

200639008A

厚生労働科学研究費補助金

地域健康危機管理研究事業

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 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 遠藤 卓郎

平成 19 (2007) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告書

- 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 …… 1
遠藤 卓郎

II. 分担研究報告書

1. 循環式浴槽水における濁度と過マンガン酸カリウム消費量の推移について… 13
泉山 信司・縣 邦雄
2. 珪藻土ろ過と塩素管理の併用による循環浴槽水の微生物制御 …… 23
杉山 寛治・泉山 信司・八木田健司・大畑 克彦
3. 各種殺菌剤のレジオネラ属菌に対する殺菌効果 …… 29
縣 邦雄・神澤 啓
4. 循環式浴槽における浴槽水及び浴室空気中の消毒副生成物に関する研究 …… 41
神野 透人・香川 聡子・高橋 淳子
5. 浴槽水におけるレジオネラ属菌の平成 18 年度検出状況 …… 49
—特に *Legionella pneumophila* 血清群 1 について—
倉 文明・前川 純子・常 彬・橋本・鈴木 敦子・市瀬 正之
6. 浴槽水からの抗酸菌の検出状況と検出株の同定 …… 61
山崎 利雄・杉山 寛治・大畑 克彦
7. レジオネラ属菌迅速測定法の有用性の検討 (II) …… 69
荒井 桂子・吉川 循江・田中 礼子・林 宏子・山口 正・磯部順子・
佐々木美江・杉山 寛治・田栗 利紹・中嶋 洋・高田千恵子・橋本・鈴木 敦子
8. 浴槽水中に浮遊状態で存在するレジオネラ属菌の宿主アメーバへの …… 99
感染性について
八木田健司・倉 文明・泉山 信司・下河原理江子
9. 浴槽水中に発生する微生物の遺伝子解析 (DGGE 法) …… 111
泉山 信司・関根 寛・田栗 利紹・福井 学
10. 「HACCP」システムの導入を伴う循環式浴槽の管理について …… 139
黒木 俊郎

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
総括研究報告書

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

主任研究者 遠藤卓郎 国立感染症研究所 寄生動物部長

分担研究者

縣 邦 雄	アクアス(株) つくば総合研究所	杉 山 寛 治	静岡県環境衛生科学研究所 公衆衛生細菌学
荒 井 桂 子	横浜市衛生研究所 環境微生物	神 野 透 人	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部
泉 山 信 司	国立感染症研究所寄生動物部	福 井 学	北海道大学 低温科学研究所 微生物生態学
倉 文 明	国立感染症研究所 細菌一部	八木田健司	国立感染症研究所 寄生動物部
黒 木 俊 郎	神奈川県衛生研究所 微生物学	山 崎 利 雄	国立感染症研究所ハンセン病研究センター

研究要旨： 現行の循環式浴槽システムを正確に把握すれば、矛盾を抱えた構造であることが知られる。当該研究事業では多方面からレジオネラ汚染に至るメカニズム、あるいはシステムが抱える問題点を科学的に示すことで循環式浴槽を介したレジオネラおよびその他の微生物に起因する感染症の発生防止に寄与することを目的としてきた。当該年度は3年間の研究期間の最終年度であることから、研究の総括を含め以下の点を検討した。

1. 浴槽水の濁度ならびに有機物汚染管理： 溢水と浴用水の補給を励行することで浴槽水の過マンガン酸カリウム消費量は基準値以内（10mg/L程度）に制御されることを示した。これにより、「有機物汚染対策として生物浄化が必須」との考えは否定される。一方、循環式装置には濁質除去のためのろ過装置が必要であることが示されたが、計算上は必ずしも高い除去能力を必要とせず、少ないろ過回数で目標を達成できることが示された。ろ過槽内のバイオフィルム対策として使い捨て型のろ材を用いる珪藻土ろ過と塩素管理の併用による浴槽水管理を検討した。その結果、珪藻土ろ過材の毎日交換と遊離残留塩素濃度 0.2~0.4 mg/L、週1回の配管洗浄によって長期間（21日間）にわたり浴槽水およびろ過材におけるレジオネラ属菌および宿主アメーバの増殖のほぼ完全制御が達成された。

2. 塩素等の消毒剤の効果判定と悪影響： 温泉水において高 pH やアンモニウムイオンを含む泉質の場合に塩素剤の殺菌効果が弱まることからより効果的な殺菌対策が望まれる。今回、実験室において塩素剤、臭素剤、二酸化塩素、ヨウ素剤の4種類の酸化性殺菌剤を用いてレジオネラ属菌に対する殺菌効果を評価した。実験条件は pH4.5、7.0、9.5 の3点とし、それぞれの条件においてアンモニウムイオン 0 および 5mg/L の添加条件を設定した。また、消毒剤の濃度は Cl₂ あるいは ClO₂ として 0.5mg/L に調整した。その結果、塩素剤では高 pH やアンモニウムイオンの存在により殺菌効果の低下が

