

20050(236A)

厚生労働科学研究費補助金

健康科学総合研究事業

掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の
開発等に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 井上 博雄

平成18(2006)年4月

目 次

I. 総括研究報告	
掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究	1
井上博雄	
II. 分担研究報告	
1. 源泉の AOC 濃度測定	17
遠藤卓郎、烏谷竜哉、縣邦雄	
2. 源泉貯槽のバイオフィルム調査	23
遠藤卓郎、大谷勝実、黒木俊郎、杉山寛治、烏谷竜哉、藏元強、縣邦雄	
3. PCR-DGGE 法による給湯配管系等水環境中の細菌叢の解析	39
遠藤卓郎、黒木俊郎、烏谷竜哉	
4. 紫外線殺菌装置の有効性評価	55
遠藤卓郎、大谷勝実、黒木俊郎、杉山寛治、縣邦雄	
5. 掛け流し式温泉における病原微生物汚染の実態調査	69
(1) 衛生管理、施設設備の問題点	
遠藤卓郎、村上光一、大谷勝実、黒木俊郎、杉山寛治、烏谷竜哉、藏元強	
6. 掛け流し式温泉における病原微生物汚染の実態調査	85
(2) 微生物汚染に影響する要因	
烏谷竜哉、遠藤卓郎、倉文明、大谷勝実、黒木俊郎、杉山寛治、藏元強、 縣邦雄、山崎和生	
(資料 1) 掛け流し式温泉実態調査 細菌検査マニュアル	
(資料 2) 研究協力者の調査概要報告書	
7. 掛け流し式温泉施設に対するアンケート調査	137
黒木俊郎、遠藤卓郎、縣邦雄	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	167

I 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
総括研究報告書

「掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究」

主任研究者 井上 博雄 愛媛県立衛生環境研究所長

分担研究者 遠藤 卓郎 国立感染症研究所 寄生動物部長
倉 文明 国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官
大谷 勝実 山形県衛生研究所 副所長
黒木 俊郎 神奈川県衛生研究所 微生物部 主任研究員
杉山 寛治 静岡県環境衛生科学研究所 微生物部 主幹
烏谷 竜哉 愛媛県立衛生環境研究所 衛生研究課 主任研究員
藏元 強 鹿児島県環境保健センター 微生物部長
縣 邦雄 アクアス株式会社 つくば総合研究所長
山崎 和生 株式会社 西原衛生工業所 技術部付部長

研究要旨

病原微生物汚染状況や衛生管理などの実態が不明な掛け流し式温泉で、その現状を把握し、衛生管理手法の開発に資する基礎データを得る目的で以下検討した。

1. 微生物汚染ポテンシャルの評価

源泉の AOC 濃度測定； 源泉の微生物増殖能力（増殖ポテンシャル）の評価指標として AOC（同化性有機炭素, Assimilable Organic Carbon）濃度測定を行った。AOC 値は 2~314 μ g/L の範囲であり、レジオネラ属菌汚染の警戒値は約 100 μ g/L であった。

貯湯槽のバイオフィーム調査； 浸漬したシリコンゴム板での経時的なバイオフィーム形成が観察され、レジオネラ属菌の定着は 2~3 ヶ月で確認された。

PCR-DGGE 法による給湯配管系等水環境中の細菌叢の解析； 2 桁以上の泳動バンドが観察され、多様な細菌叢の存在を確認した。源泉の増殖ポテンシャルが高い場合は、貯湯槽、配管系、注湯口でほぼ同一パターンを示したが、浴槽では全く異なるパターンであり、浴槽と貯湯槽、配管系の汚染は質的に異なることが示唆された。

2. 紫外線殺菌装置の有効性評価

貯湯槽でレジオネラ属菌が増殖する施設では、注湯口の間近に紫外線殺菌装置を設置する事が有効との結果を得た。

3. 掛け流し式温泉における病原微生物汚染の実態調査

全国 13 府県のいわゆる掛け流し式温泉 107 施設で、レジオネラ属菌など病原微生物汚染状況等を調査した。浴槽水を塩素等で消毒してない施設が 75 %、貯湯槽を設置している施設は 71 %あるが、貯湯槽、配管系ともあまり清掃されてなく、浴槽水の完全換水、毎日清掃は 72 %に留まっている。この状態で、浴槽でのレジオネラ属菌検出率は 49 %に上り、注湯口では 22 %であった。浴槽および注湯口とその上流双

方のバイオフィルム対策が必要であることがわかった。さらに、レジオネラ属菌は pH 6.0 未満では検出されず、硫黄泉では低率に、塩化物泉では高率に検出された。また、浴槽の材質、洗浄方法による検出率の相違や、貯湯槽の温度管理の必要性も確認された。浴槽では糞便性由来やヒト由来細菌の対策も必要となる。貯湯槽、配管系、注湯口までの管理指標の一つとして、従属栄養細菌数が活用できる可能性を確認した。以上、泉質毎での衛生管理の必要性等、衛生管理手法の開発に資する基礎的データを得た。

4. 掛け流し式温泉施設に対するアンケート調査

掛け流し式を標榜する温泉施設を対象に、泉質、浴槽の清掃・消毒の有無等についてアンケートを実施し、全国 120 施設から回答を得た。消毒なし 65 %、自前の貯湯タンクあり 49 %、毎日完全換水 72 %など、管理状況の傾向を把握できた。また、浴槽容量と補給湯量の関係など、施設設計の問題点を明らかにした。

総合的な観点から掛け流し式温泉の衛生管理に資する有効なデータを得た。

A. 目的

循環式浴槽によるレジオネラ属菌集団感染の多発を契機に、レジオネラ属菌に対する規制や塩素消毒の徹底が図られてきた。その一方、掛け流し式温泉では泉質によっては塩素が適用できない事もあり、また、その現状も不明の点も多く、安全性の確保に不確定な要素が残る。一般的には安全性が確保できる場合は塩素等無添加で利用することが好ましい。そこで、掛け流し式温泉における最適な衛生管理手法を確立する事を目的として、掛け流し式温泉の構造設備や衛生管理状況の現状分析、微生物学的汚染に係る諸要因の検討ならびに実態調査等を実施した。

し易さ、すなわち源泉に含まれる微生物が利用可能な炭素量増殖ポテンシャルは、源泉ごとに異なると予想される。源泉の微生物増殖能力（増殖ポテンシャル）を測定する目的で AOC 濃度を測定した。表 1 に示すように AOC 測定値は 2~314 $\mu\text{g/L}$ の範囲であった。レジオネラ属菌が陽性であった試料はいずれも 100 $\mu\text{g/L}$ を超えており、今回の調査からレジオネラ属菌汚染の警戒値は 100 $\mu\text{g/L}$ 前後であることが示された。手技として煩雑な AOC 測定の代替方法として TOC（全有機炭素、Total Organic Carbon）測定を検討したが、現時点では相関が乏しかった。

