

### 3. 4 浴槽等の衛生管理

表3. 4. 1 浴槽容積(m<sup>3</sup>) 浴槽数

| 容積 | < 2 | 2- | 4- | 6- | 8- | 10- | 15- | 20- | 50- | 不明 | 計   |
|----|-----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|----|-----|
| 件数 | 26  | 21 | 18 | 13 | 6  | 12  | 7   | 6   | 3   | 15 | 127 |

表3. 4. 2 浴槽材質 浴槽数(%)、複数回答

| タイル       | 石         | 木         | コンクリート    | 不明      | 計         |
|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-----------|
| 62 (48.8) | 43 (33.9) | 13 (10.2) | 13 (10.2) | 9 (7.1) | 127 (100) |

タイル+石: 9 件、木+α: 3 件

表3. 4. 3 ジェットバスなどの設備を有し、そのための循環配管を持つ浴槽数(%)

| 循環配管あり  | 循環配管なし     | 不 明       | 計         |
|---------|------------|-----------|-----------|
| 7 (5.5) | 101 (79.5) | 19 (15.0) | 127 (100) |

表3. 4. 4 完全換水および浴槽清掃の頻度 浴槽数(%)

| 毎 日       | 2~3 日     | 4~7 日   | 30 日    | 不明・その他    | 計         |
|-----------|-----------|---------|---------|-----------|-----------|
| 91 (71.7) | 16 (12.6) | 5 (3.9) | 2 (1.6) | 13 (10.2) | 127 (100) |

チェックアウト毎: 1 件

表3. 4. 5 湯口から浴槽への給湯量 (L/分) 浴槽数(%)

| < 20      | 20-       | 40-     | 60-      | 80-     | 100-    | 計        | 不明 |
|-----------|-----------|---------|----------|---------|---------|----------|----|
| 35 (47.2) | 17 (23.0) | 6 (8.1) | 9 (12.2) | 2 (2.7) | 5 (6.8) | 74 (100) | 53 |

平均: 33.3±42.2、最小値: 0.7、最大値: 270

表3. 4. 6 換水率 (回/h、1 時間あたりで浴槽水が入れ替わる回数) 浴槽数(%)

| < 0.2     | 0.2-      | 0.4-     | 0.6-    | 0.8-    | 1.0-    | 計        | 不明 |
|-----------|-----------|----------|---------|---------|---------|----------|----|
| 36 (50.8) | 17 (23.9) | 9 (12.7) | 3 (4.2) | 2 (2.8) | 4 (5.6) | 71 (100) | 56 |

平均: 0.36±0.61、最小値: 0.005、最大値: 4.5

表3. 4. 7 浴槽の清掃方法（手法ごとの集計） 件数(%)、複数回答

| ブラシ      | 洗剤       | 消毒(毎日)   | 消毒(毎週) | 高圧水      | 熱湯     | 計        | 不明 |
|----------|----------|----------|--------|----------|--------|----------|----|
| 94(86.2) | 40(36.7) | 37(33.9) | 6(5.5) | 22(20.2) | 3(2.8) | 109(100) | 18 |

ブラシのみ: 26 件、ブラシ+洗剤: 25 件、ブラシ+消毒(毎日): 20 件、(ブラシとはブラシがけをさす)

表3. 4. 8 浴槽の清掃方法（詳細）

| 清掃方法                | 施設数 | (%)     |
|---------------------|-----|---------|
| 消毒(毎日) + ブラシ+洗剤+高圧水 | 1   | (0.9%)  |
| 消毒(毎日) + ブラシ+洗剤     | 5   | (4.6%)  |
| 消毒(週に1度) + ブラシ+洗剤   | 3   | (2.8%)  |
| 消毒(毎日) + ブラシ+高圧水    | 2   | (1.8%)  |
| 消毒(毎日) + ブラシ+熱湯     | 1   | (0.9%)  |
| ブラシ+洗剤+高圧水          | 2   | (1.8%)  |
| ブラシ+洗剤+熱湯           | 2   | (1.8%)  |
| 消毒(毎日) + ブラシ        | 20  | (18.3%) |
| 消毒+高圧水              | 6   | (5.5%)  |
| 消毒(消毒のみ週に1度) + ブラシ  | 3   | (2.8%)  |
| ブラシ+洗剤              | 25  | (22.9%) |
| 洗剤+高圧水              | 2   | (1.8%)  |
| ブラシ+高圧水             | 4   | (3.7%)  |
| 消毒(毎日)のみ            | 2   | (1.8%)  |
| ブラシのみ               | 26  | (24.0%) |
| 高圧水のみ               | 5   | (4.6%)  |
| 計                   | 109 |         |

消毒：殺菌効果のある薬剤の散布等

高圧水：コンプレッサー等で水道水、井戸水等を高圧で吹き付けるもの

ブラシ：ブラシがけ

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」  
主任研究者 井上 博雄 愛媛県立衛生環境研究所

分担研究報告書

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

| 分担研究者                | 研究協力者                 |
|----------------------|-----------------------|
| 鳥谷 龍哉 愛媛県立衛生環境研究所    | 八木田健二 国立感染症研究所        |
| 遠藤 卓郎 国立感染症研究所 寄生動物部 | 山崎 利雄 国立感染症研究所        |
| 倉 文明 国立感染症研究所 細菌第一部  | 前川 純子 国立感染症研究所        |
| 大谷 勝実 山形県衛生研究所       | 佐々木美江 宮城県保健環境センター     |
| 黒木 俊郎 神奈川県衛生研究所      | 八柳 潤 秋田県衛生科学研究所       |
| 杉山 寛治 静岡県環境衛生科学研究所   | 齋藤志保子 秋田県衛生科学研究所      |
| 藏元 強 鹿児島県環境保健センター    | 山口 誠一 山形県村山保健所        |
| 縣 邦雄 アクアス(株)つくば総合研究所 | 長 則夫 栃木県保健環境センター      |
| 山崎 和生 (株)西原衛生工業所     | 藤田 雅弘 群馬県衛生環境研究所      |
|                      | 岡崎 則男 神奈川県衛生研究所       |
|                      | 渡辺 祐子 神奈川県衛生研究所       |
|                      | 高橋智恵子 神奈川県衛生研究所       |
|                      | 大屋日登美 神奈川県衛生研究所       |
|                      | 石原ともえ 神奈川県衛生研究所       |
|                      | 鈴木理恵子 神奈川県衛生研究所       |
|                      | 三宅 芳枝 神奈川県衛生研究所       |
|                      | 田口 寛 京都府保健環境センター      |
|                      | 江崎 久雄 京都府保健環境センター     |
|                      | 藤原 恵子 京都府保健環境センター     |
|                      | 中嶋 洋 岡山県環境保健センター      |
|                      | 吉田 紀美 愛媛県立衛生環境研究所     |
|                      | 井上 智 愛媛県立衛生環境研究所      |
|                      | 村上 光一 福岡県保健環境研究所      |
|                      | 田栗 利紹 長崎県衛生公害研究所      |
|                      | 吉國謙一郎 鹿児島県環境保健センター    |
|                      | 薮崎 裕昭 アクアス(株)つくば総合研究所 |

研究要旨

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ことを目的に、全国 13 府県のいわゆる掛け流し式温泉 107 施設を対象に、注湯口水、貯湯槽水及び源泉の計 232 試料を採取し、レジオネラ属菌を中心とした病原微生物汚染状況等を調査した。その結果、全試料の 34.9%からレジオネラ属菌が検出された。特に浴槽水からの検出率が高く、調査

試料の約半分に当たる 49.2%からレジオネラ属菌が検出された。全試料中の各病原微生物検出率は、抗酸菌が 3.1%と低かったが、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌は 15~26%であり、その検出場所はほとんどが浴槽水であった。今回調査した掛け流し式温泉施設の特徴としては、浴槽水を塩素等で消毒していない施設が 75%、貯湯槽を設置している施設が 71%であり、そのうち貯湯槽の温度が 60°Cに満たない施設が 69%あった。浴槽水の完全換水及び清掃を 2 日以上の間隔で一度しか実施しない施設が 18%を占めた。

レジオネラ属菌の検出に影響を与える要因としては、pH 6 未満の試料から検出されないことのほか、今回の調査で新たに塩化物泉（特に塩化物及び炭酸水素塩の両方を主成分あるいは副成分に含む泉質）で、有意に検出率が高くなることが明らかになった。浴槽水のレジオネラ属菌検出率には、浴槽の材質や洗浄方法が影響することがわかった。加えて、塩化物泉では浴槽の洗浄効果が現れにくいというデータも得られた。浴槽水のレジオネラ属菌汚染を防ぐためには、浴槽壁及び湯口周りにバイオフィルムを定着させないことが重要であり、多様な温泉の化学的な特徴に最適な材質、洗浄方法、消毒方法を開発するという視点が必要と考えられた。また、レジオネラ属菌以外の病原微生物対策については、浴槽への補給湯量、浴槽の大きさ、入浴者数等が施設毎に大きく異なるため、一定の傾向は見出せなかつたが、消毒を行わない、あるいは消毒による効果が現れにくい掛け流し式温泉においては、施設の汚染実態を把握したうえで、完全換水頻度や補給湯量を検討する等の対策が必要と考えられた。また、源泉、貯湯槽、配管を経由して注湯口に至る過程において、レジオネラ属菌の増殖につながるバイオフィルムの発生を抑えるためには、60°C以上の温度管理（最大使用時で 55°C以上）が極めて有効であり、貯湯槽への消毒剤の注入も一定の効果が得られることが確認された。貯湯槽や施設内配管の管理方法、洗浄方法及び洗浄時期を、泉質や構造設備に応じて施設毎にマニュアル化することが重要である。その際、従属栄養細菌数（42°C培養）を 200 CFU/ml 未満に抑えることでレジオネラ属菌の検出率が有意に低下することが明らかになったことから、管理指標の一つとして活用できる可能性が示唆された。

## A. 研究目的

近年、公衆浴場等の循環式浴槽施設を介したレジオネラ症集団感染事例が続発したことを受け、厚生労働省は平成 13 年以降レジオネラ症発生防止対策を目的とした通知を相次いで発出し、浴用施設における衛生指導の強化を図った。その結果、循環式浴槽施設においてはろ過器や浴槽水の消毒への意識が高まり、レジオネラ属菌を中心とした病原微生物対策に一定の成果が得られている。