観察された。一方、二酸化塩素はすべての実験条件で安定した殺菌効果を示した。臭素剤も高 pH やアンモニウムイオン存在下で殺菌効果が維持されていた。今後は塩素剤の効果が得られにくい温泉施設においてこれら消毒剤の殺菌効果を検証することが重要と考える。一方、塩素等の薬剤の使用によって生じる問題点も指摘される。1 点はトリハロメタンに代表される消毒副生成物の精製で、入浴を介して経皮のおよび経氣的曝露は免れず、塩素使用に際しては綿密な管理が前提となる。また、塩素管理導入後に分離菌中に占める *Legionella pneumophila* 血清群 1 の割合が高くなる傾向が認められている。加えて、*Mycobacterium avium* などその他の病原体も分離されている。遺伝子解析 (DGGE 法) による源泉貯湯槽から浴槽に至る微生物叢の変化の把握に努め、換水・洗浄等の管理状況の把握あるいは汚染指標の確立を目指したが、確立には至らなかった。すなわち、頻回の換水が行われている浴槽からは源泉タンクや貯湯タンクの微生物叢がそのまま検出されるが、換水頻度が低い場合は浴槽独自の微生物の繁殖がみられた。また、異なった施設間ではそれぞれに固有の微生物が存在し、高い共通性は認められなかった。

3. 宿主アメーバに対するレジオネラ属菌の感染性： 宿主アメーバを用いたレジオネラの ID₅₀ (infectious dose) 定量方法を構築した。本法により通常の培養条件 (BCYE α 培地、30℃、3 日間培養) で得られた菌を浮遊状態 (42℃) に維持した場合、時間の経過と共に VNC 化が進行し、BCYE α 培地での増殖性が低下することが明らかとなった。また、同時にアメーバへの感染性も低下していた。この結果は「VNC 状態にあるレジオネラ属菌は宿主アメーバへの感染により復活する」とする従来の理解を支持するものではなかった。

4. 遺伝子検査に基づく迅速検査法の是非： 現行のレジオネラ検査は培養法が用いられており、結果判定までに 1 週間程度を要することから迅速簡便な検査法が求められている。当該研究事業では遺伝子検査の適用を検討し、培養法との間に生じる陰性/陽性結果の不一致の理由について新たな解釈を示すことでその有用性を確認した。一方、DNA 抽出の難しさや PCR の阻害など遺伝子検査方にかかる問題点も指摘された。あわせて、循環式浴槽の重点管理項目を検討し、HACCP システムの導入の留意点をまとめた。

A. 研究成果

循環式浴槽システムにおいて、レジオネラ属菌は浴槽水と接触している構造物の表面に着生するバイオフィーム (活性汚泥) が汚染巣である。その対策として塩素消毒が行われているが、いわば緊急避難的な措置であり最小限に留めることが望ましい。微生物対策の要点は換水と浴槽構造の単純化にあり、水との接触面積を最小限にし、洗浄効果が得ら

れ易い構造とすることである。本年度が当該研究事業の最終年度であることから、これまでの成果を踏まえて以下の諸項目について検討した。

循環式浴槽水の溢水管理と濁度ならびに有機物汚染量との関係： 浴槽水の水質基準は濁度を 5 度 (精製カオリン 5mg/L) 以下、有機物汚染は KMnO₄ 消費量に換算して 25mg/L 以下と規定されている。ところで、

溢水と浴用水の供給が実施されている循環式浴槽システムでは希釈効果が期待される。浴槽水の濁度あるいは KMnO_4 消費量は入浴者が持ち込む汚れと溢水/補給湯量との単純な関係から成り立っており、溢水と湯水の補給を前提として浴槽水を使い続けた場合、濁度および KMnO_4 消費量は持ち込み汚染量を補給湯量で除した値に収束する。濁質等の持ち込み量は 1 人当たり精製カオリンに換算して 0.1~0.5 g、 KMnO_4 消費量は平成 16 年度の報告に示したように約 0.5 g とされる。入浴者の平均体重を 50kg とすると、一回の入浴により溢水/補給湯量はおよそ 50L となる。仮に 50L の補給がなされるものと仮定すると、濁度は 2~10mg/L (2~5 度) に収束し、 KMnO_4 消費量は 10mg/L に収束する。濁度の基準値が 5 度であることから、1 人当たりの入浴者の持ち込み量を 0.25g 以上に想定すれば濁質除去のためのろ過装置の設置が必要となる(図 1)。ちなみに、砂ろ過装置の濁質除去能力は 1 回ろ過でおよそ 40%程度と学会報告されており(中村 勉、小川 正晃、稲田 朝夫、中村 克彦、紀谷 文樹、浴場施設におけるレジオネラ対策に関する研究(その 2) 砂式ろ過器のろ過性能試験、空気調和・衛生工学会大会、平成 17 年)、この程度の能力であっても 1 日に 2 回程度ろ過が行われれば概ね基準値内に収まるものと計算された。しかしながら、砂ろ過は洗浄が難しく、ろ材が占める表面積が浴槽システムの総接水面積の 90%以上を占めることから、管理面から適正を欠いた装置と判断される(前年度報告書)。一方、 KMnO_4 消費量は上述の運転管理が励行される限り、基準値を超えることは無いことが示された(10mg/L 程度に収束)。このことより、「 KMnO_4 消費量の管理に向けては生物浄化が必須」とするこれまでの考えは否定される。

