で17件（13.6%）であった。また、いずれの殺菌消毒方法も採用していない浴槽も8件（6.4%）みられた。

表3.2.2 殺菌消毒方法別にみた設置浴槽

殺菌消毒方法	浴槽数	割合（%）
塩素	86	68.8
塩素+オゾン	5	4.0
塩素+紫外線	2	1.6
塩素+銀系抗菌剤	2	1.6
オゾン単独	17	13.6
紫外線単独	2	1.6
銀系抗菌剤単独	3	2.4
なし	8	6.4

(2) 特養施設における浴槽水のレジオネラ属菌数の検出状況

125件の浴槽水について調査した結果、60検体（48.0%）がレジオネラ属菌陽性であった。浴槽水のレジオネラ属菌数（CFU/100ml）の分布は、培養陽性検体の19.2%（24検体）が 10^1 以上 10^2 未満で、次いで12.0%（15検体）が 10^2 以上 10^3 未満であった。1.6%（2検体）が 10^3 以上の高濃度のものであった（表3.2.3）。なお、検出限界以下（ <10 CFU/100ml）のものは52.0%（65検体）であった。

表3.2.3 浴槽水におけるレジオネラ属菌の分布

レジオネラ属菌数	施設数	割合 (%)
10 未満	65	52.0
10 ~ 10 ²	24	19.2
10 ² ~ 10 ³	15	12.0
10 ³ ~ 10 ⁴	8	6.4
10 ⁴ ~ 10 ⁵	11	8.8
10 ⁵ 以上	2	1.6
合 計	125	100

(3) 特養施設浴槽水から分離されたレジオネラ属菌数の血清群分布

分離されたレジオネラ属菌78株の血清群分布をみると、*L. pneumophila* 5群が28株 (35.9%) と最も多く、ついで1群の16株 (20.5%)、6群の12株 (15.4%) の順であった。2群の分離頻度は最も低く2株 (2.6%) であった (図3.2.1)。

(4) 遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌数

塩素殺菌を採用している浴槽水におけるレジオネラ属菌陽性検体は32件であった。塩素濃度 (mg/ℓ) でみると「検出しない」範囲の浴槽水は24件 (75.1%) がレジオネラ属菌陽性、0.2mg/ℓ の未満の範囲では29件、90.7% が陽性であった。一方、0.4mg/ℓ 以上の塩素濃度を維持している浴槽水からレジオネラ属菌は検出されなかった (表3.2.4)。

表3.2.4 レジオネラ属菌が検出された浴槽の塩素濃度

遊離残留塩素 (mg/ℓ)	検出件数	割合 (%)
0.4以上	0	0.0
0.3	1	3.1
0.2	2	6.3
0.1	5	15.6
検出しない	24	75.1
合 計	32	100.0

(5) レジオネラ属菌と一般細菌

浴槽水における一般細菌数の最大値～最小値、平均値は各々 $1.6 \times 10^6 \sim 0.63 \times 10^5$ CFU/mlであった。レジオネラ属菌数の最大値～最小値、平均値は各々 $2.5 \times 10^3 \sim 10.32 \times 10^2$ CFU/100mlであった。これらの相関をみると、一般細菌数とレジオネラ属菌数の間に相関関係は認められなかった(図3.2.2)。

(6) レジオネラ属菌と過マンガン酸カリウム消費量

過マンガン酸カリウム消費量は、浴槽水の有機物汚染指標を表す。そのため過マンガン酸カリウム消費量が高くなると塩素が消費されレジオネラ属菌陽性率が上ると予想された。調査の結果、過マンガン酸カリウム消費量は1.0～2.0mg/lレベルのものが最も多く52件(41.6%)で、ついで2.1～3.0mg/lのものが36件(28.8%)であった。特養施設の過マンガン酸カリウム消費量は全般的に低値域に分布している。最大値～最小値、平均値は各々13.5～0.6、3.1mg/lであった。最大値13.5mg/lでも公衆浴場浴槽水の水質基準(25mg/l以下)を越えていない(図3.2.3)。レジオネラ属菌数と過マンガン酸カリウム消費量の間に相関関係は認められなかった(図3.2.4)。