浴用施設を介したレジオネラ属菌等の病原微生物対策としては、定期的に浴槽や施設内配管等を洗浄・消毒するとともに、浴用水中に一定量の残留塩素濃度を維持することが効果的とされている。しか

し、循環系を持たないいわゆる掛け流し式温泉では、泉質、流量によっては消毒効果が得られ難いという技術上の問題に加え、消毒による泉質の変化も指摘されることから、温泉に塩素等の消毒剤を添加することに消極的な施設も多い。

温泉施設の病原微生物による健康被害については、WHO ガイドライン (Guidelines for safe recreational waters. Vol. 2 : Swimming pools, spas and similar recreational-water environments. Final Draft 2000)において、レジオネラ属菌以外にも緑膿菌、抗酸菌、黄色ブドウ球菌等の非糞便性細菌や、病原性大腸菌等の糞便性細菌のほか、ウイルスや原虫による感染リスクも指摘されている。

一般に安全であると考えられている掛け流し式温泉に対して、レジオネラ属菌及びその他の病原微生物による健康被害の潜在的な危険性を考慮し、管理办法を確立するためには、施設の構造、管理と併せた汚染実態の把握が重要であるが、現在までに同種の調査はほとんど実施されていない。

そこで今回、掛け流し式温泉に最適な衛生管理办法を開発するための基礎的資料を得ることを目的に、全国 13 府県のいわゆる掛け流し式温泉施設を対象に、病原微生物汚染の実態、及び、汚染状況に影響を及ぼす要因（泉質、構造設備、衛生管理方法等）について調査を実施した。

## B. 研究方法

平成 17 年 6 月から 12 月の間に、全国 13 府県のいわゆる掛け流し式を標榜している温泉 107 施設を対象に、衛生管理に係る施設状況を調査した（本研究報告書「衛生管理、施設設備の問題点」）。調査と並行して浴槽 132 件、浴槽の注湯口 63 件、貯湯槽 22 件、源泉 15 件の計 232 件について、温泉水 500 ml を 3 本採取し、以下の検査に供した。検査項目は、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、非糞便性ヒト由来微生物として緑膿菌、黄色ブドウ球菌、清浄度指標として従属栄養細菌数（42°C 及び 25°C 培養）、一般細菌数を実施した。また、有機物指標として全有機炭素 (TOC) 及び過マンガン酸カリウム消費量を実施した。試料温度、pH、遊離残留塩素濃度は現地で速やかに測定し、他の検査項目は各施設に持ち帰って検査を実施した。

### 1. 検査方法

細菌検査は本研究班作成の「細菌検査マニュアル」（資料 1）に従い、それぞれの研究機関にて実施した。各施設で同定が困難な分離株については、レジオネラ属菌は国立感染症研究所細菌第一部、抗酸菌は同病原微生物部にて同定を行った。

アメーバ検査は、厚生労働科学研究費補助金「健康科学総合研究事業「温泉・公衆浴場、その他の温水におけるアメーバ性髄膜脳炎の病原体 *Naegleria fowleri* の疫学と病原性発現に関する研究」の「アメ

ーバ分離・検出マニュアル」に準じ、20°C～30°C で 1 週間程度培養して得られた分離株を形態観察にて同定した。

全有機炭素 (TOC) 及び過マンガン酸カリウム消費量の測定は、水質基準に関する省令で定める検査方法に従った。なお、TOC において、特に炭酸濃度が高く、測定値に正の妨害を及ぼす恐れのある検体については、必要に応じて炭酸の中和処理を行った。すなわち、あらかじめ炭酸の中和に必要な 0.1N 塩酸を適量添加し、激しく振とうして炭酸を除去した後、検査に供した。

### 2. 泉質分類

泉質が微生物汚染に及ぼす影響を評価するため、今回調査対象となった 30 種の泉質を 8 つのグループに分類した（表 1）。その内訳は、1) pH 6.0 未満の酸性／弱酸性泉、2) 陰イオンの主成分あるいは副成分に、塩化物イオン及び炭酸水素イオンの両方を有する塩化物／炭酸水素塩泉、3) 陰イオンの主成分あるいは副成分に塩化物イオンを有する塩化物泉、4) 陰イオンの主成分あるいは副成分に炭酸水素イオンを有する炭酸水素塩泉、5) 陰イオンの主成分に硫酸イオンを有する硫酸塩泉、6) 溶存物質量が 1g/kg に満たない単純温泉、7) 特殊成分として硫黄を含有する硫黄泉、8) その他・不明とした。

### 3. 統計処理

2 群間の独立性の検定には  $\chi^2$  検定を用い、期待度数が 5 未満の場合は Yates の補正を行った。2 群間の平均値の差の検定には t 検定を用いた。

### 4. レジオネラ属菌検出施設への対応

調査の結果レジオネラ属菌が検出された場合には、入浴者に健康被害が生じる恐れのないよう、施設責任者に対して洗浄・消毒等の自主的な改善を求め、確認検査あるいは継続的な指導を行った。詳細は「研究協力者の調査概要報告書」（資料 2）のとおり。

## C. 研究結果

### 1. 検査結果

#### (1) レジオネラ属菌の検出状況

循環系を持たない掛け流し式温泉から採取した 232 件中 81 件 (34.9%) からレジオネラ属菌が検出

された(表2)。その内訳は浴槽49.2%、注湯口22.2%、貯湯槽9.1%で、浴槽から高率に検出された(図1)。源泉15件はすべて陰性であり、温泉水が源泉から浴槽に至る経路に従って源泉<貯湯槽<注湯口<浴槽の順に検出率が増加した。菌数は貯湯槽及び注湯口では最大値が200~300 CFU/100mlであったが、浴槽では平均値459 CFU/100ml、最大値6,800 CFU/100mlと浴槽において菌数が高い傾向がみられた。同一施設で浴槽とその上流にあたる注湯口等をペアで調査した72組中44組からレジオネラ属菌が検出された(図2)。その内訳は、注湯口等のみからの検出が2組、注湯口等及び浴槽の両方からの検出が13組、浴槽のみからの検出が29組であり、浴槽から検出された42組のうち29組(69.0%)が浴槽のみからの検出であった。

浴槽水を内湯と露天に分けて比較すると、内湯は107件中50件(46.7%)、露天は25件中15件(60.0%)から検出され、露天でより高い検出率を示したが有意な差ではなかった(表3)。

分離されたレジオネラ属菌の菌種について、試料件数で比較すると、*Legionella pneumophila*が81件中71件(87.7%)から高率に分離同定され、その他同定された菌種は*L. londiniensis*(5件)、*L. oakridgensis*(3件)、*L. dumoffii*(2件)、*L. micdadei*(1件)であった(表3)。*L. pneumophila*の血清群は、血清群3及び血清群6がそれぞれ18件(22.2%)で最も多く、次いで血清群5が17件(21.0%)、血清群1が16件(19.8%)、血清群4が12件(14.8%)から分離同定された。そのほかには血清群9、10がそれぞれ3件(3.7%)から、血清群2、7、8、11、13、15がそれぞれ1件(1.2%)から分離同定された(表4、図3)。

塩素消毒を行っているか否か、あるいは遊離残留塩素が0.2 mg/L以上検出されるか否かで、*L. pneumophila*血清群1の検出率を比較したが、塩素消毒を行っている施設では15件中3件(20.0%)、残留塩素0.2 mg/L以上検出される施設では1件も分離されず、塩素消毒によって血清群1が選択的に検出されるといった傾向は特に認められなかった(表4)。また、pHによる菌種あるいは血清群の偏

りは認められなかった。

### (2) アメーバの検出状況

アメーバは214件中50件(23.4%)から検出された(表5)。レジオネラ属菌と同様に浴槽から高率(34.7%)に検出され、濃度も浴槽で高い傾向が見られた。貯湯槽では22件中4件(18.2%)から検出された。

### (3) 抗酸菌の検出状況

抗酸菌の分離培養を行った220件中7件(3.2%)から抗酸菌が検出された。試料種別は浴槽6件(4.7%)、貯湯槽1件(4.5%)であった(表6)。菌数は、浴槽で100 CFU/100mlが1件検出されたが、他の5件は10~40 CFU/100mlであった。同定された菌種の内訳は*Mycobacterium gordonaiae*が4件、*M. avium*が2件、*M. scrofulaceum*が1件から分離され、同定不能株が1件から分離された。

### (3) 大腸菌、大腸菌群の検出状況

大腸菌は215件中56件(26.0%)から検出された(表7)。浴槽では132件中53件(40.2%)と高頻度に検出されるのに対し、貯湯槽は20件中2件(10.0%)、注湯口は48件中1件(2.1%)であった(図4)。検出された浴槽水の平均菌数は187 MPN/100ml、最大値は1,100 MPN/100mlであった。

また、大腸菌群は213件中83件(39.0%)から検出された(表8)。大腸菌と同様、浴槽から56.9%と高頻度に検出され、浴槽水の平均検出菌数は359 MPN/100ml、最大値は4,600 MPN/100mlであった。100 MPN/100ml以上の菌数を示した浴槽は130件中35件(26.9%)であった(図4)。

### (4) 緑膿菌、黄色ブドウ球菌の検出状況

緑膿菌及び黄色ブドウ球菌とともに浴槽から高頻度に検出され、検出率はそれぞれ35.7%及び25.6%であった。浴槽における緑膿菌の平均検出菌数は210 MPN/100ml、最大値2,400 MPN/100mlであり、WHOガイドラインに示された目標値(10 MPN/100ml未満)を超える試料は129件中22件(17.1%)であった(表9、図4)。

また、黄色ブドウ球菌は浴槽水のみから検出され、検出平均数は121 MPN/100ml、最大値は1,100

CFU/100ml であった。WHO ガイドラインに示された目標値 (30 MPN/100ml 未満) を超える試料は 129 件中 14 件 (10.9%) であった (表 10、図 4)。  
(5) 全有機炭素 (TOC) 及び過マンガン酸カリウム消費量

有機物の指標となる TOC は 167 件について測定を行った。浴槽と浴槽以外の源泉、貯湯槽、注湯口との測定値に大きな差は見られず、全試料の平均値は 1.0 mg/L、最大値は 7.5 mg/L であった (表 11)。