B. 検討内容

まず「掛け流し式温泉」を以下のごとく定義した。

- ・浴槽に循環系の配管あるいは連通管等の配管を一切持たない構造。
- ・浴槽は一日の営業終了後に完全換水および清掃を行っている。

現状でのこの定義の充足率についてはそれぞれ実態調査、アンケート調査の項で記す。

1. 源泉の AOC 濃度測定

基本的に有機物が多い環境中でレジオネラ属菌は生じると考えられるが、タンクや配管中での増殖の

2. 源泉貯槽のバイオフィルム調査

源泉自体の汚染がなくても、貯湯槽(源泉貯槽)で大気に開放のまま貯留されると、レジオネラ属菌が増殖する可能性が高い。貯湯槽内でのバイオフィルム形成およびレジオネラ属菌定着の評価と、貯湯槽清掃頻度の検討の基礎データを得るため、貯湯槽内でのバイオフィルム形成程度を経時的に調査した。図 1 に示すシリコンゴム板を空気に露出しない深さに浸漬し、定期的に取り出し、レジオネラ属菌数など付着したバイオフィルムの微生物量を測定した。4 施設で実施し、全ての施設で経時的にバイオフィルムの形成が確認された。18℃と低水温の施設では、

一般細菌、HPC（従属栄養細菌）、アメーバ類とも貯湯水、シリコンゴム板の両方で高く、設置後3ヶ月目からレジオネラ属菌が定着した。水温48~53℃の3施設のうち、水温が50℃以上を記録する2施設では貯湯水の微生物数は少なく、シリコンゴム板の一般細菌、HPCは経時的に増加したが、ともにレジオネラ属菌の定着は認められなかった。水温が48℃とやや低い1施設では他と比較して一般細菌、HPCは多くないが、レジオネラ属菌の定着が認められた。シリコンゴム板への定着は2ヶ月目からであった。

上記調査とは別個に、42℃の水中でのバイオフィーム付着量に関するモデル実験を行った。バイオフィーム付着程度は早く、栄養条件が充たされれば3日目で多くの細菌が付着し、過マンガン酸カリウム消費量が高い試料ではバイオフィーム付着の促進が確認された。

3. PCR-DGGE 法による給湯配管系等水環境中の細菌叢の解析

掛け流し式温泉の衛生管理は完全換水と物理的洗浄が基本であるが、給湯水が汚染されていない事が前提となる。これまで、貯湯槽（源泉タンク）や配管での実態は不明であり、その実態を明らかにする事を目的としてPCR-DGGE法（Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動）を用いた細菌叢の解析を行った。PCR-DGGE法は、試料濃縮、PCR、DGGE分離、バンドの比較解析を行うが、複数の菌種を含む試料から分離培養を行わず細菌叢を明らかにする事が特長で、パターンを比較並びに試料中に含まれる代表的な菌種の塩基配列決定による同定を試みた。その結果、いずれのパターンにおいても2桁以上のバンドが観察され、貯湯槽あるいは配管に多様な細菌叢が存在していることが示された。バンドパターンの比較から、配管を通過する間に配管の汚染を受けて優先微生物種が変化する場合（図2）と、源泉の増殖ポテンシャルが高く貯湯槽から配管まで同じ微生物叢で占められている場合（図3、レーン1~5、8~10）が認められた。一方、浴槽水中の微生物叢は配管とは全

く異なるパターンを示し（図3、レーン6、7、11、12）、浴槽と貯湯槽、配管系の汚染は質的に異なることが示唆された。さらに、施設間で共通して検出されるバンドは見出されず、個々の施設において独立した細菌叢が定着・増殖しているものと推察された。

4. 紫外線殺菌装置の有効性評価

掛け流し式温泉の浴槽水中のレジオネラ属菌抑制対策として、紫外線殺菌装置の有効性を確認するため、3温泉施設の協力を得て供給湯配管に流水式紫外線殺菌装置を設置し、浴槽水のレジオネラ属菌等の挙動を調査した。その結果、泉温の高い2施設（51℃、57℃）では双方とも紫外線処理前でもレジオネラ属菌が不検出ないし10CFU/100mlと低いが、紫外線殺菌装置出口では常時不検出に維持できた。しかし、供給湯中のレジオネラ属菌不検出の状態でも浴槽水からレジオネラ属菌が検出され、浴槽内部のバイオフィーム除去が重要である事が示された。掛け流し式温泉浴槽のレジオネラ属菌対策として、貯湯槽でレジオネラ属菌が増殖する施設で、湯口の付近に紫外線殺菌装置を設置する事は有効である。

5. 掛け流し式温泉における病原微生物汚染の実態調査（1）衛生管理、施設設備の問題点

掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法を開発する事を目的に、全国13府県のいわゆる掛け流し式温泉107施設に対して衛生管理及び衛生管理に関する施設の設備状況等の実態を調査した（表2）。表3に泉質別調査施設を示すが、塩化物泉、単純温泉が多かった。泉温は50℃以上を示す施設が62%と過半数を占め、42℃以上の高温泉が83%を占めていた。湧出量は100L/分未満の施設が最も多く39%であった。「掛け流し式温泉」についての当研究班での定義「浴槽に循環系の配管あるいは連通管等の配管を一切持たない構造」に関しては7浴槽（6%）に循環配管があり、「実態調査（2）微生物汚染に影響する要因」からは除外した。定義「浴槽は一日の営業終了後に完全換水および清掃を行っている」は72%の充足率であった（図4）。図5に掛け流し式

温泉のイメージを示すが、今回の調査で71%の施設が貯湯槽を有しており(図6)、浴槽の換水率は一時間当たり0.2回以下が半数を占め、平均0.36回(ほぼ3時間に一度浴槽水が入れ替わる)であった。一日一度の完全換水は72%であったが、二日以上に一度の浴槽水入れ替えが18%もあった。「掛け流し式温泉」への信頼が衛生管理の自信のせい、消毒ありが23%、消毒なしが75%であり、貯湯槽、配管系の清掃頻度は低かった。貯湯槽の温度管理に関しても、設定温度を源泉のままとする施設が79%にも上り、60℃以上と推定される施設は31%に過ぎなかった。当調査から、掛け流し式温泉における衛生管理の貧弱な現状が把握され、温泉管理者等への一層の注意の喚起と啓発が求められる。

6. 掛け流し式温泉における病原微生物汚染の実態調査(2) 微生物汚染に影響する要因

実態調査(1)の全国13府県、107施設(表2)の浴槽、注湯口、貯湯槽、源泉について、環境由来微生物としてレジオネラ属菌、抗酸菌、アメーバ、糞便性微生物として大腸菌、大腸菌群、ヒト由来微生物として緑膿菌、黄色ブドウ球菌、清浄度指標として一般細菌、従属栄養細菌(HPC)および全有機炭素(TOC)等有機物指標を調査した。なお、レジオネラ属菌が検出された場合には施設責任者に対して通知し、自主的な改善を求め、継続的な指導を行った。環境由来微生物はバイオフィーム形成の結果と考えられるが、表4に示すようにレジオネラ属菌、抗酸菌、アメーバ共浴槽で最も多く検出され、それぞれ、49%、5%、35%であり、浴槽でのバイオフィーム制御の困難さが示唆された。なお、抗酸菌は循環式浴槽では検出率20%であり(遠藤卓郎、平成16年度厚生労働科学研究事業報告書)、今回の低い検出率は、温泉水が持続的に循環しない掛け流し式の特性によると推定される。また、各微生物とも源泉からは全く検出されず、貯湯槽、注湯口で検出され、レジオネラ属菌はそれぞれ9%、22%と清浄な源泉が貯湯槽、配管系を辿るにつれ、バイオフィームが形成される状態を示している。同一施設で浴槽とその上流の注湯口等をペアで調査した72組