(7) レジオネラ属菌とpH

レジオネラ属菌陽性浴槽水のpH値に特徴があるかどうか解析した。pH値の最大～最小値、平均値は各々8.55～7.07、7.81であり、ややアルカリ側に分布する傾向が認められた。レジオネラ属菌数とpHの両者の間に相関関係は認められなかった(図3.2.5)。

(8) レジオネラ属菌陽性検体のうち遊離残留塩素不検出群の特性

① レジオネラ属菌陽性率と清掃頻度の関係

レジオネラ属菌陽性比率は、浴槽の清掃頻度とどのような関係があるのかを解析した。陽性検体を遊離残留塩素濃度によって、遊離残留塩素検出群と不検出群の二群に大別した。遊離残留塩素不検出群のレジオネラ属菌陽性検体は47件であった。これらのレジオネラ属菌陽性率と清掃頻度の関係を示した(図3.2.6)。月当たりの清掃頻度が12回/年以下では83.3%が陽性を示し、12回～48回/年の清掃頻度では、80.0%が陽性、48回/年以上では72.4%が陽性を示した。このように清掃回数が増すにつれて陽性率は減少する傾向が認められた。残留塩素検出群においても清掃頻度と陽性率の関係は、清掃頻度が増すに従って25.

0%、20.0%、19.4%と暫減する傾向が認められる。

② 過マンガン酸消費量と清掃頻度の関係

レジオネラ属菌陽性検体で遊離残留塩素不検出群における清掃頻度と過マンガン酸カリウム消費量の関係について解析した。清掃頻度が12回/年以下、12～48回/年、48回/年以上の3群と過マンガン酸カリウム消費量の関係を見ると清掃頻度が増すに従って過マンガン酸カリウム消費量は減少していく傾向が認められる（図3.2.7）。t検定の結果、清掃頻度12回/年以下の群と12～48回/年及び48回/年以上群の間に有意差が認められた。

(9) 大腸菌群

125浴槽中大腸菌群陽性の4検体であり、これらのものは公衆浴場浴槽水の水質基準（1 CFU/ml以下）を越えたものであった。その遊離残留塩素濃度（mg/l）をみると、「検出しない」レベルの低いものであった（表3.2.5）。