過マンガン酸カリウム消費量は 191 件の測定を行い、平均値 23.6 mg/L、最大値は 570 mg/L であった。硫黄泉及び塩化物泉で高値を示す傾向が見られ、平均値はそれぞれ 65.2 mg/L、40.4 mg/L、最大値はそれぞれ 570 mg/L、320 mg/L であった。TOC と過マンガン酸カリウム消費量との間には、低濃度から高濃度にかけて相関は見られなかった。

#### (6) レジオネラ属菌の検出と従属栄養細菌数

レジオネラ属菌陽性試料と陰性試料の従属栄養細菌数 (42°C) を比較した (図 5)。レジオネラ属菌陽性試料の平均値は  $4.1 \pm 1.4 \log$  CFU/ml に対し、陰性試料では  $2.5 \pm 2.0 \log$  CFU/ml で、両群には有意な差がみられた ( $P < 0.01$ )。また、レジオネラ属菌陰性試料では従属栄養細菌 200 CFU/ml 未満の試料が 50% を占めていたのに対し、陽性試料では 9.5% に過ぎず、従属栄養細菌数 200 CFU/ml を境に、レジオネラ属菌の検出率が大きく異なることがわかつた。

#### 2. pH、泉質と病原微生物検出率

pH 別のレジオネラ属菌検出率を検討した (表 12、図 6)。pH 6 以上では pH による検出率の差は見られず検出率 37.6% であったが、pH 6 未満の酸性、弱酸性泉 15 件についてはすべてレジオネラ属菌が検出されず、pH 6 以上と比較して有意に低い検出率を示した ( $P < 0.01$ )。他の病原微生物についても pH 3 以下の酸性泉では検出されず、pH 6 未満の弱酸性泉においても検出率が低くなる傾向が見られた。その他、特徴的な分布を示したものとして、大腸菌及び大腸菌群は pH 6 以上 7.5 未満の中性泉で有意に高く、黄色ブドウ球菌は pH 8.5 以上のアルカリ泉で有意に低い検出率を示した。

試料の泉質を、主に陰イオンの成分に基づいて分類し、病原微生物等の検出率を比較した (表 13、図 7)。陰イオンの主成分あるいは副成分に塩化物イオンを有する泉質 (塩化物／炭酸水素塩泉及び塩化物泉) では、92 件中 45 件 (48.9%) からレジオネラ属菌が検出され、有意に高い検出率を示した ( $P < 0.001$ )。特に、主成分あるいは副成分に塩化物イオン及び炭酸水素イオンの両方を有する泉質 (塩化物／炭酸水素塩泉) では、73.7% と有意に高い検出率を示した ( $P < 0.001$ )。塩化物／炭酸水素塩泉については、レジオネラ属菌の増殖に関与するアメーバや、大腸菌群や黄色ブドウ球菌をはじめとする他の病原微生物においても、検出率が高くなる傾向が見られた。

浴槽水に限って泉質の影響を検討すると、検出率の差はより顕著であった。塩化物泉を含む泉質ではレジオネラ属菌が 49 件中 35 件 (71.4%) から検出され、なかでも塩化物／炭酸水素塩泉では 83.3% とさらに高率に検出された (表 14、図 8)。また、硫黄泉では、レジオネラ属菌において有意に低い検出率を示した。

#### 3. 塩素消毒の効果

浴槽水に何らかの消毒を施している施設 31 施設のうち 45.2% からレジオネラ属菌が検出され、消毒を実施していない 98 施設の検出率 (51.0%) と差はみられなかった (表 15、図 9)。従属栄養細菌 (42°C) の平均値及び大腸菌群の検出率は「消毒なし」と「消毒あり」とで有意な差がみられたが、他の病原微生物においてはレジオネラ属菌同様有意な差はみられなかった。

遊離残留塩素の消毒効果を確認するため、0.2 mg/L 以上検出された浴槽水と 0.2 mg/L 未満の浴槽水とで各病原微生物の検出状況を比較した (表 16、図 10)。従属栄養細菌 (42°C) 及びアメーバについては 0.2 mg/L 以上検出された試料で消毒の効果が確認されたが、レジオネラ属菌では 11 件中 4 件 (36.4%) において 10~150 CFU/ml の濃度で検出された。この 4 件の内訳は pH 9.1 が 2 件、pH 7.0 及び 7.7 が各 1 件であった。なお、抗酸菌については遊離残留塩素 0.2 mg/L 以上の 11 件のうち 2 件

(0.2 mg/L、0.4 mg/L 各 1 件) から検出された。

#### 4. 貯湯槽、配湯管の衛生管理と微生物汚染

浴槽及び注湯口の 187 件において、貯湯槽の有無とレジオネラ属菌汚染の相関を検討したが、浴槽のレジオネラ属菌検出率に対して貯湯槽の有無は影響しなかった（表 17、図 11）。一方、注湯口に関しては貯湯槽を有する施設で検出率が高い傾向がみられたが、有意な差ではなかった。

貯湯槽等の管理状況がレジオネラ属菌等の汚染に影響を与える要因について検討した。貯湯槽及び注湯口を対象に、泉温の違いでレジオネラ属菌検出率を比較した結果、40°C以上 50°C未満の範囲で検出率が 30.0%と最も高く、55°C以上では 8 件すべて陰性であった（表 18、図 12）。貯湯槽 2 件からレジオネラ属菌が検出されたが、その泉温は 44.5°C、47.0°C が各 1 件であった。アメーバについては 45°C以上の 40 件からはすべて検出されなかつた。また、貯湯槽あるいは配管系に消毒剤を注入している場合は、貯湯槽や注湯口からレジオネラ属菌、アメーバ、従属栄養細菌のいずれも極めて低い検出率であった（表 19、図 13）。

レジオネラ属菌に対する抑制効果が明らかな pH 6 未満あるいは泉温 55°C以上の試料を除外してさらに詳細に検討した（表 20、図 14）。貯湯槽及び注湯口において、TOC 濃度が 0.5 mg/L 以上の試料では、0.5 mg/L 未満の試料と比較してレジオネラ属菌の検出率が高い傾向がみられたが、試料数が限られているため有意な差はなかつた。貯湯槽等の他の管理項目（貯湯槽の外気との遮断、清掃頻度、清掃方法、配湯管の清掃状況）と汚染との関係についても同様に検討を行つたが、サンプル数が少ないこともあり、特に傾向は見出せなかつた。

#### 5. 浴槽等の管理状況と微生物汚染

浴槽壁面へのバイオフィルム（生物膜）の蓄積に影響を及ぼす要因として、浴槽の材質及び浴槽の洗浄方法を検討した。浴槽の材質では、タイル、石を用いた浴槽の 50%以上でレジオネラ属菌が検出され、木やコンクリートでは少ない傾向にあった（表 21、図 15）。浴槽の洗浄方法としては、複数の洗浄方法を併用している施設が多いため、まず複数回答

をそのまま集計してレジオネラ属菌の検出率を比較した（表 22）。ブラシや洗剤を使用する施設は検出率が低く、消毒を行うと逆に検出率が高くなる傾向がみられた。そこで、ブラシ洗浄の有無を基本に、消毒や洗剤等の併用方法で分類を行い、検出率を比較した（表 23、図 16）。ブラシを使用せず高圧水や消毒のみで洗浄を行つている施設では 76.9%からレジオネラ属菌が検出され、ブラシ洗浄と消毒を毎日実施している施設でも 73.9%と高い検出率を示した。一方、ブラシ洗浄の際に洗剤を使用している施設では 56.3%と低下し、ブラシ洗浄のみあるいは高圧水洗浄や週 1 回の消毒を補助的に使用している施設では 27.5%と低い検出率を示した。ブラシ、洗剤、消毒の 3 法を併用している施設の検出率は 16.7%と最も低い値を示した。

さらに、浴槽の洗浄効果に及ぼす泉質の影響を、浴槽水のレジオネラ属菌検出率で比較した（図 17）。レジオネラ属菌の検出率が有意に高い塩化物／炭酸水素塩泉及び塩化物泉では、それ以外の泉質と比較してブラシ及びブラシと洗剤を併用した場合の検出率が高く、洗浄効果に泉質が大きな影響を及ぼしていた。なお、ブラシを使用しない場合やブラシと消毒を併用している場合は泉質に関係なく検出率が高く、また、ブラシ、洗剤、消毒の 3 法を併用している場合は泉質に関係なく検出率が低い傾向がみられた。

次に、浴槽の水質に影響を及ぼす基本的な要因として、試料採取時刻（表 24、図 18）及び入浴者数（表 25、図 19）について検討した。いずれの項目もレジオネラ属菌、アメーバ、抗酸菌、大腸菌群では検出率に影響しなかつたが、ヒト由来の病原体については 15:00 以降の採取あるいは入浴者数の増加に伴つて検出率が増加した。

外部から持ち込まれた微生物は、浴槽水の交換によって浴槽外に排出されると考えられるため、浴槽の換水率（1 時間あたりに浴槽水が入れ替わる割合）と病原微生物汚染を検討した（表 26、図 20）。レジオネラ属菌については換水率 0.1 未満（約 1 日 1 回の入れ替わり）で有意に検出率が高く、0.9 以上（約 1 時間に 1 回の入れ替わり）では 6 試料すべて陰性

であった。しかし、他の病原微生物においては、換水率が高ければ汚染が少ないといった傾向はみられなかつた。試料採取時刻や入浴者数の要因を加味してさらに換水率の影響を検討したが、対象試料数が限られてくることもあり、ヒト由来と考えられる大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌の検出と換水率との関係は明らかではなかつた。また、浴槽の完全換水の日数については、日数が明らかになった 120 件中 19 件が毎日換水を実施していなかつたが、毎日換水の浴槽と比較して各病原微生物の検出率に差はみられなかつた（表 27、図 21）。なお、2 日以上換水を行わない 19 件中 12 件でレジオネラ属菌が検出されなかつた。不検出となる特徴的な要因として、pH 3.0 の酸性泉（30 日毎に換水）が 2 件、残留残留塩素が検出された浴槽（2.0 mg/L、2 日ごとに換水）が 1 件あつたが、それ以外の換水率、泉質等に特定の傾向はみられなかつた。