中注湯口等のみから2例の検出、浴槽から検出された42例中13例(31%)は双方とも、29例(69%)は浴槽のみの検出である(図7)。これらの結果から、清浄な源泉のほぼ60%(44/72)が下流へと流出する過程でレジオネラ属菌汚染を受ける。この部位別の汚染を受けるリスクは、注湯口までの貯湯槽・配管系を1とすると浴槽では2倍のリスクがある。このことから衛生管理は浴槽と貯湯槽、配管系に大別して考察する必要がある。循環式浴槽の塩素消毒の徹底に伴い、選択的に*Legionella pneumophila* 血清群1の占める比率が増加しているが(遠藤卓郎、同報告書)、無消毒が75%を占める今回の掛け流し式での調査では血清群1は血清群3、5、6とほぼ同率であり、選択を受けていない事が示唆された(図8)。浴槽での大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌汚染はそれぞれ40%、36%、26%であり、WHOガイドラインで推奨している水質基準、緑膿菌10個/100ml未満で17%、黄色ブドウ球菌30個/100ml未満では11%に超過している浴槽があり、浴槽の衛生管理の更なる課題が提起された。清浄度指標であるHPC数をレジオネラ属菌陽性群、陰性群別にプロットすると(図9)、陽性群の平均値は1.6log有意に高く、汚染状態を示していた。HPC数200CFU/mlをカットオフとすると200CFU/ml以下は陽性群では9.5%と少なく、陰性群は50%が清浄であった。この基準で比較すると、源泉67%、貯湯槽65%、注湯口73%と清浄が多く、浴槽は17%と低く、浴槽での汚染の進行が認められた。このHPC<200CFU/mlも、レジオネラ属菌検出についてはバイオフィーム形成を予見する管理指標の一つとして有効と思われる。表5及び図10に浴槽でのレジオネラ属菌の泉質別検出状況を示すが、pH<6.0の酸性/弱酸性泉および硫黄泉で有意に低く、逆に塩化物を含む泉質では49件中35件(71%)、特に塩化物/炭酸水素塩泉では83%とさらに高率で、有意に高い検出率を示した。興味あるのは、塩化物泉はその他の泉質と比較するとブラシ等の物理的洗浄においても洗浄効果が得られにくい事が示唆され(図12)、スケールの生じ易さやバイオフィーム定着し易さ等の可能性もあり、今後の検討が待たれる。このことから泉質

別の衛生管理の必要性がクローズアップされた。

－衛生管理の現状と課題－

(1) 浴槽でのバイオフィーム対策の現状と課題

23%しか消毒していない当調査で、遊離残留塩素濃度 0.2mg/L 以上で消毒効果を見ると、HPC およびアメーバでは有意に消毒効果が認められるが、レジオネラ属菌には塩素消毒の有効性は確認できなかった。当研究班として塩素消毒を全面的に推奨するものではないが、どうしても使用しなければならない条件においても、事前に試行的に使用し、有効性を確認する事を強調しておきたい。pH 9.0 以上のアルカリ泉や、有機物の多い温泉での消毒効果の減弱は、当調査においても確認されている。また、大腸菌等ヒトの持ち込む微生物いずれに対しても、検出率の減少傾向は示すものの有意な消毒効果は認められなかった。

浴槽の材質に関しては図 11 に示すようにレジオネラ検出率はタイル、石で高く、コンクリートで低い傾向にあった。今後の課題としては、目地、欠損部位、複雑な構造物、水の滞留する部位など、バイオフィームの形成し易さ、発見し難さ、あるいは除去し難さの重要管理点を抽出し、点検作業表を作成するための基礎データを得ることである。

浴槽の洗浄効果については興味ある知見が得られた。洗浄方法とレジオネラ属菌の検出率を見ると(図 12) ブラシで物理的に除去しないと 77%検出されるが、ブラシ主体で洗浄すると 28%に低下する。ブラッシングと消毒あるいは洗剤を併用すると中途半端な洗浄効果しか得られていない。消毒剤、洗剤使用への過信が伺えて、ブラッシングによる物理的洗浄の重要性が確認できた。さらにブラッシングと洗剤では特に塩化物泉では洗浄効果が認められず、泉質による有効な洗浄方法も今後の課題である。しかし、いかなる泉質でも洗剤とブラッシングで徹底洗浄後、十分な水洗いで仕上げに消毒とする手順が重要である。

(2) 浴槽でのヒトの持ち込む微生物対策の現状と課題

ヒトの持ち込む微生物に対しても、有効な消毒効

果は確認されていない。試料の採取時刻、入浴者数との関係では、これら微生物は夕刻以降増加し、入浴者の増加と共に増加した。これら微生物は浴槽水の交換によって排出されると考えられるが、換水率(1時間当たりで浴槽水が入れ替わる割合)との関係は認められなかった。ヒトが持ち込む微生物量の動態は浴槽容量、給湯量、入浴者数、換水率、など多くの要因に影響され、個別の温泉の検討も含めさらに検討を要す。

(3) 貯湯槽、配管系のバイオフィーム対策の現状と課題

貯湯槽の清掃は未実施 25%、定期的実施 54%、その内、半年以上で一度とする施設が 41%を占めている。また、配管系の清掃では本管、施設内配管とも実施はそれぞれ 40%、60%弱であり、温泉管理者等の衛生管理への関心が向上するよう注意を喚起することが課題である。

温度管理に関しては、当調査で貯湯槽の温度設定を 60°C以上に維持していると推定される施設は約 30%で、その意識は非常に低い。図 13 に貯湯槽等の泉温とレジオネラ属菌およびアメーバの検出率を示すが、レジオネラ属菌は 55°C以上で検出されず、50°C以上でも 8%の検出率である。アメーバはより顕著で 45°C以上で検出されていない。貯湯槽、配管系の温度管理は非常に有効で、バイオフィームの発生を抑えるため貯湯槽 60°C以上(最大使用時で 55°C以上)が極めて有効である。

7. 掛け流し式温泉施設に対するアンケート調査

掛け流し式温泉の実態を把握するため、全国旅館生活衛生同業組合連合会の協力を得て、掛け流し式を標榜する全国 190 施設にアンケートを実施し、120 施設から回答を得た。回収率は 63%であった。掛け流し式温泉についての当研究班での定義「浴槽に循環系の配管あるいは連通管等の配管を一切持たない構造」に関しては、有りが 14%、無しが 86%で循環配管の目的は温度調節が最も多かった。定義「浴槽は一日の営業終了後に完全換水および清掃を行っている。」では完全換水は実態調査と全く同じで 72%、週に一度が 18%であった。清掃の頻度は毎

日が 92 % と高かった。泉質は実態調査とほぼ同じで塩化物泉、単純泉が多かった。貯湯槽（貯湯タンク）有りが 49 %、無しが 42 %、集中の供給システムから分散が 9 % であった。消毒に関しては塩素消毒 25 %、消毒無し 65 % と実態調査とほぼ同じ傾向が認められた。