(図 2)

珪藻土ろ過の衛生管理における有効性評価： 砂ろ過の欠点は洗浄が困難で、バイオフィルムの蓄積がおきやすい点である。そこで、使い捨て充填材を用いる珪藻土ろ過の性能を評価した。この装置ではろ過後に充填材(珪藻土)ごと廃棄することからろ過装置内でのバイオフィルム増殖は無い。当該研究では 2m^3 の浴槽を有する実験プラントにおいて珪藻土ろ過と塩素消毒を併用、週に 1 回の換水頻度で運転を行い、実験期間中(連続 3 週間)にレジオネラの増殖を認めなかった(図 3)。

各種水質における殺菌剤のレジオネラ属菌に対する殺菌効果評価： 実験室において、塩素剤、臭素剤、二酸化塩素、ヨウ素剤の 4 種類の酸化性殺菌剤を用いてレジオネラ属菌に対する殺菌効果を評価した。水質条件は、pH 4.5~9.5 及びアンモニウムイオン 0、5mg/L とし、殺菌剤の濃度は 0.5mg/L (Cl_2 または ClO_2 に換算)とした。その結果、塩素剤は高 pH 及びアンモニウムイオンの存在により殺菌効果が低下したのに対し、二酸化塩素は用いた実験条件で安定した殺菌効果を発揮した。臭素剤も高 pH 領域でアンモニウムイオンの有無にかかわらず高い殺菌効果を発揮した(図 4)。今後は実機レベルでの殺菌効果の検証が必要である。

浴槽水及び浴室空気中の消毒副生成物に関する研究： 消毒副生成物による健康被害の可能性について調査した。その結果、浴室空気中のトリハロメタンの種類およびその濃度は浴槽水中に生じた消毒副生成物の種類と濃度を反映すること、その中でクロロホルムの濃度は $45\sim 200\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ と他の消毒副生成物に比べて著しく高い傾向にあることが示された。通常、浴槽施設では室内温度の低下を避けるため、不十分な換気状態にある。

そのため、入浴客は比較的高濃度の CHCl_3 に経気道的及び経皮的に暴露されている実態が明らかになった。施設によっては、30分程度の入浴により耐用一日摂取量 (TDI) の占有率が 10%程度に及ぶ事例が見られている (表 1)。入浴を通した不要の化学物質暴露を避けるためには施設の換気を含めた維持管理の見直しが必要であると考えられる。

浴槽水におけるレジオネラ属菌の検出状況： 2001年度から2006年度 (9月まで) に依頼された 24,250 検体の浴槽水を対象にレジオネラ属菌汚染状況を調査した。2001年から2006年にかけて、陽性率は29%から10%まで低下した。同様に 100 mL 当りの菌数も年度ごとに漸減傾向が見られた。その結果、 $10^4/100\text{mL}$ 以上の菌数が検出される検体は 1.2%未満であった。一方、浴用水では *L. pneumophila* 血清群 (SG) 5 および SG3、4 が優占種であったが、この間に優占種が SG1 に入れ替わった。詳細に調べた 2005年、2006年では、LpSG1、untypable、5、6 の順に多く、それぞれ 10% を超えていた (図 5)。

浴槽水より分離された抗酸菌の同定： 抗酸菌は日和見感染菌であるが、浴槽水やろ材などから分離される。今回、循環式浴槽の浴用水 55 検体から抗酸菌 5 株が分離された。ヒトに病原性のある *M. avium* 4 株、*M. fortuitum* 1 株が同定された。また、ろ材から *M. avium* 4 株、*M. gordonae* 1 株が同定された (表 2)。

遺伝子検出法を用いたレジオネラ属菌迅速検査法の有用性評価： レジオネラ検査の迅速化に向けて遺伝子検査の導入の是非を検討した。既存の DNA 検査キットはわが国の環境株、臨床株に概ね対応しており、利用に供し得ると判断された。これまで、DNA 検査は培養法との間で検出結果に不一致が

認められることから使用が差し控えられてきたが、主な不一致の原因が不自然な多量の死菌の存在によるものと判断された。DNA 検査は迅速性のみならず採水直前の消毒剤投入などといった不正行為の発見につながる利点があり、洗浄後の確認試験や営業再開に向けた検査などに活用が期待される。その一方で、温泉成分中には DNA 増幅に対して阻害的に働く成分が含まれる可能性があること、菌の濃縮ならびに DNA 抽出等に十分な理解と技術的な習熟が必要であることも明らかになった (図 6)。

水中に放出されたレジオネラのアメーバ感染性 (ID_{50}) の継時的変化： 浴槽水等感染源となりうる環境におけるレジオネラ属菌に関しては、菌数とともにその感染性に関するデータが重要である。本研究ではレジオネラ属菌のアメーバに対する感染性を 50% 感染菌量 (ID_{50} : 50% infectious dose) として評価した。その結果、モデル浴槽水 (脱塩素処理水道水、 42°C) に浮遊条件で維持された菌の ID_{50} は当初の 2-3cfu から 1 週間後には 35cfu、2 週間後には 128cfu と計算された。すなわち、アメーバへの感染性は 1 週間でおおよそ 6%、2 週間後には 2% にまで低下していた。