#### D. 考察

##### 掛け流し式温泉の病原微生物汚染状況

全国の循環系を持たない掛け流し式温泉について、浴槽水、注湯口水、貯湯槽水及び源泉の計 232 件を調査した結果、81 件（34.9%）からレジオネラ属菌が検出された。特に浴槽水からの検出率が高く、調査試料の約半分に当たる 49.2%からレジオネラ属菌が検出された。内湯と露天を比較すると、露天のほうが検出率が高い傾向が見られたが、有意な差ではなかつた。吉畠らが 2003 年から 2004 年にかけて実施した温泉浴用水の実態調査では、掛け流し 249 件中 68 件（27.3%）から、また笛原らが 2004 年に報告した温泉入浴施設調査（循環式浴槽を 78% 含む）では 105 件中 52 件（49.5%）からレジオネラ属菌を検出しており、今回の調査でも掛け流し式温泉のレジオネラ汚染対策の難しさが浮き彫りとなつた。

検出されたレジオネラ属菌の菌種は、*Legionella pneumophila* が 81 件中 71 件から最も高頻度に分離された。集団感染事例が多発している血清群 1 は 81 件中 16 件（19.8%）から分離され、血清群 3、5、6 よりもやや低い程度の検出率であった。平成 13 年

以降、入浴施設に塩素消毒が徹底されるに伴つて、血清群 1 の占める割合が増加しているとの危惧が報告されているが（遠藤卓郎、平成 16 年度厚生労働科学研究事業報告書）、今回の調査では循環式浴槽施設に比して塩素消毒に頼る施設が少なかつたためか、血清群 1 の占める割合は平成 13 年以前のデータと同程度であった。

レジオネラ属菌以外の病原微生物として、抗酸菌、大腸菌、大腸菌群、緑膿菌、黄色ブドウ球菌の汚染実態を調査した。抗酸菌は 220 件中 7 件（3.2%）から検出され、循環式浴槽での検出率が 20% 程度であることと比較すると（遠藤卓郎、平成 16 年度厚生労働科学研究事業報告書）、掛け流し式温泉の汚染の度合いはかなり小さいものと考えられた。今回の調査で抗酸菌の検出事例はわずかであったが、抗酸菌陰性、レジオネラ属菌陽性の施設において、レジオネラ属菌対策の一環として塩素消毒を始めたところ、貯湯槽あるいは浴槽から抗酸菌が検出された事例があつた。抗酸菌は塩素耐性が強いことが知られており、掛け流し式温泉においても塩素消毒の実施に伴い抗酸菌検出事例が増加するかどうか、今後見極めていく必要があると考えられた。大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌については、大部分がヒト由来であるため、特殊な場合を除きほとんどが浴槽水からの検出であった。緑膿菌については WHO が推奨する 10 個/100ml 未満を超える菌数が 17% の浴槽から、また、黄色ブドウ球菌については WHO が推奨する 30 個/100ml 未満を超える菌数が 11% から検出された。いずれも直ちに重篤な健康被害に結びつくものではないが、大腸菌や大腸菌群は入浴者の糞便汚染を示し、また、緑膿菌や黄色ブドウ球菌は毛嚢炎等の化膿性皮膚疾患を引き起こす可能性があるため、消毒剤の添加を行わない掛け流し式温泉においては、今後の対策を含めて引き続き監視していく必要があると考えられた。

##### pH、泉質とレジオネラ属菌汚染

掛け流し式の温泉では、地下から湧き出した温泉を循環させることなく浴槽に注ぐ構造であるため、温泉の成分そのままの湯を楽しめることができである。温泉の成分は多様であり、泉質によってレジ

オネラ属菌の検出に差が生じることは当然予想され得る。pHに関しては、酸性側ではpH 3未満では生息できずpH 5未満の温泉水からは検出されないと、アルカリ側ではpH 8以上で生存率がかなり低下することが報告されている。また、NaCl濃度に関しては、実験的に30°C以上ではNaCl濃度が1.5%を超えると生息できないが、0.1~0.5%のNaCl濃度では生存を促進する効果があることや、海水中でも十分生息できることが報告されている。しかし、現在までに温泉の泉質とレジオネラ属菌の分布との関係について、詳細に検討した報告はない。今回の調査では、従来から言われていたとおり、pH 6未満の試料からレジオネラ属菌は検出されなかつたほか、新たに塩化物泉においてレジオネラ属菌の検出率が有意に高くなることが明らかになった。特に、主成分あるいは副成分に塩化物及び炭酸水素塩の両方を含む泉質(塩化物／炭酸水素塩泉)においては、73.7% (浴槽水に限れば83.3%) からレジオネラ属菌が検出されたことは注目される。当該泉質においては、スケールと呼ばれる沈殿物が生じやすいことが知られており、塩化物泉のレジオネラ属菌に対する防御効果に加え、バイオフィルムが定着しやすい環境を提供し易い泉質である可能性が考えられる。今後、調査対象源泉の温泉分析書を解析する等により、温泉成分と微生物汚染の関連についてさらに詳細な知見を得たいと考えている。

#### 貯湯槽、配管系の管理状況とレジオネラ属菌汚染

貯湯槽、配管系統の構造設備あるいは管理方法についての問題点をデータに基づいて明らかにするため、今回の調査では、浴槽水以外にも可能な限り注湯口、貯湯槽、源泉からの採取を行った。源泉15件はすべて陰性であり、貯湯槽から注湯口に至る過程で検出率が上昇したことは、貯湯槽及び配管系におけるバイオフィルム対策の徹底が不可欠であることを示している(図1)。レジオネラ属菌は、貯湯槽や注湯口の温度が50°C以上で検出率が低下し、55°C以上で不検出であったこと、また、レジオネラ属菌の増殖装置となるアメーバに至っては45°C以上で全く検出されなかつたことから(図12)、指針等に定められた60°C以上(最大使用時でも55°C以上)

の温度管理が最も確実な汚染防止手段であることが確認された。ただ、貯湯槽が60°C以上に管理できていると推定される施設は全体の31%に過ぎず、残りの69%の施設では、今後施設改善にむけた何らかの対策が必要と考えられた。

温度管理とともに重要な対処法としては、貯湯槽での消毒が考えられる。今回の調査では温泉水に消毒剤を添加している施設数自体が少なかったため、消毒の効果に関して有意な結果は得られなかつたが、源泉、貯湯槽あるいは配管系に消毒剤を注入している施設では、未使用の施設に比べてレジオネラ属菌、アメーバ及び従属栄養細菌において検出率の低下がみられていることから(図13)、貯湯槽の温度を高温に維持できない場合には、必要に応じて貯湯槽での消毒も検討すべきであろう。

また、貯湯槽や配管系でバイオフィルムが定着するには、当然微生物の餌となる有機物量が関係すると考えられる。今回、有機物量の評価項目として、全有機炭素(TOC)及び過マンガン酸カリウム消費量を調査した。還元性無機物などの多様なイオンを含む温泉に対して、過マンガン酸カリウム消費量で有機物量を評価するのは困難であったため、有機物の指標としてTOCを検討した。浴槽水と異なり、貯湯槽水及び湯口水では、TOC濃度が0.5 mg/L未満であればレジオネラ属菌の検出率が低くなる傾向がみられたが、アメーバや従属栄養細菌で同様な傾向が認められなかつた。水中の有機物量と貯湯槽、配管系のバイオフィルム定着との関係については、水道給水設備での報告によると、TOCよりもむしろAOC(同化性有機炭素)に相関があるとされている。今後、貯湯槽あるいは配管系のバイオフィルム定着に、源泉の有機物量がどのように関与しているか、より詳細に検討を進めていく必要がある。

今回、採取試料の広範な微生物調査を行い、互いの相関を検討した結果、従属栄養細菌(42°C)200 CFU/ml未満の試料からはレジオネラ属菌がほとんど検出されないことが明らかとなつた(図5)。従属栄養細菌はバイオフィルムの定着に伴つて増加することが知られていることから、湯口での従属栄養細菌数を調べることで、貯湯槽及び配管系におけるバ

イオフィルムの定着状態を推定し、ひいてはレジオネラ属菌が発生する前に清掃等の対策を講じるための管理指標となりうる可能性がある。今後さらに調査施設を増やし、従属栄養細菌の挙動とレジオネラ属菌の検出とを調査する必要がある。

#### 注湯口及び浴槽の管理状況とレジオネラ属菌汚染

貯湯槽のレジオネラ属菌検出率は 9.1%であったが、注湯口においては 22.2%と検出率の上昇がみられた。汚染原因の一つには、貯湯槽から湯口に至る配管系での汚染が考えられるが、加えて注湯口周辺

(源泉の吐出口表面や吐出口の裏側など) の汚染が含まれていること指摘すべきであろう。実際に調査及びその後の原因究明を行った協力研究者からの報告にもあるとおり、温泉の注湯口は温泉情緒を醸し出すために、施設ごとに趣向を凝らした複雑な形をしたものが多い。注湯口周辺の洗浄、消毒を徹底する、あるいは洗浄し易い構造に変更することで陰性化するケースも少なからず存在することから、洗浄の際の重要なチェックポイントとして認識すべきである。

また、今回の調査では、予想以上に浴槽での汚染対策の難しさが浮き彫りとなった。注湯口等浴槽に流入する前の試料と、浴槽水とのペア検体での調査結果から、浴槽水の汚染の 7 割は浴槽での汚染、すなわち浴槽洗浄等のバイオフィルム対策が不十分であることがわかった。貯湯槽の有無が浴槽での検出率に影響しないことも、貯湯槽、配管系での対策と、浴槽での対策の両方が必要であることを裏付けている。浴槽は常に外気に触れており、土や埃などと共に外部からレジオネラ属菌が供給されるうえ、入浴者由来の有機物も加わるため、配管系よりもバイオフィルムが蓄積しやすいことは容易に想像できる。掛け流し式温泉において最も汚染が生じやすい部位は、意外にもほとんど毎日清掃を行っているはずの浴槽壁面であることが明らかになったことは、循環式温泉で配管、ろ過器対策が重要視されることから考えると、ある意味発想の転換が必要かもしれない。

浴槽でのバイオフィルム定着を防止するためには、浴槽の材質と、泉質に応じた洗浄方法を確立することが重要である。浴槽の材質としてはタイルや石を

使った浴槽でレジオネラ属菌の検出率が高く、木やコンクリートで低いという結果が得られた。石やタイルは浴槽の材質としては一般的であり、石の種類や組み方も施設によってまちまちであるので、一括りにして論じることはできないが、タイルの目地、石組みのモルタルや隙間など、洗浄が届きにくくバイオフィルムが定着し易い場所がそれだけ多いことを示しているかもしれない。