表3.2.5 大腸菌群陽性検体数と遊離残留塩素濃度

大腸菌群	CFU/ml	検体数	遊離残留塩素濃度 (mg/l)
陽性	1	2	検出しない
	3	1	
	20	1	
陰性	0	121	検出しない ～5.00

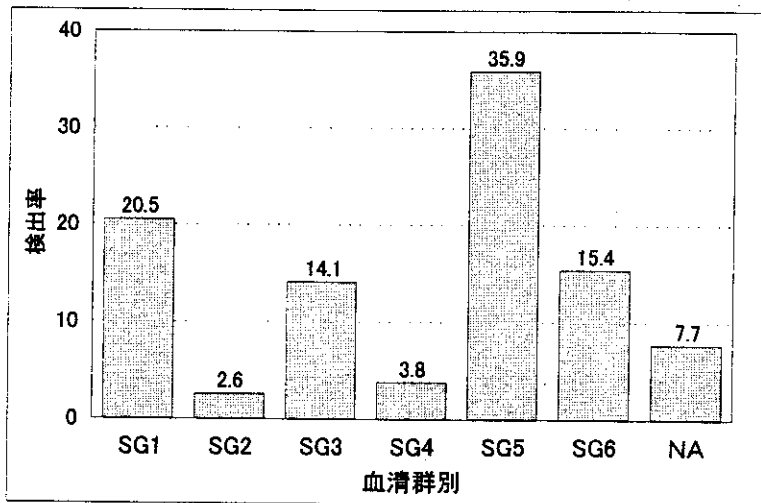


図 3.2.1 浴槽水から分離されたレジオネラ属菌の血清群分布

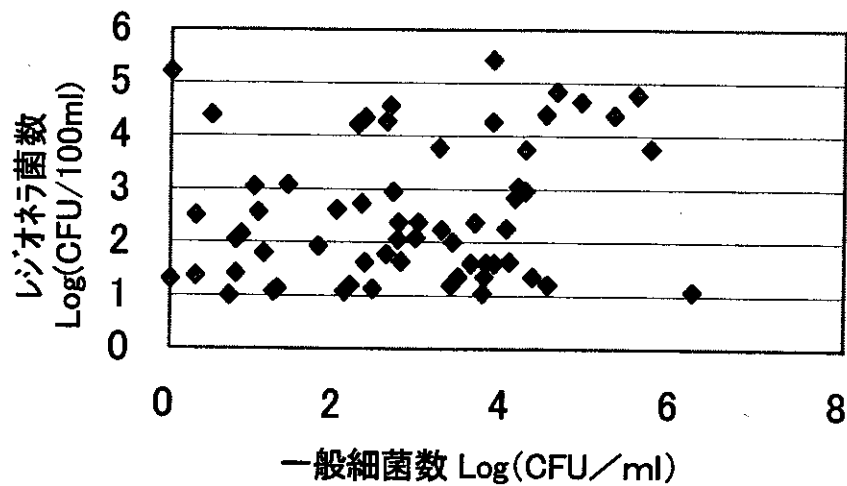


図 3.2.2 レジオネラ属菌数と一般細菌数との関係

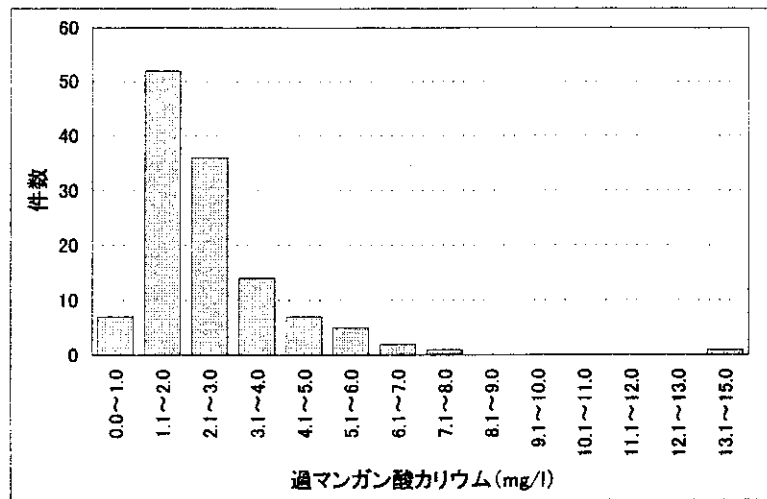


図 3.2.3 浴槽水における過マンガン酸カリウム消費量の分布

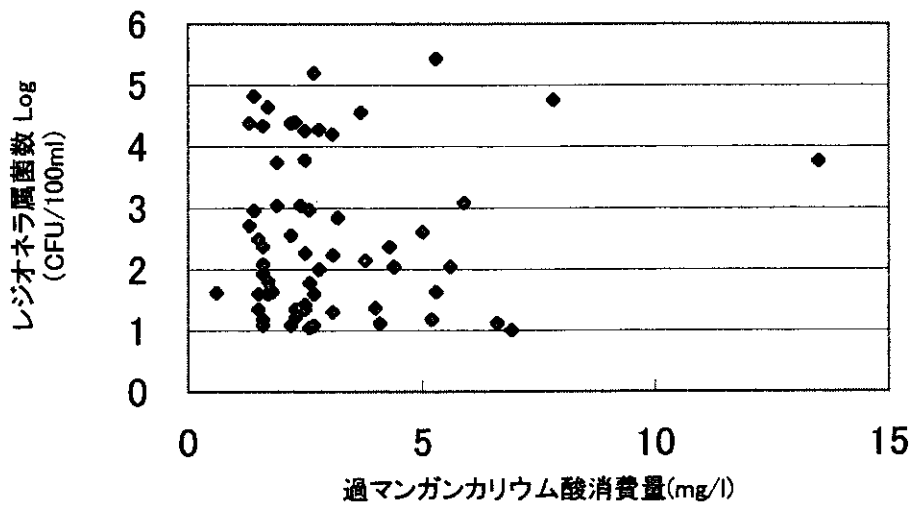


図 3.2.4 レジオネラ属菌と過マンガン酸カリウム消費量との関係