浴槽内に発生する微生物叢の解析： PCR-DGGE 法により浴槽中の細菌叢の解析を行った。試料は循環式浴槽の浴槽水、源泉タンク、貯湯槽より得た。DGGE バンドパターンは源泉タンクと貯湯タンクとの間で共通性が高いものの、浴槽水との共通性は概して低く、浴槽の管理状況に応じて浴槽固有の生物相に変化していた。また、浴槽間の比較では共通性は低く、新たな汚染指標の構築には至らなかった (図 7)。なお、塩基配列解析からは多くが環境細菌の配列が得られたが、*L. pneumophila* subsp. *pneumophila*

Philadelphia 1 (AE017354) の配列が得られた場合もあった。

循環式浴槽管理における重要管理点：循環式浴槽システムにおける衛生管理手法の確立に向けて HACCP システムの導入を推進している。今年度は一般的衛生管理において重点的に管理すべき設備・部位の特定と、それぞれの設備・部位におけるハザードの解析および対策を検討した。源泉、配管、貯湯槽、吐出口、浴槽、オーバーフロー回収槽、集毛器、ポンプ、ろ過器、薬剤注入装置、熱交換器・加熱器を循環式浴槽システムに特徴的な構成要素とみなし、それぞれの性状と対策等について、具体的な管理内容を検討した。得られた検討結果は重要ポイント集としてまとめた。HACCP システムは衛生管理が的確に、しかも効果的に実行されているかどうかを科学的に検証するための活動である。

B. 結論

当該研究事業においては、一貫して循環式浴槽におけるレジオネラ汚染の機序と現行の措置の限界について解析し、説明してきた。レジオネラの増殖は [浴槽水の有機物汚染 → 細菌類の繁殖 → 細菌捕食性微生物（アメーバ等の原虫類など） → アメーバを中心とした宿主生物の繁殖 → レジオネラ汚染] といった浴槽内で増殖する微生物から派生する問題である。そこで、

1. 浴槽水のレジオネラ汚染は浴槽水の使い回しをしないことと、洗浄の徹底により回避できる
2. レジオネラは環境細菌であることから浴槽水に存在するのは当然であるとの主張は間違い

との立場を鮮明にして研究を進めてきた。前者は微生物の繁殖の機会を与えないように管理すれば問題は発生しないからで、後者は、

循環式浴槽が人工の構造物であり、そこに繁殖するレジオネラ菌数は自然界では起き得ないレベルに達すると考えるからである。本年度の成果で、循環式浴槽に生物浄化装置は不要であることを論理的に証明した点と培養法に替わる迅速検査法（遺伝子検出法）の開発への目途を立てた点が特筆される。

循環式浴槽では溢水/補給が勧奨されているが、溢水/補給が励行されている限り浴槽水の有機物汚染は基準値を超えることはないことが理論的に示され、少なくとも生物浄化の必要性の無いことが示された。したがって、レジオネラ汚染防止に向けた有効な措置として、

1. 砂ろ過装置等の撤去を中心とした施設の簡素化（循環配管当の短縮化）
2. 洗浄・消毒の徹底
3. 使い捨て型のろ材の導入
4. 換水

等があげられる。換言すれば、現行の循環式浴槽システムを構造面から抜本的に改良しない限りレジオネラ汚染問題は解決できないと確信する。塩素等の残留性のある消毒剤添加はいわば応急措置として取られるべき措置との理解であり、最小限にとどめるよう計画することが重要である。塩素消毒には副作用問題（消毒副生成物の経氣的・経皮的暴露、*L. pneumophila* SG1 の選択など）が避けられない。

当該研究事業あるいは関連の研究事業によって得られた成果は「公衆浴場における衛生等管理要領」、あるいは「旅館業における衛生等管理要領」等の抜本的な見直しに向けた問題点を整理し、具体的な対応策の整備に寄与するものと確信する。何よりも、レジオネラ問題の根本的な理解と改善に向けた枠組み形成に資するべき資料となっていると承知する。

また、本研究事業では可能な限り多くの研究協力者に参加を求め、事業への参加を通してレジオネラ汚染に関する十分な理解と技術の普及に努めた。今後は地域の衛生行政において的確な指導がなされるものと期待される。さらに、DNA検出を利用した検査法の結果に新たな解釈を与えることで、迅速検査法としての道を開いた点は意義深いと考える。本件に関する情報を積み上げ、衛生管理要領等に反映させるべき内容と理解する。

資源保護の立場から循環式浴槽を評価する向きもあるが、かくも多くの入浴施設が許可され、地下水をくみ上げている現実こそが資源保護に抵触するものと考え。それ以前に、病原微生物汚染が解決できないかぎり使用は控えるべきである。また、入浴施設を衛生施設の枠を超えてレジャー施設として位置付けるのであれば、基準や規制、あるいは設置基準などはそれに即したものにしなければならないと考える。