それ以上に興味深いのは、洗浄方法とレジオネラ属菌検出率についてである。浴槽洗浄時に消毒を併用することがバイオフィルム対策に有効であると一般的に考えられているが、結果はその逆であり、ブラシ洗浄と消毒の両方を毎日実施している施設の 74%からレジオネラ属菌が検出され、ブラシ主体（同 27.5%）やブラシ+洗剤（同 56.3%）よりも検出率が高いという意外な結果が得られた。ブラシの代わりに高圧洗浄を行っている施設で 77%に検出されることから、ブラシによる物理的な除去が基本的には有効であると推察される。ただし、実施者によりブラシ掛けの時間や浴槽壁面にかかる力などが異なり、ブラシ掛けの効果にも大きな差があることが予測されるため、何らかの標準的な作業法を確立すれば、浴槽の清掃に関して最も効果的と考えられる。

また、消毒による効果が得られにくい原因の一つに、間違った手順で消毒剤を使用している可能性が考えられる。一度バイオフィルムが形成されると、消毒剤が内部に浸透するのを防ぎ、消毒剤に対して抵抗性を示すことが知られている。そのため、消毒はブラシ等の物理的な除去の後、仕上げに使用するのが基本であるが、すぎの手間を省くため、消毒剤を噴霧した後にブラシを使用する場合が見受けられる。その場合、期待した消毒の効果が得られないばかりでなく、ブラシ洗浄が疎かになる可能性も考えられる。高圧水に関しても、水圧と洗浄効果に関する検討が必要と考えられる。いずれにせよ、浴槽の洗浄に関しては、何らかの標準法を確立することが、バイオフィルム発生ひいてはレジオネラ属菌等の対策に重要と考えられる。

さらに興味深い点は、洗浄に与える泉質の影響で

ある。塩化物／炭酸水素塩泉や塩化物泉でレジオネラ属菌の検出率が高いことは前述のとおりであるが、図 17 に示すように、塩化物／炭酸水素塩泉や塩化物泉では、ブラシあるいはブラシ+洗剤の洗浄効果が得られにくいとのデータが得られている。これらの泉質がスケールの着き易い泉質であることが影響している可能性が考えられ、泉質の化学的な特徴に合致した洗浄マニュアルを作成する等、より詳細な管理方法を確立することが重要であり、今後の検討課題であろう。

#### 浴槽水の消毒等

バイオフィルムの発生に関しては、遊離残留塩素等による殺菌（消毒）が、著効はないものの比較的効果があることが明らかとなっている。浴槽水に何らかの消毒を施している施設ではレジオネラ属菌等の検出率の低下が期待されたが、浴槽水に対する消毒の有無で検出率に差はみられなかった。連続注入であるあるいは浴槽への投げ込みであるかといった注入方法によっても有意な差はなかった。施設状況調査で「塩素消毒あり」と回答があった施設において、検査の結果遊離残留塩素が検出されない施設が相当数あったことから、残留塩素が 0.2 mg/L 以上検出されるか否かで分類してさらに検討を行ったが、それでもレジオネラ属菌に対しては明瞭な消毒効果は確認できなかった。その一方で、アメーバや従属栄養細菌あるいは大腸菌群のように、消毒によって有意な減少がみられる項目もあるため、塩素消毒の効果が全く得られていないわけではない。消毒を実施している施設数が少なく、限られた試料数しか得られなかつたため評価は難しいが、掛け流し式温泉の場合は消毒剤との接触時間が循環式に比較して短いこと、適正濃度の維持が難しいこと、あるいは泉質や pH の影響などを考慮し、目的に応じて施設ごとに消毒効果を検証することが重要と考えられる。

また、掛け流し式温泉において浴槽水の清潔度を維持するためには、完全換水頻度（浴槽の水抜き清掃の頻度、毎日が基本）と、換水率（単位時間当たりの浴槽水入れ替わり回数）が重要な管理項目と考えられる。今回の調査結果では、毎日換水清掃を実

施する施設が 84% を占め、2 日以上使い続ける施設が少なかったため、完全換水の頻度と各種微生物汚染に相関は見出せなかった。換水率については、採取時間や入浴者数が汚染の度合いに影響しないレジオネラ属菌においては、換水率が高ければ検出率が低下する傾向がみられたが、その他の微生物汚染については、入浴者数や採取時刻に大きく依存するため、検出率、菌数の増減とともに換水率との関係は見出せなかった。ただし、完全換水頻度及び換水率は、浴槽水の清潔度に直接影響を及ぼす項目であり、入浴者数に応じた適正な湯量を浴槽に補給することが必要と考えられる。

#### E. 結論

全国の循環系を持たない掛け流し式温泉について、浴槽水、注湯口水、貯湯槽水及び源泉の計 232 件を調査した結果、81 件 (34.9%) からレジオネラ属菌が検出された。特に浴槽水からの検出率が高く、調査試料の約半分に当たる 49.2% からレジオネラ属菌が検出された。全試料中の各病原微生物検出率は、抗酸菌が 3.1% と低かったが、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌は 15~26% であり、その検出場所はほとんどが浴槽水であった。

レジオネラ属菌の検出に影響を与える要因としては、pH 6 未満の試料から検出されることのほか、今回の調査で新たに塩化物泉（特に塩化物及び炭酸水素塩の両方を主成分あるいは副成分に含む泉質）で、有意に検出率が高くなることが明らかになった。これらの泉質がレジオネラ属菌自体の生育を助長する要因があるのか、あるいはレジオネラ属菌の増殖源となるバイオフィルムの定着に関与しているのか、さらに検討を進める必要がある。

浴槽水のレジオネラ属菌検出率には、浴槽の材質や洗浄方法が影響することがわかった。加えて、塩化物泉では浴槽の洗浄効果が現れにくいというデータも得られた。浴槽水のレジオネラ属菌汚染を防ぐためには、浴槽壁及び湯口周りにバイオフィルムを定着させないことが重要であり、多様な温泉の化学的な特徴に最適な材質、洗浄方法、消毒方法を開発するという視点が必要と考えられた。また、レジオ

ネラ属菌以外の病原微生物対策については、浴槽への補給湯量、浴槽の大きさ、入浴者数等が施設毎に大きく異なるため、一定の傾向は見出せなかつたが、消毒を行わない、あるいは消毒による効果が現れにくい掛け流し式温泉においては、施設の汚染実態を把握したうえで、完全換水頻度や補給湯量を検討する等の対策が必要と考えられた。

また、源泉、貯湯槽、配管を経由して注湯口に至る過程において、レジオネラ属菌の増殖につながるバイオフィルムの発生を抑えるためには、60°C以上の温度管理（最大使用時で55°C以上）が極めて有効であり、貯湯槽への消毒剤の注入も一定の効果が得られることが確認された。貯湯槽や施設内配管の管理方法、洗浄方法及び洗浄時期を、泉質や構造設備に応じて施設毎にマニュアル化することが重要である。その際、従属栄養細菌数（42°C培養）を200 CFU/ml未満に抑えることでレジオネラ属菌の検出率が有意に低下することが明らかになったことから、管理指標の一つとして活用できる可能性が示唆された。

## F. 参考文献

- 1 WHO : Guidelines for safe recreational waters. Vol. 2 : Swimming pools, spas and similar recreational-water environments. Final Draft 2000.
- 2 薮内英子ほか：日本の温泉水中の*Legionella*属菌の分布，感染症学雑誌，1994，68，549-551。
- 3 笹原武志ほか：温泉水における*Legionella*属菌汚染と泉質に関する調査・研究，感染症学雑誌，2004，78，545-553。
- 4 古畑勝則ほか：温泉水からのレジオネラ属菌の分離状況，感染症学雑誌，2004，78，710-716。
- 5 遠藤卓郎ほか：厚生労働科学研究費補助金健康科学総合研究事業「循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究」平成16年度研究報告書，平成17年4月。
- 6 遠藤卓郎ほか：厚生労働科学研究費補助金健康科学総合研究事業「温泉・公衆浴場、その他の温水におけるアメーバ性髄膜脳炎の病原体 *Naegleria fowleri* の疫学と病原性発現に関する研究」，平成15年度研究報告書，平成16年4月。

*fowleri* の疫学と病原性発現に関する研究」，平成15年度研究報告書，平成16年4月。

- 7 厚生労働省告示第264号：レジオネラ症を予防するため必要な措置に関する技術上の指針. 2003.
- 8 Heller R et al. : Effect of salt concentration and temperature on survival of *Legionella pneumophila*. Lett Appl Microbiol 1998, 26, 64-68.