今回の調査によって掛け流し式温泉施設と循環式温泉施設では明らかに管理状況が異なることが浮き彫りとなった。すなわち、循環式浴槽では浴槽を水抜き清掃する頻度が週に 1 回程度と少ないが、塩素消毒は 65% の施設で実施していた。一方、掛け流し式温泉では半数以上の施設が浴槽を毎日水抜き清掃しているが、浴槽の消毒を行わない施設が 70% に昇ることが明らかとなった。また、浴槽の容量と補給湯量から満水に必要な時間を算出すると、最も大きな浴槽を満水にするのに 10～24 時間を要する施設が 7 施設、24 時間以上を要する施設が 21 施設あった。レジオネラ属菌等の微生物の発生や定着、残留を除くためには、浴槽の湯を抜いた状態での清掃と消毒は不可欠であり、掛け流し式温泉においては浴槽の容量と補給湯量のバランスを考慮した施設の設計が望まれる。実態調査とは若干異なる点も認められたが、旅館業での清掃や消毒の実態が明らかになった。

C. 結論

これまで良く研究されてきた循環式温泉に比し、掛け流し式温泉はより単純な構造であり、より単純な機能である。当研究班の定義に合った掛け流し式温泉に適切な衛生管理手法を開発するための研究、調査を行い、以下の結論を得た。まず微生物汚染ポテンシャルの評価として、源泉では AOC 濃度測定を行い、レジオネラ汚染の警戒値は約 100 μ g/L と算定した。貯湯槽のバイオフィーム形成は 2～3 ヶ月で形成、定着することを確認した。PCR-DGGE 法を用いて配管系の細菌叢を解析した結果、多様な細菌から構成されていて、その構成は施設ごとで異なり、且つ、浴槽では配管系とは異なる優先種の交代を示唆するパターンの変化が認められた。塩基配列の解析により各細菌の同定を行うことにより、従

来の分離培養によらない新知見が得られることが期待される。紫外線殺菌装置の有効性評価では、限られた施設での調査であったが、貯湯槽でレジオネラ属菌が増殖する施設では注湯口間近に紫外線殺菌装置を設置する事が有効との結果を得た。全国 13 府県 107 の掛け流し式温泉施設に対してはじめての系統的な実態調査を行い、多くの有益な結果を得た。要点のみ記すが、75 % が消毒は無く、貯湯槽は 71 % にあり、浴槽の完全換水、毎日清掃は 72 % に留まっていた。レジオネラ属菌は半数の浴槽で検出され、注湯口 22 %、バイオフィームは浴槽で多く形成され、貯湯槽、配管系とそれぞれ双方の対策が必要である。また、レジオネラ属菌の検出率は、pH 6.0 未満の酸性泉や硫黄泉で低く、塩化物泉で高率であり、泉質別の対策が求められる。さらに浴槽の塩素消毒は有効である確証は得られなかった。浴槽の清掃はまずブラッシングによる物理的洗浄が大切で、消毒は最後の仕上げで使用するよう手順の徹底が必要である。貯湯槽の衛生管理は 60℃以上の温度管理が極めて大切である。これら多くの知見を基に、HACCP を導入して衛生管理手法を設定すべきである。また、実態調査とは別にアンケート調査を行い、清掃や消毒の実態に加えて、施設設計の問題点が明らかとなった。総合的に、掛け流し式温泉の適切な衛生管理手法の開発に資する多くの知見を得て、次年度の研究の基礎を築いた。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

なし。

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表1 AOC測定結果

試料	AOC[$\mu\text{g/L}$]	TOC[mg/L]	Legionella属菌
A1	18	0.6	-
A2	161	1.9	陽性
A3	36	1.4	-
B才	314	0.5	陽性
Bテ	272	6.9	陽性
Bヨ	124	1.1	陽性
C12	2	1.8	-
C13	55	0.4	-
C14	17	0.2	-
D1	15	0.9	-
D2	29	0.4	-
D3	18	0.4	-
E17	2	0.4	-
EM	7	0.4	-
ET	8	0.3	-
FT	32	1.2	-
FH	22	1.3	-
G	20	2.8	(no data)
G10倍希釈	1700	-	

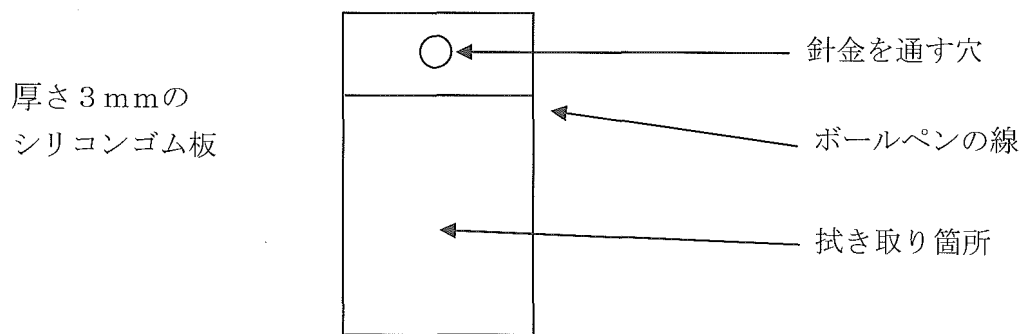


図1 原泉貯槽のバイオフィルム調査 (シリコンゴム板)