C. 健康危険情報

なし

D. 研究発表

論文発表

1. Kura, J, Amemura-Maekawa, K, Yagia, T, Endo, M, Ikeno, H, Tsuji, M, Taguchi, K, Kobayashi, E, Ishii and H. Watanabe. Outbreak of Legionnaires' disease on a cruise ship linked to spa-bath filter stones contaminated with *Legionella pneumophila* serogroup 5. *Epidemiol. Infect.*, 134, 385-391, 2006.
2. Amemura-Maekawa J, Kura F, Chang B, Watanabe H: Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis and sequence-based typing (SBT) of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from Japan. p.159-162. In Cianciotto NP et al. (ed.) *Legionella : State of the Art 30 Years after Its Recognition*, ASM Press, Washington, D. C., 2006.
3. Kobayashi S, Kura F, Amemura-maekawa J, Chang B, Yamamoto N, Watanabe H: Locus on chromosome 13 in mice involved in clearance of *Legionella pneumophila* from the lungs. p.310-312. In Cianciotto NP et al. (ed.) *Legionella :State of the Art 30 Years after Its Recognition*, ASM Press, Washington, D. C., 2006
4. Katsuhiko Ohata, Kanji Sugiyama, Mitsuaki Suzuki, Rieko Shimogawara, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo : Growth of *Legionella* in Nonsterilized, Naturally Contaminated Bathing Water in a System that Circulates the Water. IN *Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition*. Eds. Nicholas P. Cianciotto et al. 2006 ASM Press, Washington, D.C.
5. Kanji Sugiyama, Katsuhiko Ohata, Mitsuaki Suzuki, Rieko Shimogawara, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita, Takuro Endo : Inhibition of *Legionella* Growth in Circulating Bathing Water by Filter Refreshment Method Using High Concentration Chlorine. IN *Legionella: State of the Art 30 Years after Its Recognition*. Eds. Nicholas P. Cianciotto et al. 2006 ASM Press, Washington, D.C.
6. 遠藤卓郎、泉山信司、八木田健司。生活

用水のアメーバ汚染。化学療法の領域。<特集：住環境と感染・アレルギー> Vol.23(4), 65-68, 2007.

7. 河野喜美子, 岡田美香, 倉 文明, 前川純子, 渡辺治雄: 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 II. 診断検査の比較、感染症誌 81(2):173-82、2007.
8. 倉 文明、登坂直規、渡辺治雄: 5 章日本と世界のレジオネラ感染症情報、わが国の感染症法に基づいた届け出の現状、レジオネラ感染症ハンドブック (斉藤厚編)、254-266、日本医事新報社、東京、2007.
9. 遠藤卓郎. 提言—新寄生虫事情— 食品衛生研究. 56(6), 5, 2006.
10. 倉 文明、常 彬、前川純子: レジオネラ、図説 呼吸器系細菌感染症: 疫学、診断、治療 (荒川宜親、渡辺治雄監修, 佐々木次雄編集)、105-22, じほう、東京、2006

学会発表

1. 泉山 信司、遠藤卓郎 (2007) 浴槽水の溢水あるいは過による濁質と有機物除去に関する計算。環境技術学会、大阪市立大学 (予定)。
2. 高橋淳子、宇津木祥子、小島幸一、神野透人、高鳥浩介、遠藤卓郎。公衆浴場内における消毒副生成物の曝露評価。日本防菌防黴学会第 33 回年次大会 (東京) 平成 18 年 5 月 30・31 日
3. 高橋淳子、久保田佳子、小島幸一、栗原綱義、渡辺実、青木信道、大沢高温、菅原英治、田幡憲一、佐久間豊夫、松本秀章、矢根五三美、佐藤望、田中 (相原) 真紀、香川 (田中) 聡子、神野透人、高鳥浩介。各種浴場施設内における消毒

副生成物の曝露評価。第 34 回建築物環境衛生管理全国大会 (東京)、平成 19 年 1 月 24・25 日

4. Kawano K, Okada M, Kura F, Amemura-Maekawa J, Watanabe H: The largest outbreak of legionellosis in Japan associated with spa baths: Diagnostic tests. 21st Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Lisbon, Portugal. May 2006.
5. Amemura-Maekawa J, Kura F, Chang B, Suzuki-Hashimoto A, Ichinose M, Watanabe H: Typing of *Legionella pneumophila* isolates in Japan by *flaA* gene. 21st Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Lisbon, Portugal. May 2006.
6. 前川純子、倉 文明、常 彬、渡辺治雄: 新しい分子疫学手法である sequence-based typing (SBT) による *Legionella pneumophila* 血清群 1 の臨床および環境分離株の型別、第 80 回日本感染症学会総会、2006 年 4 月、東京。
7. 前川純子、倉 文明、常 彬、渡辺治雄: *Legionella pneumophila* のモノクローナル抗体を用いたドレスデンパネルによる分類、第 80 回日本細菌学会総会、2007 年 3 月、大阪。
8. 山崎利雄、入浴施設の浴槽水における抗酸菌の検出、第 81 回日本結核病学会総会、2006、4 月、仙台
9. 山崎利雄、入浴施設の浴槽水における抗酸菌の検出、第 81 回日本結核病学会総会、2006、4 月、仙台
10. 山崎利雄、東日本地区の温泉浴槽水からの抗酸菌の分離状況、第 35 回 結核・非 定型抗酸菌治療研究会、2006、6 月、