## G. 研究発表

なし。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表 1 泉質分類

| 泉 質 分 類                    | 件数  | 内 訳 |       |
|----------------------------|-----|-----|-------|
|                            |     | 浴槽水 | 浴槽水以外 |
| 1) 酸性/弱酸性泉 (pH<6.0)        | 15  | 8   | 7     |
| 単純温泉                       | 11  | 5   | 6     |
| 酸性・含硫黄・カルシウム・硫酸塩・塩化物泉      | 1   | 1   | 0     |
| 含硫黄・カルシウム・硫酸塩泉             | 1   | 1   | 0     |
| 不明                         | 2   | 1   | 1     |
| 2) 塩化物/炭酸水素塩泉              | 19  | 12  | 7     |
| カルシウム・カリウム・炭酸水素塩・塩化物泉      | 9   | 6   | 3     |
| ナトリウム・塩化物・炭酸水素塩泉           | 5   | 3   | 2     |
| 含二酸化炭素・ナトリウム・塩化物・炭酸水素塩冷鉱泉  | 2   | 0   | 2     |
| ナトリウム・カルシウム・塩化物・炭酸水素塩・硫酸塩泉 | 1   | 1   | 0     |
| ナトリウム・炭酸水素塩・塩化物・硫酸塩泉       | 1   | 1   | 0     |
| ナトリウム・炭酸水素塩・硫酸塩・塩化物泉       | 1   | 1   | 0     |
| 3) 塩化物泉                    | 73  | 37  | 36    |
| ナトリウム・塩化物泉                 | 46  | 23  | 23    |
| カルシウム・ナトリウム・塩化物泉           | 12  | 4   | 8     |
| ナトリウム・カルシウム・塩化物泉           | 4   | 2   | 2     |
| ナトリウム・塩化物・硫酸塩泉             | 4   | 2   | 2     |
| ナトリウム・硫酸塩・塩化物泉             | 4   | 3   | 1     |
| ナトリウム・カルシウム・硫酸塩・塩化物泉       | 3   | 3   | 0     |
| 4) 炭酸水素塩泉                  | 14  | 6   | 8     |
| ナトリウム・炭酸水素塩泉               | 13  | 5   | 8     |
| ナトリウム・カルシウム・硫酸塩・炭酸水素塩泉     | 1   | 1   | 0     |
| 5) 硫酸塩泉                    | 16  | 11  | 5     |
| ナトリウム・カルシウム・硫酸塩泉           | 8   | 5   | 3     |
| カルシウム・ナトリウム・硫酸塩泉           | 6   | 4   | 2     |
| ナトリウム・カリウム・硫酸塩泉            | 2   | 2   | 0     |
| 6) 単純温泉                    | 52  | 31  | 21    |
| 単純温泉                       | 29  | 16  | 13    |
| アルカリ性単純温泉                  | 23  | 15  | 8     |
| 7) 硫黄泉                     | 27  | 19  | 8     |
| 単純硫黄泉                      | 8   | 4   | 4     |
| 含硫黄・カルシウム・ナトリウム・硫酸塩・炭酸水素塩泉 | 6   | 6   | 0     |
| 含硫黄・ナトリウム・カルシウム・塩化物泉       | 4   | 2   | 2     |
| アルカリ性単純硫黄温泉                | 3   | 1   | 2     |
| 含硫黄・ナトリウム・炭酸水素塩・硫酸塩泉       | 2   | 2   | 0     |
| 含硫黄・ナトリウム・炭酸水素塩泉           | 1   | 1   | 0     |
| 含硫黄・カルシウム・硫酸塩泉             | 1   | 1   | 0     |
| 含硫黄・ナトリウム・カルシウム・硫酸塩泉       | 1   | 1   | 0     |
| 含硫黄・ナトリウム・塩化物泉             | 1   | 1   | 0     |
| 8) その他・不明                  | 16  | 8   | 8     |
| 単純弱放射能泉                    | 2   | 2   | 0     |
| 冷鉱泉                        | 7   | 2   | 5     |
| 不明                         | 7   | 4   | 3     |
| 計                          | 232 | 132 | 100   |

表2 レジオネラ属菌検出結果

| 種別  | 検査数 | 検出件数(%)     | 検出菌数(CFU/100ml) |      |       | 菌数別検出件数         |                  |                  |
|-----|-----|-------------|-----------------|------|-------|-----------------|------------------|------------------|
|     |     |             | 平均              | ± SD | 最大    | 10 <sup>-</sup> | 10 <sup>2-</sup> | 10 <sup>3-</sup> |
| 浴槽水 | 132 | 65(49.2)*** | 459 ± 1,285     |      | 6,800 | 41              | 18               | 6                |
| 注湯口 | 63  | 14(22.2)    | 51 ± 65         |      | 220   | 12              | 2                |                  |
| 貯湯槽 | 22  | 2(9.1)      | 185 ± 191       |      | 320   | 1               | 1                |                  |
| 源 泉 | 15  | 0(0.0)      |                 |      |       |                 |                  |                  |
| 計   | 232 | 81(34.9)    | 382 ± 1,161     |      | 6,800 | 54              | 21               | 6                |

\*\*\*:  $P<0.001$ 、レジオネラ属菌が検出された貯湯槽の温度: 44.5°C 1件、47.0°C 1件

表3 浴槽種別レジオネラ属菌検出結果

| 種別  | 検査数 | 検出件数(%)   | 検出菌数(CFU/100ml) |      |       | 菌数別検出件数         |                  |                  |
|-----|-----|-----------|-----------------|------|-------|-----------------|------------------|------------------|
|     |     |           | 平均              | ± SD | 最大    | 10 <sup>-</sup> | 10 <sup>2-</sup> | 10 <sup>3-</sup> |
| 内 湯 | 107 | 50 (46.7) | 427 ± 1,280     |      | 6,800 | 33              | 13               | 4                |
| 露 天 | 25  | 15 (60.0) | 564 ± 1,343     |      | 5,000 | 8               | 5                | 2                |
| 計   | 132 | 65 (49.2) | 459 ± 1,285     |      | 6,800 | 41              | 18               | 6                |

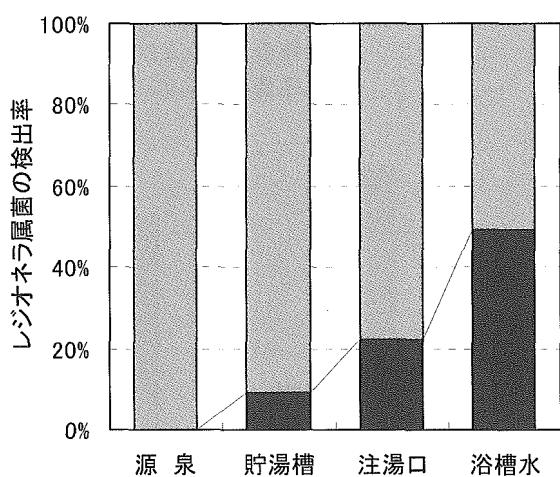


図1 採取地点別レジオネラ属菌検出率

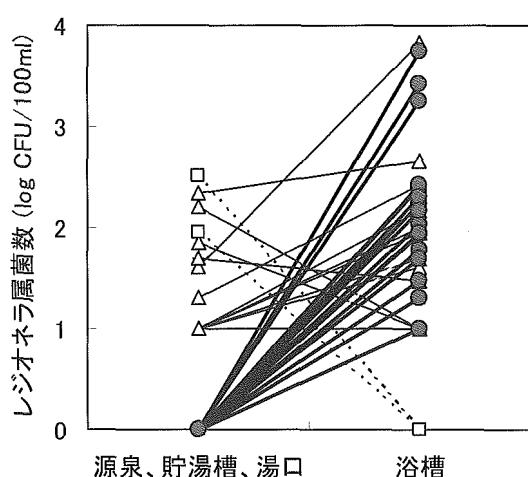


図2 同一施設ペア試料でのレジオネラ属菌の動向 (n=44/72組)

表 4 検出されたレジオネラ属菌の菌種及び血清群

| 菌種、血清群                 | 検出試料数<br>(%) | 塩素消毒 |    | 残留塩素(mg/L) |        | pH      |         |      |    |
|------------------------|--------------|------|----|------------|--------|---------|---------|------|----|
|                        |              | あり   | なし | 0.2 以上     | 0.2 未満 | 6.0-7.4 | 7.5-8.4 | 8.5- | 不明 |
| <i>L. pneumophila</i>  | 71 (87.7)    | 13   | 58 | 5          | 66     | 16      | 33      | 17   | 5  |
| SG 1                   | 16 (19.8)    | 3    | 13 |            | 16     | 6       | 7       | 3    |    |
| 2                      | 1 (1.2)      | 1    |    |            | 1      |         |         | 1    |    |
| 3                      | 18 (22.2)    | 6    | 12 | 3          | 15     | 4       | 3       | 9    | 2  |
| 4                      | 12 (14.8)    | 2    | 10 | 1          | 11     | 1       | 8       | 3    |    |
| 5                      | 17 (21.0)    | 5    | 12 | 2          | 15     | 3       | 7       | 7    |    |
| 6                      | 18 (22.2)    | 4    | 14 | 2          | 16     | 3       | 5       | 9    | 1  |
| 7                      | 1 (1.2)      | 1    |    |            | 1      |         |         | 1    |    |
| 8                      | 1 (1.2)      |      | 1  |            | 1      |         | 1       |      |    |
| 9                      | 3 (3.7)      |      | 3  |            | 3      | 1       | 1       |      | 1  |
| 10                     | 3 (3.7)      |      | 3  |            | 3      | 1       |         | 1    | 1  |
| 11                     | 1 (1.2)      | 1    |    | 1          |        |         |         | 1    |    |
| 13                     | 1 (1.2)      | 1    |    |            | 1      |         |         | 1    |    |
| 15                     | 1 (1.2)      | 1    |    | 1          |        |         |         | 1    |    |
| UT                     | 14 (17.3)    | 4    | 10 | 1          | 13     | 2       | 7       | 4    | 1  |
| <i>L. dumoffii</i>     | 2 (2.5)      | 2    |    |            | 2      | 1       | 1       |      |    |
| <i>L. londiniensis</i> | 5 (6.2)      | 3    | 2  | 3          | 2      | 1       | 4       |      |    |
| <i>L. micdadei</i>     | 1 (1.2)      | 1    |    |            | 1      |         |         | 1    |    |
| <i>L. oakridgensis</i> | 3 (3.7)      | 2    |    |            | 3      |         | 1       | 2    |    |
| <i>Legionella spp.</i> | 12 (14.8)    | 2    | 10 |            | 12     | 4       | 5       | 1    | 2  |
| 計                      | 81           | 15   | 65 | 6          | 75     | 20      | 38      | 18   | 5  |