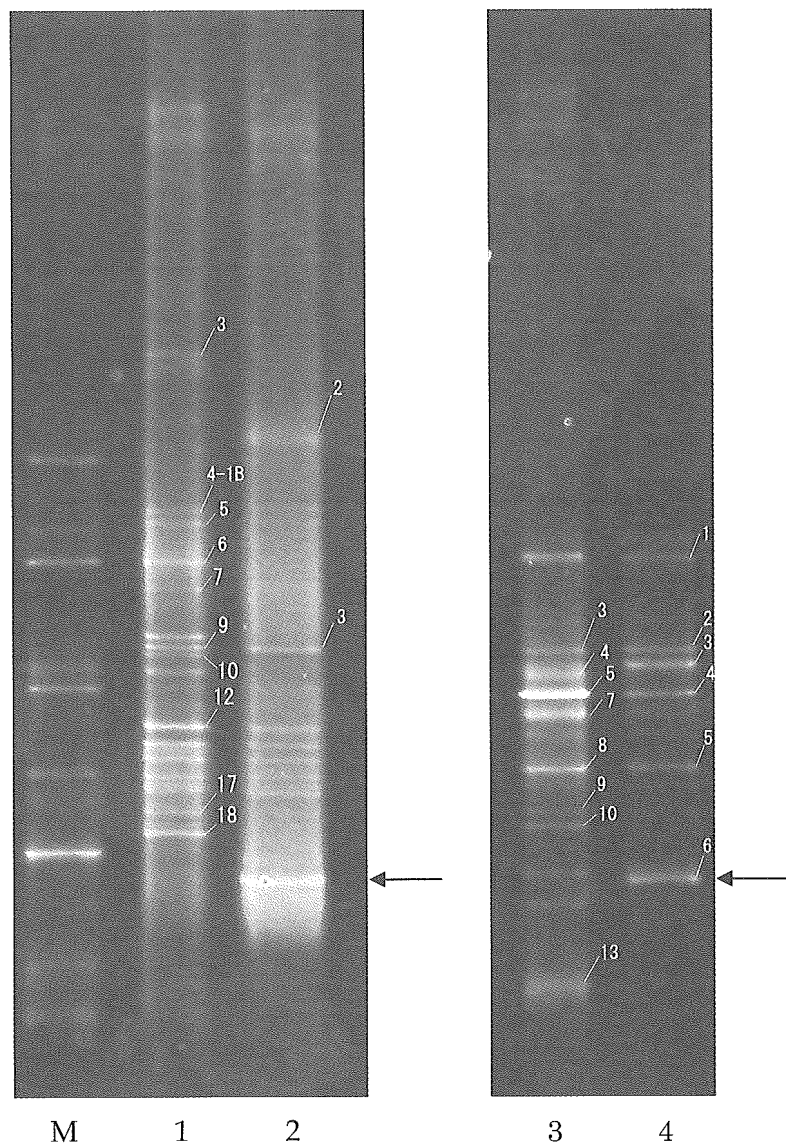


図2 施設 A、B の DGGE パターン比較

レーン M : マーカー、1 : 施設 A 貯湯槽、2 : 同湯口、3 : 施設 B 貯湯槽、4 : 同湯口。
 矢印は施設 A、B の湯口水で得られた共通のバンドを示す。

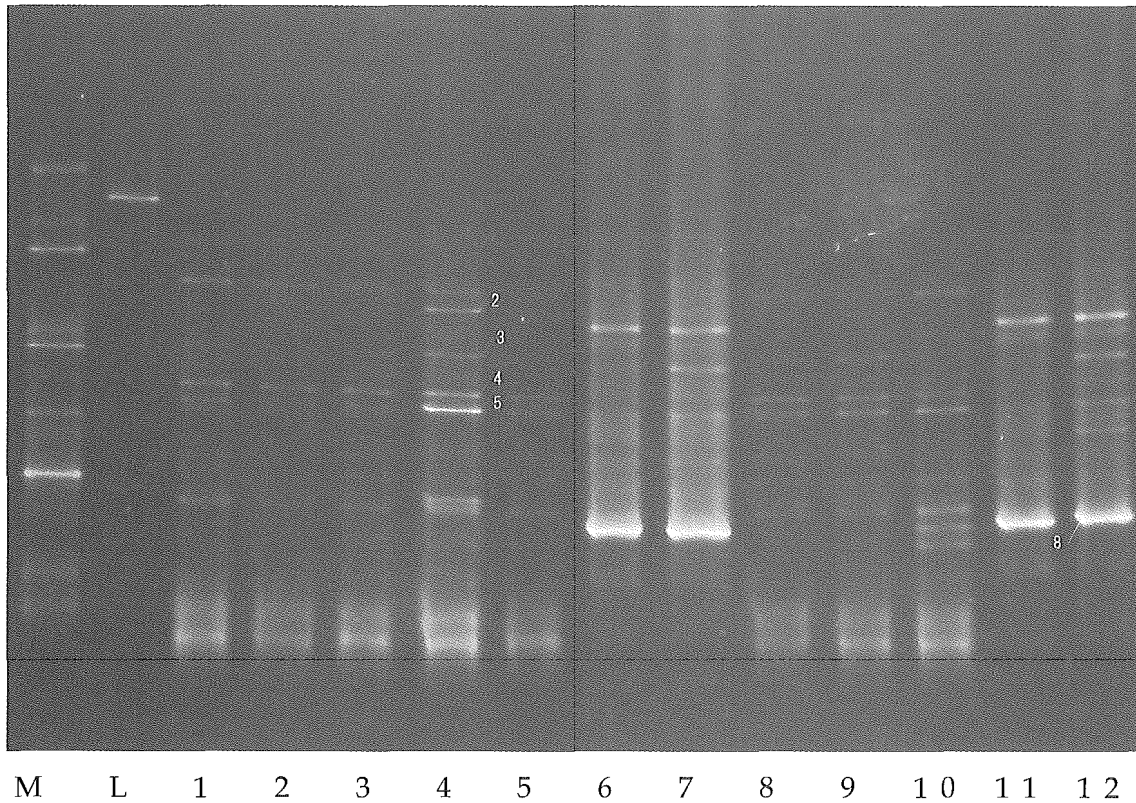


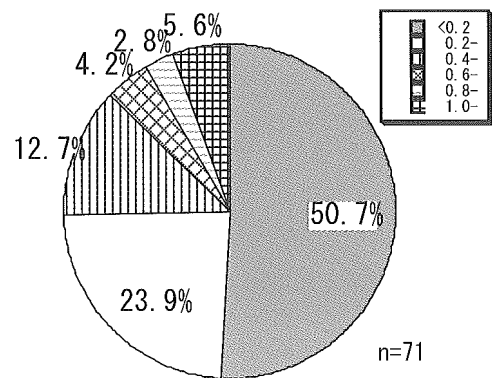
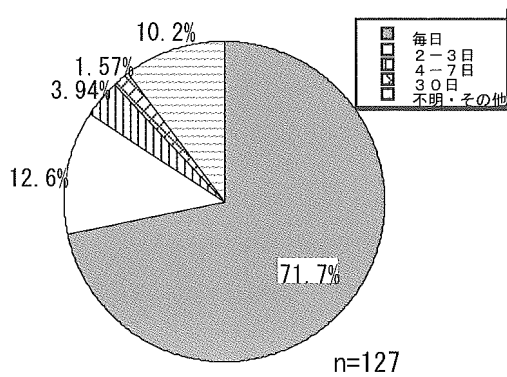
図3 PCR-DGGE 法による給湯配管系等水環境中の細菌叢の解析
 レーン M : マーカー、L : *Legionella*、1~5、8~10 : 配管系 (UV 直前、UV 前、UV 前、UV 後、湯口、UV 前、UV 後、湯口、いずれも日付と時間を変えて取得)、6~7、11~12 : 浴槽系 (露天風呂浴槽、内湯浴槽、露天風呂浴槽、内湯浴槽、同様)。

表 2 調査施設数

県	施設数	浴槽(うち露天)
A	25	26
B	11	13 (4)
C	9	9 (1)
D	7	11 (5)
E	10	13 (1)
F	5	5 (1)
G	9	9 (3)
H	5	6 (1)
I	4	10 (8)
J	6	6 (1)
K	4	4
L	7	12
M	5	15
	107	139 (25)

表 3 泉質別調査施設

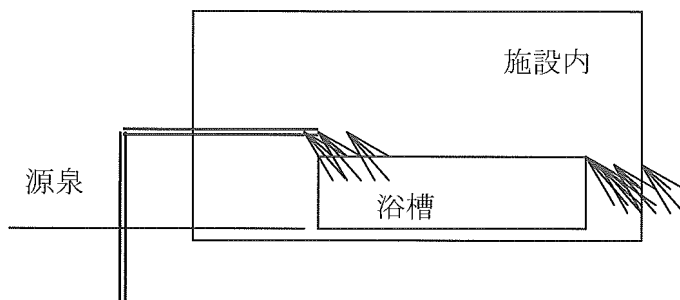
泉質分類	泉温 (°C)							計
	<25	25-	40-	50-	60-	70≤	不明	
単純温泉		5	9	6	5			25
炭酸水素塩泉			4	3		2		9
塩化物泉	1	1	5	12	4	9		32
硫酸塩泉		1	3	5	6	2		17
硫黄泉	1	1	5	5	2	3		17
放射能泉	1							1
冷鉱泉	2							2
不明		1					3	4
	5	9	26	31	17	16	3	107