東京

2007.10.24～26) 予定。

11. 黒木俊郎、遠藤卓郎。HACCP システムの導入を伴う循環式浴槽の管理について、日本公衆衛生学会（愛媛県、

E. 知的財産権の出願・登録状況
なし

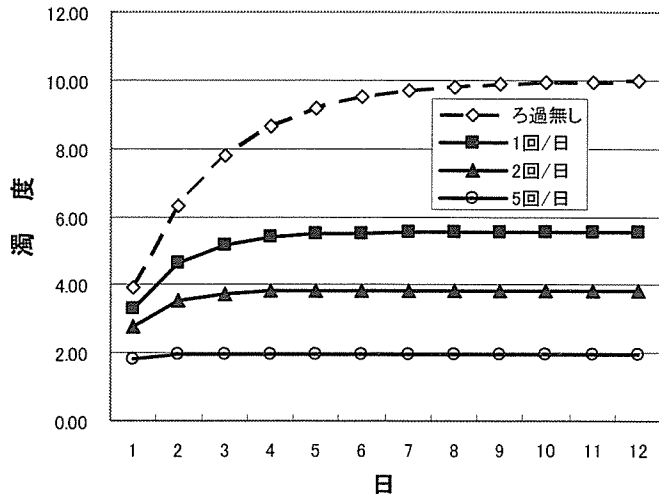


図1 ろ過回数と濁度の関係

ろ過無しでは濁度が 10 に達する浴槽の使用状況において、40%程度のろ過効率を持つろ過装置を想定し、ろ過回数による濁度の継時変化を計算した。1日に1回程度のろ過回数により、基準値以下に制御される。

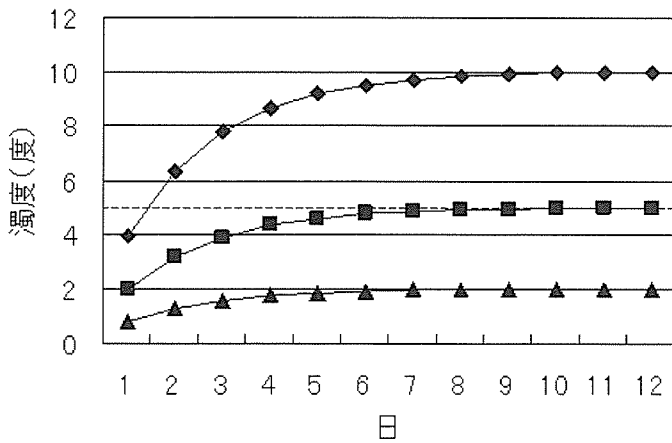


図2 循環式浴槽にける濁質の持ち込み量と浴槽水濁度 : 10 m³の浴槽水に毎日100人が利用した場合の計算結果を示した。管理条件として、浴槽は常に満水に維持され、入浴者が入るたびに浴槽水が溢れ(50L/人)、入浴後に溢水分が補給されるものとした。入浴者1人当たりの有機物持ち込み量を0.1(▲)、0.25(■)、0.5g(◆)に設定。浴槽水の濁度はそれぞれ、2、5、10度に収斂する。