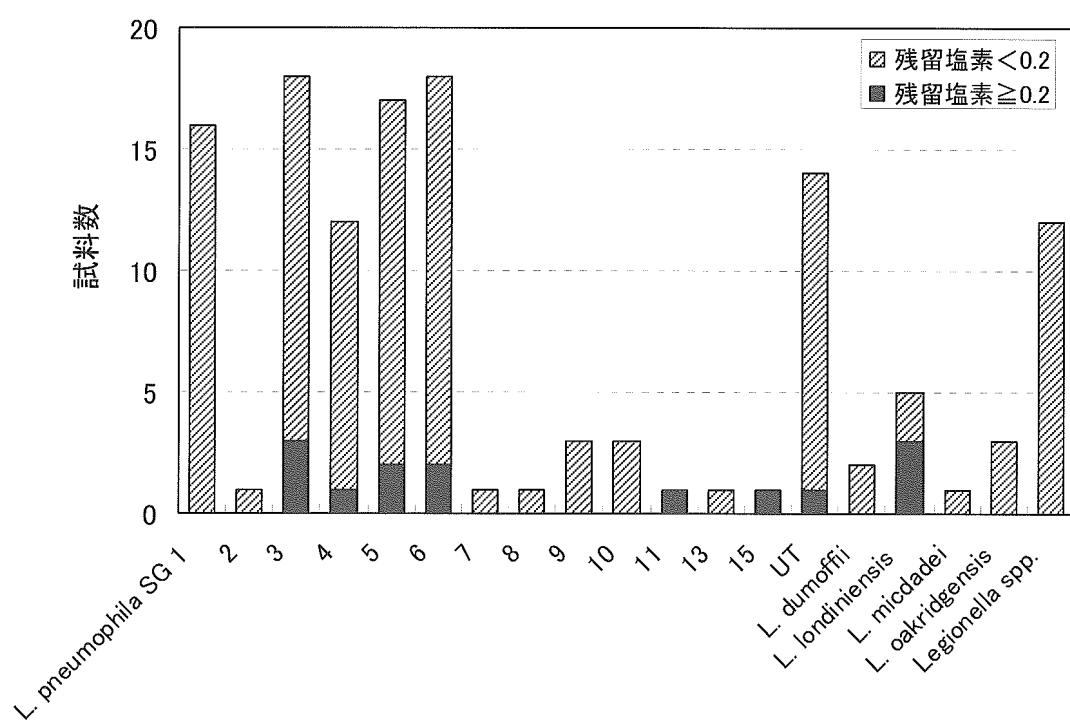


図 3 検出されたレジオネラ属菌の菌種及び血清群の分布

表5 アメーバ検出結果

| 種別  | 検査数 | 検出件数(%)      | アメーバ数(PFU/100ml) |       |    | アメーバ数別検出件数 |     |                  |                  |
|-----|-----|--------------|------------------|-------|----|------------|-----|------------------|------------------|
|     |     |              | 平均               | ± SD  | 最大 | <10        | 10- | 10 <sup>2-</sup> | 10 <sup>3-</sup> |
| 浴槽水 | 124 | 43 (34.7)*** | 240 ± 482        | 2,200 | 17 | 10         | 12  | 4                |                  |
| 注湯口 | 53  | 3 (5.7)      | 19 ± 27          | 50    | 2  | 1          |     |                  |                  |
| 貯湯槽 | 22  | 4 (18.2)     | 90 ± 142         | 300   | 2  | 1          | 1   |                  |                  |
| 源 泉 | 15  | 0 (0.0)      |                  |       |    |            |     |                  |                  |
| 計   | 214 | 50 (23.4)    | 215 ± 452        | 2,200 | 21 | 12         | 13  | 4                |                  |

\*\*\*: P&lt;0.001

表6 抗酸菌検出結果

| 種別  | 検査数 | 検出件数(%) | 検出菌数(CFU/100ml) |      |    | 菌数別検出件数 |                  |                  |
|-----|-----|---------|-----------------|------|----|---------|------------------|------------------|
|     |     |         | 平均              | ± SD | 最大 | 10-     | 10 <sup>2-</sup> | 10 <sup>3-</sup> |
| 浴槽水 | 129 | 6 (4.7) | 32 ± 35         | 100  | 5  | 1       |                  |                  |
| 注湯口 | 54  | 0 (0.0) |                 |      |    |         |                  |                  |
| 貯湯槽 | 22  | 1 (4.5) | 10              |      | 10 | 1       |                  |                  |
| 源 泉 | 15  | 0 (0.0) |                 |      |    |         |                  |                  |
| 計   | 220 | 7 (3.2) | 29 ± 33         | 100  | 6  | 1       |                  |                  |

*M. avium*: 2 件、*M. gordonae*: 4 件、*M. scrofulaceum*: 1 件、UT: 1 件

表7 大腸菌検出結果

| 種別  | 検査数 | 検出件数(%)   | 菌数(MPN/100ml) |       |    | 菌数別検出件数 |     |                  |                  |
|-----|-----|-----------|---------------|-------|----|---------|-----|------------------|------------------|
|     |     |           | 平均            | ± SD  | 最大 | <10     | 10- | 10 <sup>2-</sup> | 10 <sup>3-</sup> |
| 浴槽水 | 132 | 53 (40.2) | 187 ± 328     | 1,100 | 14 | 22      | 12  | 5                |                  |
| 注湯口 | 48  | 1 (2.1)   | 4             |       | 4  | 1       |     |                  |                  |
| 貯湯槽 | 20  | 2 (10.0)  | 42 ± 47       | 75    | 1  | 1       |     |                  |                  |
| 源 泉 | 15  | 0 (0.0)   |               |       |    |         |     |                  |                  |
| 計   | 215 | 56 (26.0) | 179 ± 321     | 1,100 | 16 | 23      | 12  | 5                |                  |

表8 大腸菌群検出結果

| 種別  | 検査数 | 検出件数(%)   | 菌数(MPN/100ml) |       |     | 菌数別検出件数(%) |     |                  |                  |
|-----|-----|-----------|---------------|-------|-----|------------|-----|------------------|------------------|
|     |     |           | 平均            | ± SD  | 最大  | <10        | 10- | 10 <sup>2-</sup> | 10 <sup>3-</sup> |
| 浴槽水 | 130 | 74 (56.9) | 359 ± 702     | 4,600 | 13  | 26         | 23  | 12               | 35(26.9)         |
| 注湯口 | 48  | 5 (10.4)  | 100 ± 201     | 460   | 3   | 1          | 1   |                  | 1(2.1)           |
| 貯湯槽 | 20  | 3 (15.0)  | 521 ± 551     | 1,100 | 1   |            | 1   | 1                | 2(10.0)          |
| 源 泉 | 15  | 1 (6.7)   | 460           |       | 460 |            |     | 1                | 1(6.3)           |
| 計   | 213 | 83 (39.0) | 351 ± 674     | 4,600 | 17  | 27         | 26  | 13               | 39(18.3)         |

表 9 緑膿菌検出結果

| 種別  | 検査数 | 検出件数(%)   | 菌数(MPN/100ml) |       | 菌数別検出件数(%) |     |                   |                   |          |
|-----|-----|-----------|---------------|-------|------------|-----|-------------------|-------------------|----------|
|     |     |           | 平均 ± SD       | 最大    | <10        | 10- | 10 <sup>2</sup> - | 10 <sup>3</sup> - | 10≤(%)   |
| 浴槽水 | 129 | 46 (35.7) | 210 ± 530     | 2,400 | 24         | 11  | 7                 | 4                 | 22(17.1) |
| 注湯口 | 45  | 3 ( 6.7)  | 52 ± 85       | 150   | 2          |     | 1                 |                   | 1( 2.2)  |
| 貯湯槽 | 20  | 1 ( 5.0)  | 1,400         | 1,400 |            |     |                   | 1                 | 1( 5.0)  |
| 源 泉 | 15  | 1 ( 6.7)  | 240           | 240   |            |     | 1                 |                   | 1( 6.7)  |
| 計   | 209 | 51 (24.4) | 225 ± 531     | 2,400 | 26         | 11  | 9                 | 5                 | 25(12.0) |

表 10 黄色ブドウ球菌検出結果

| 種別  | 検査数 | 検出件数(%)   | 菌数(MPN/100ml) |       | 菌数別検出件数(%) |     |                   |                   |          |
|-----|-----|-----------|---------------|-------|------------|-----|-------------------|-------------------|----------|
|     |     |           | 平均 ± SD       | 最大    | <30        | 30- | 10 <sup>2</sup> - | 10 <sup>3</sup> - | 30≤(%)   |
| 浴槽水 | 129 | 33 (25.6) | 121 ± 270     | 1,100 | 19         | 7   | 5                 | 2                 | 14(10.9) |
| 注湯口 | 45  | 0 ( 0.0)  |               |       |            |     |                   |                   |          |
| 貯湯槽 | 20  | 0 ( 0.0)  |               |       |            |     |                   |                   |          |
| 源 泉 | 15  | 0 ( 0.0)  |               |       |            |     |                   |                   |          |
| 計   | 209 | 33 (15.8) | 121 ± 270     | 1,100 | 19         | 7   | 5                 | 2                 | 14( 6.7) |

表 11 全有機炭素 (TOC) 測定結果

| 種別  | 検査数 | 検出値(mg/L) |       | 濃度別件数 |       |      |      |      |      |   |
|-----|-----|-----------|-------|-------|-------|------|------|------|------|---|
|     |     | 平均        | ± SD  | 最大    | < 0.5 | 0.5- | 1.0- | 2.0- | 3.0- |   |
| 浴槽水 | 112 | 1.0       | ± 1.0 | 4.6   | 45    | 41   | 15   | 5    | 2    | 4 |
| 注湯口 | 32  | 1.1       | ± 1.5 | 7.5   | 15    | 9    | 7    |      |      | 1 |
| 貯湯槽 | 14  | 0.4       | ± 0.2 | 0.7   | 11    | 3    |      |      |      |   |
| 源 泉 | 9   | 0.7       | ± 0.6 | 1.8   | 5     | 3    | 1    |      |      |   |
| 計   | 167 | 1.0       | ± 1.1 | 7.5   | 76    | 56   | 23   | 5    | 2    | 5 |