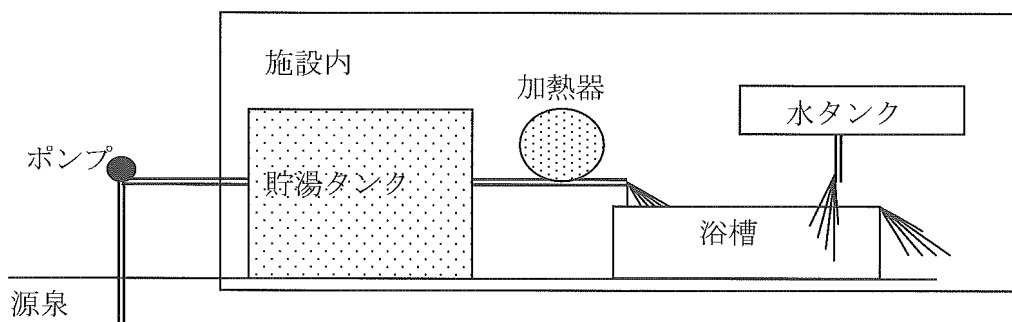
浴槽の完全換水と浴槽清掃の頻度

換水率 (回 / 時間、1時間あたりで浴槽水が入れ替わる回数)

図 4 浴槽水の換水の状況

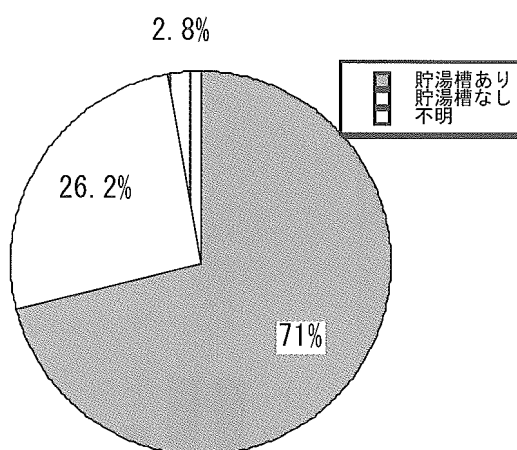


A 「掛け流し式温泉」という言葉から、一般に想起される浴場施設のイメージ



B 今回の調査で明らかとなった「掛け流し式温泉」を標榜する施設での実際の給湯系のイメージ（貯湯タンク、井戸水タンクがある場合）

図5 「掛け流し式温泉」の一般に想起される施設と現実の施設のイメージの対比



調査対象施設における貯湯槽の有無

図6 貯湯槽の有無

表 4 環境由来微生物検出率

種 別	検出件数 / 検査数 (%)		
	レジオネラ属菌	抗酸菌	アメーバ
浴槽水	65 / 132 (49.2)***	6 / 129 (4.7)	43 / 124 (34.7)***
注湯口	14 / 63 (22.2)	0 / 54 (0.0)	3 / 53 (5.7)
貯湯槽	2 / 22 (9.1)	1 / 22 (4.5)	4 / 22 (18.2)
源 泉	0 / 15 (0.0)	0 / 15 (0.0)	0 / 15 (0.0)
計	81 / 232 (34.9)	7 / 220 (3.2)	50 / 214 (23.4)

*** : $P < 0.001$

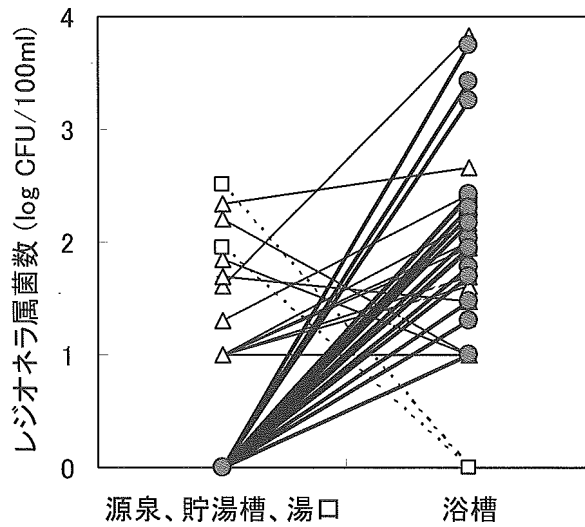


図 7 同一施設ペア試料でのレジオネラ属菌の動向 (N=44/72 組)