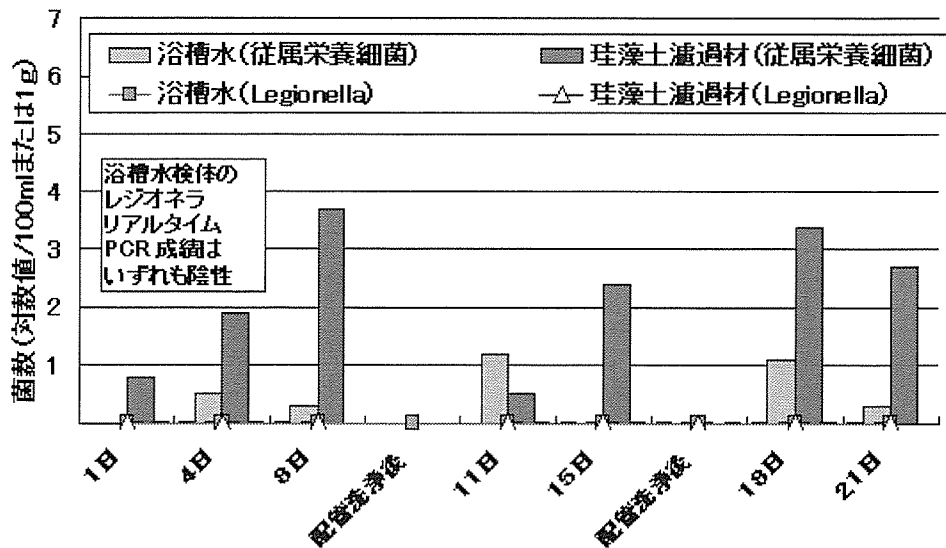


図3. 珪藻土の張替えと塩素管理併用運転時の微生物の推移

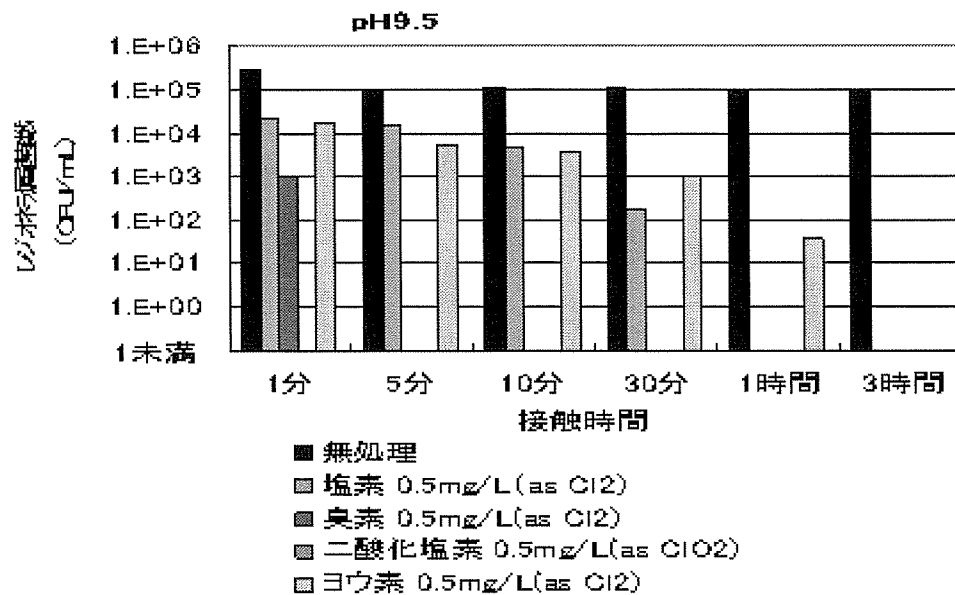


図4. 高 pH 下における各種消毒剤の殺菌効果

表1 公衆浴場での入浴に伴うクロロホルムの経気道曝露量評価

採取年月	公衆浴場施設	CHCl ₃ 濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	経気道曝露量 ^{*1} ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	TDI 占有率 (%)
2006.10	KNGW-1	23.6	0.1	1.1
	KNGW-2	78.1	0.5	3.8
	KNGW-3	274.4	1.7	13.3
	KNGW-4	47.0	0.3	2.3
	KNGW-5	46.7	0.3	2.3
	KNGW-6	46.7	0.3	2.3
2007.2	KNGW-1	23.9	0.1	1.2
	KNGW-2	154.3	1.0	7.5
	KNGW-3	475.1	3.0	23.0
	KNGW-4	79.5	0.5	3.8
	KNGW-5	71.2	0.4	3.4
	KNGW-6	53.8	0.3	2.6