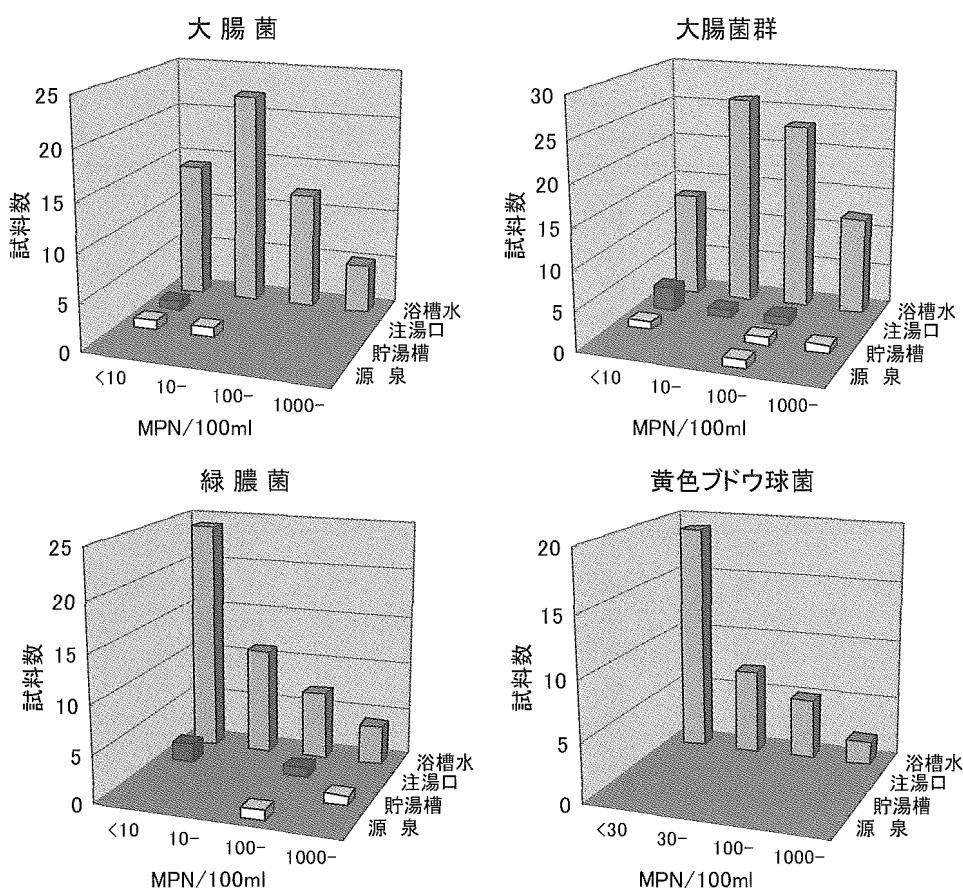


図4 採取地点別病原微生物の菌数分布

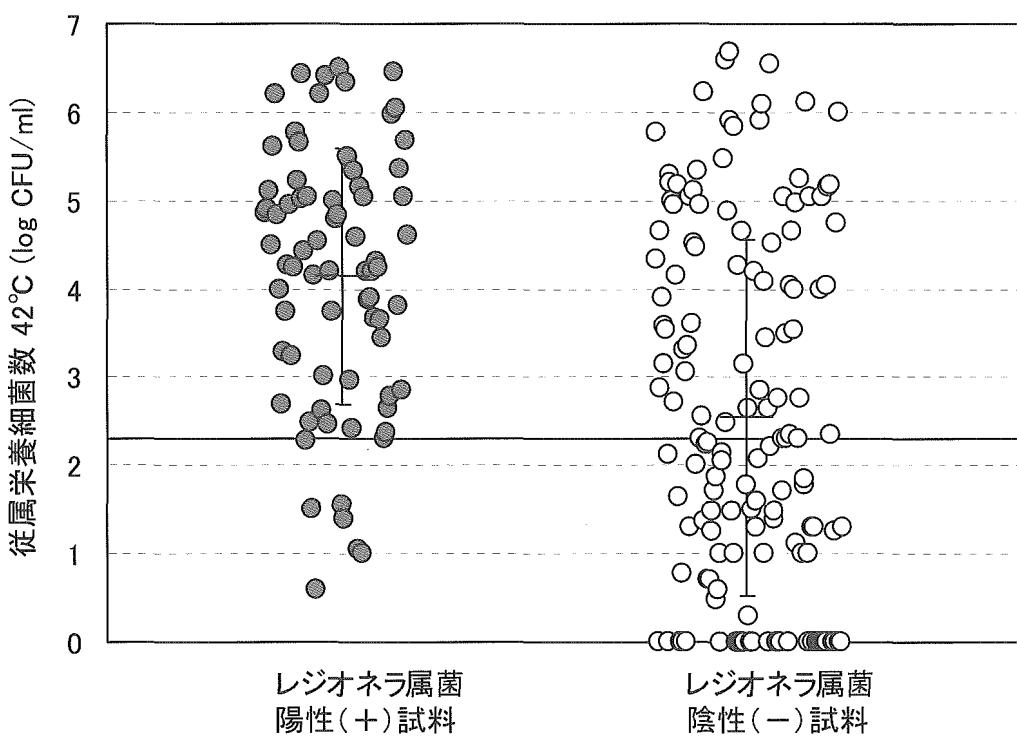


図5 レジオネラ属菌の検出と從属栄養細菌数

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

表 12 pH 別 病原微生物検出状況

| pH      | レジオネラ属菌 |            | アメーバ |              | 抗酸菌 |         | 従属栄養細菌(42°C) |                        |
|---------|---------|------------|------|--------------|-----|---------|--------------|------------------------|
|         | 試料数     | 検出数(%)     | 試料数  | 検出数(%)       | 試料数 | 検出数(%)  | 試料数          | 平均値±SD<br>(log CFU/ml) |
| ≤3.0    | 5       | 0 (0.0) ** | 3    | 0 (0.0)      | 5   | 0 (0.0) | 5            | 3.3 ± 2.4              |
| 3.1-5.9 | 10      | 0 (0.0)    | 10   | 0 (0.0)      | 10  | 0 (0.0) | 10           | 2.1 ± 2.1              |
| 6.0-7.4 | 49      | 20 (40.8)  | 45   | 11 (24.4)    | 45  | 1 (2.2) | 41           | 3.3 ± 1.8              |
| 7.5-8.4 | 109     | 38 (34.9)  | 101  | 18 (17.8)    | 107 | 2 (1.9) | 102          | 3.0 ± 2.2              |
| 8.5≤    | 44      | 18 (40.9)  | 40   | 17 (42.5) ** | 42  | 4 (9.5) | 41           | 2.9 ± 1.8              |
| 不明      | 15      | 5 (33.3)   | 15   | 4 (26.7)     | 11  | 0 (0.0) | 10           | 4.0 ± 1.3              |
| 計       | 232     | 81 (34.9)  | 214  | 50 (23.4)    | 220 | 7 (3.2) | 209          | 3.1 ± 2.0              |

| pH      | 大腸菌 |              | 大腸菌群 |               | 緑膿菌 |           | 黄色ブドウ球菌 |           |
|---------|-----|--------------|------|---------------|-----|-----------|---------|-----------|
|         | 試料数 | 検出数(%)       | 試料数  | 検出数(%)        | 試料数 | 検出数(%)    | 試料数     | 検出数(%)    |
| ≤3.0    | 5   | 0 (0.0)      | 3    | 0 (0.0)       | 5   | 0 (0.0) * | 5       | 0 (0.0)   |
| 3.1-5.9 | 10  | 2 (20.0)     | 10   | 2 (20.0)      | 10  | 0 (0.0)   | 10      | 1 (10.0)  |
| 6.0-7.4 | 45  | 20 (44.4) ** | 45   | 28 (62.2) *** | 41  | 11 (26.8) | 41      | 12 (29.3) |
| 7.5-8.4 | 104 | 25 (24.0)    | 104  | 39 (37.5)     | 102 | 24 (23.5) | 102     | 16 (15.7) |
| 8.5≤    | 41  | 7 (17.1)     | 41   | 11 (26.8)     | 41  | 13 (31.7) | 41      | 2 (4.9) * |
| 不明      | 10  | 2 (20.0)     | 10   | 3 (30.0)      | 10  | 3 (30.0)  | 10      | 2 (20.0)  |
| 計       | 232 | 80 (34.5)    | 213  | 83 (39.0)     | 209 | 51 (24.4) | 209     | 33 (15.8) |

\*:P&lt;0.05、\*\*:P&lt;0.01、\*\*\*:P&lt;0.001

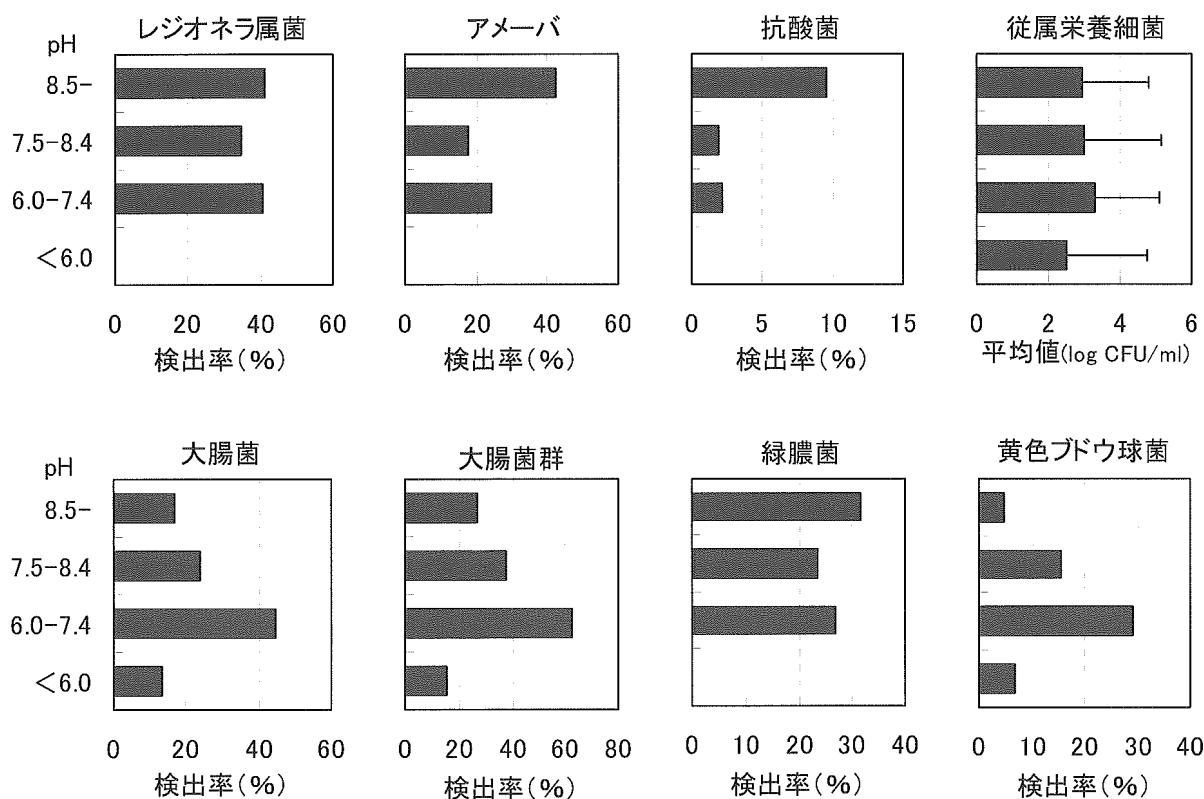


図 6 pH 別 病原微生物検出状況