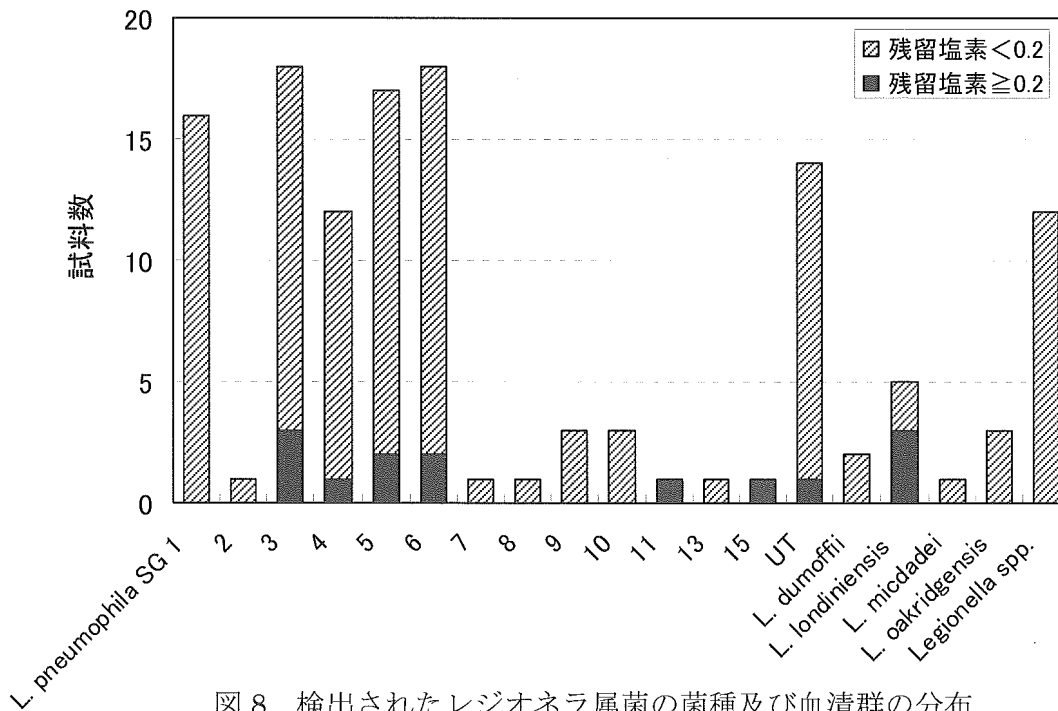


図 8 検出されたレジオネラ属菌の菌種及び血清群の分布

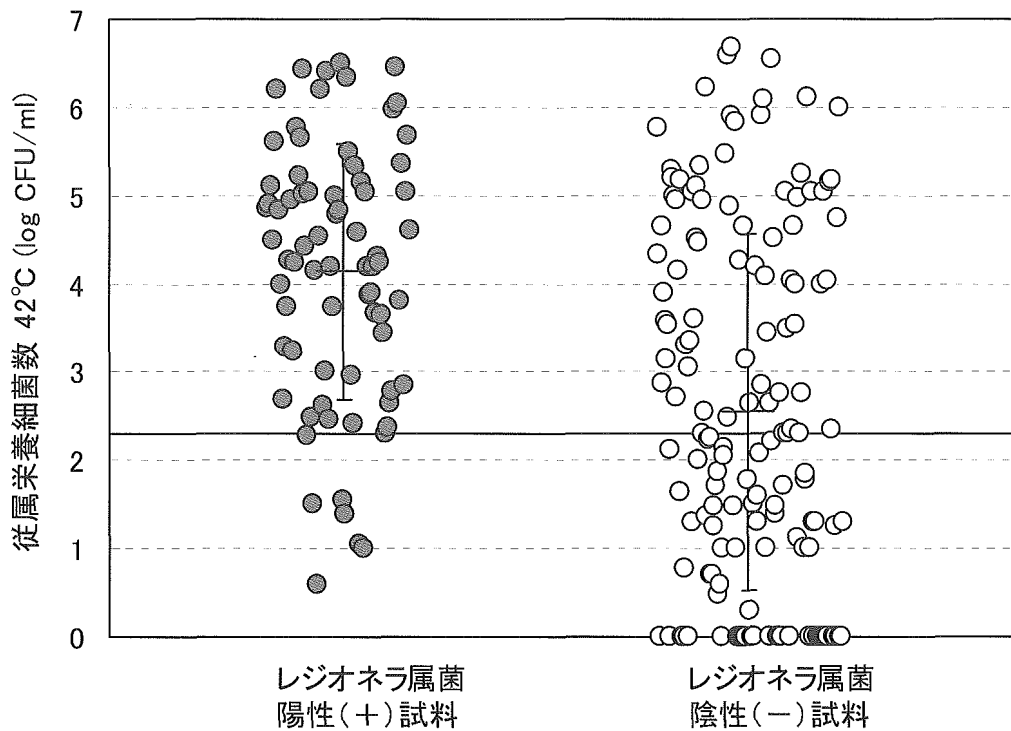


図9 レジオネラ属菌の検出と従属栄養細菌数

従属栄養細菌数の平均±SD：レジオネラ属菌陽性試料 4.1 ± 1.4 log CFU/ml
 // 陰性試料 2.5 ± 2.0 log CFU/ml } $P < 0.01$

表5 泉質別レジオネラ属菌検出率（浴槽水）

泉質	レジオネラ属菌	
	試料数	検出数(%)
酸性/弱酸性泉	8	0 (0.0) *
塩化物/炭酸水素塩泉	12	10 (83.3) *
塩化物泉	37	25 (67.6) **
炭酸水素塩泉	6	3 (50.0)
硫酸塩泉	11	4 (36.4)
単純温泉	31	15 (48.4)
硫黄泉	19	5 (26.3) *
その他・不明	8	3 (37.5)
計	132	65 (49.2)

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

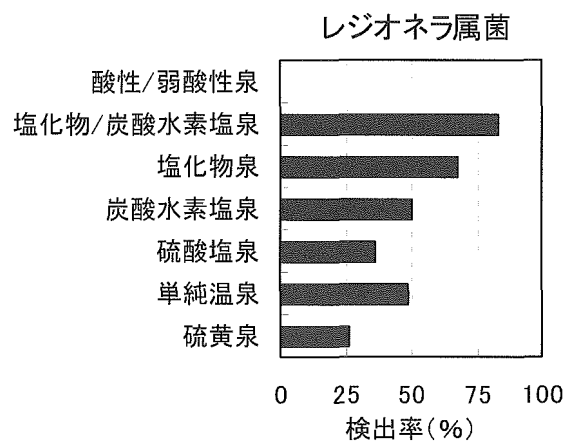


図10 泉質別レジオネラ属菌検出率（浴槽水）

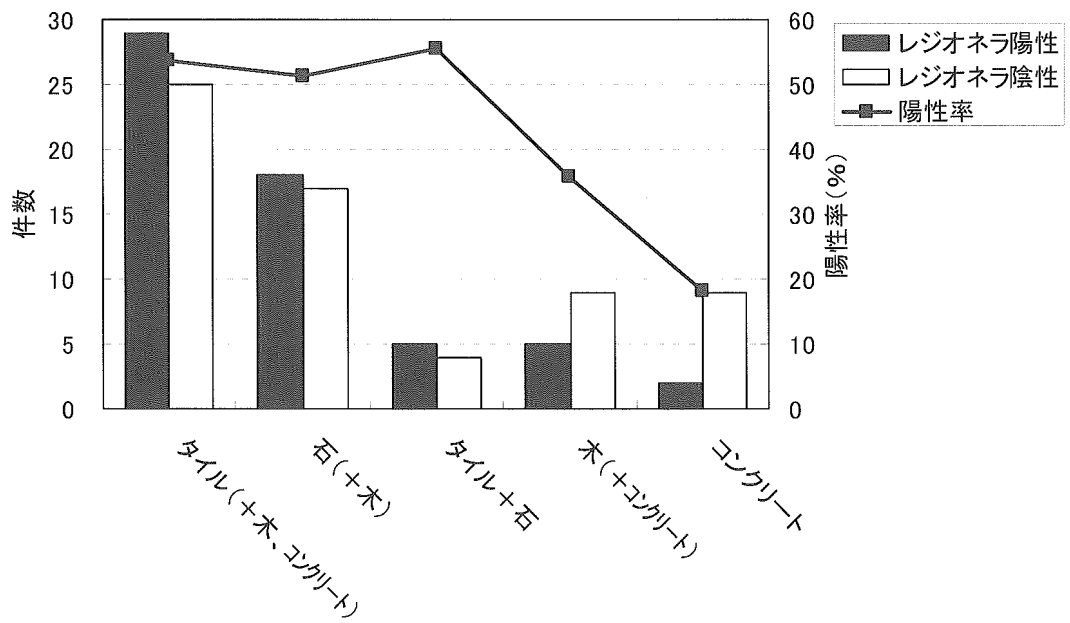


図 11 浴槽の材質とレジオネラ属菌検出率

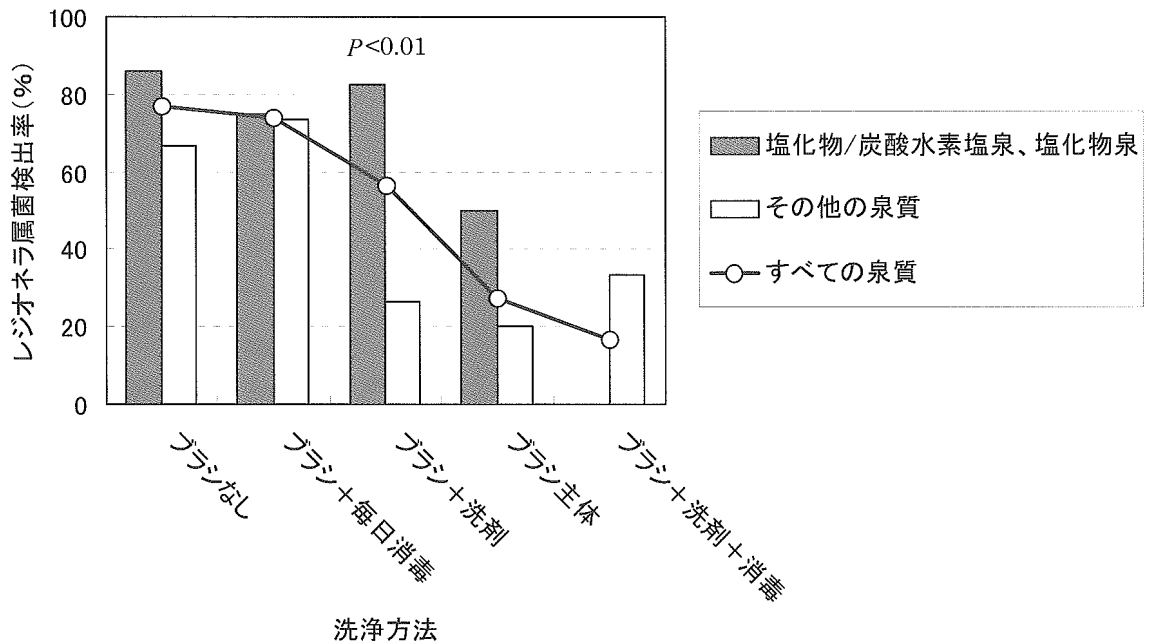
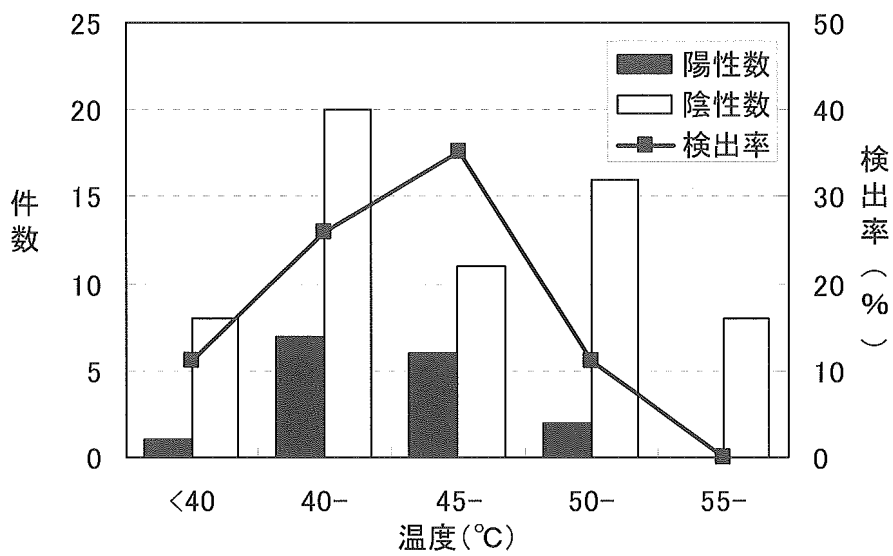


図 12 浴槽の洗浄方法とレジオネラ属菌検出率

(a) レジオネラ属菌



(b) アメーバ

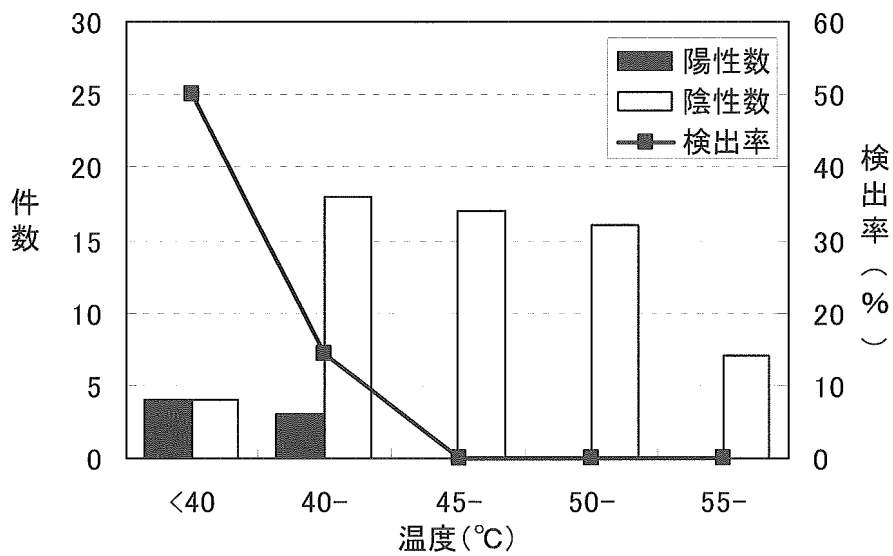


図 13 貯湯槽水及び注湯口水の泉温とレジオネラ属菌及びアメーバ検出率

II 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
分担研究報告書

掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究

源泉の AOC 濃度測定

分担研究者	遠藤卓郎（国立感染症研究所寄生動物部） 烏谷竜哉（愛媛県立衛生環境研究所） 縣 邦雄（アクアス（株）、つくば総合研究所）
研究協力者	宮川徹也（阪神水道企業団） 泉山信司（国立感染症研究所寄生動物部）

概要

これまで *Legionella* 症の集団感染は主に循環式浴槽において発生したが、その傍らで掛け流し式浴槽での *Legionella* 属菌汚染も明らかとされている。緊急避難的に導入された塩素消毒は所定の効果を示し、循環式浴槽の *Legionella* 属菌の検出率を押し下げたが、逆に有利と考えられた掛け流し式浴槽において 60% の *Legionella* 属菌陽性が示されている（杉山ら、平成 14 年度厚生労働科学特別研究事業）。掛け流し式浴槽は複雑な循環装置を持たないことから *Legionella* 属菌の発生防止に向けた管理対象となる場所は浴槽、給湯配管、源泉タンクが考えられる。源泉の湧出直後に *Legionella* 属菌が検出されることは稀で、源泉タンクと給湯配管が増殖の場となっている。基本的に有機物が多い環境中で *Legionella* 属菌は発生すると考えられるが、タンクや配管中での増殖のしやすさ、すなわち源泉に含まれる微生物が利用可能な炭素量増殖ポテンシャルは源泉ごとに異なると予想される。本研究は源泉自体が微生物を増殖させることのできる能力（増殖ポテンシャル）を測定することを目的に、AOC（同化性有機炭素、Assimilable Organic Carbon）濃度の測定を行った。AOC は生物に異化（消化）される有機炭素量を、基準細菌種の増殖を利用して測定する方法であり、水道水の配管中での再増殖の指標として開発された手法である。当該研究の結果として、AOC 濃度で 100ug/L 程度を越えていた源泉と、*Legionella* 属菌が検出されている施設が対応した。

A. 研究目的

循環式浴槽は入浴者が持ち込む有機物をろ過器内で微生物に異化（消化）させ浴槽水から有機物を除去する方式がとられてきた。しかしながら、これが原因となり *Legionella* 属菌による汚染が発生することは繰り返し指摘されている。一方の掛け流し式浴槽はこの循環系を持たず、浴槽水を換水することで清浄度を保っていることから、*Legionella* 属菌の発生