*1 浴室在室時間 30 分、体重 50 kg の成人の 1 日あたりの呼吸量を 15 m³ と仮定して計算した値

図5 冷却塔水検体当たりのレジオネラ属菌の陽性率

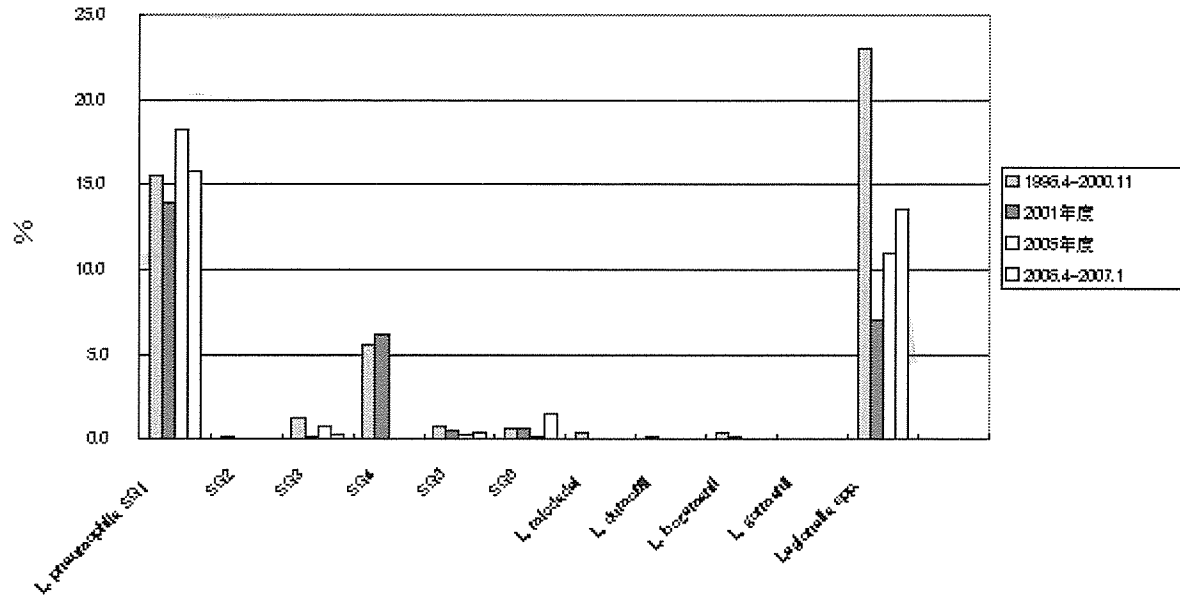


表2 浴槽水由来抗酸菌の同定試験結果

菌株 No.	発育 速度	集落性状		同定結果		
		型	色	生化学的検査法	DDH*法	シーケンス法
K-64	Rapid	Rough	クリーム色	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. fortuitum</i>
K-65	Slow	Smooth	灰白色	MAC**	<i>M. avium</i>	<i>M. avium</i>
K-66	Slow	Smooth	灰白色	MAC**	<i>M. avium</i>	<i>M. avium</i>
K-67	Slow	Smooth	灰白色	MAC**	<i>M. avium</i>	<i>M. avium</i>
K-68	Slow	Smooth	灰白色	MAC**	<i>M. avium</i>	<i>M. avium</i>

*DDH: DNA-DNA Hybridization法キット (極東製薬工業) による同定結果

MAC**: *M. avium*-*M. intracellulare* complex

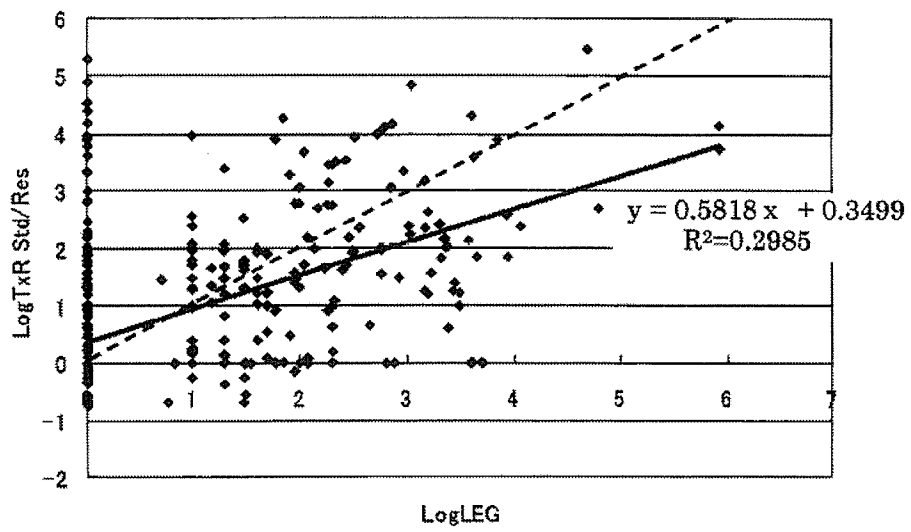


図6. リアルタイムPCR方と培養法の検出結果

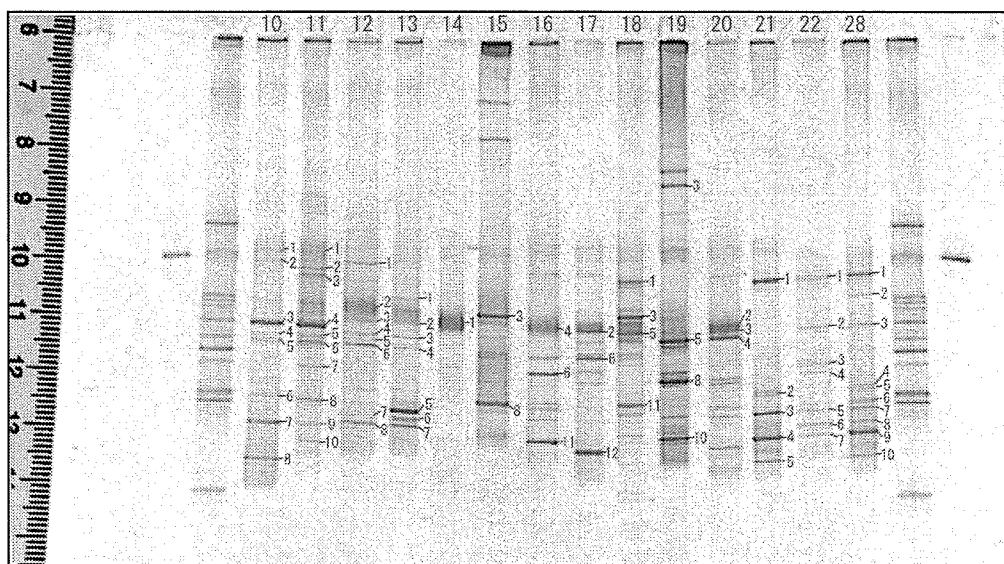


図7 DGGE 法による電気泳動像 (循環式浴槽水等の試料)

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（地球健康危機管理研究事業）
分担研究報告書

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

循環式浴槽水における濁度と過マンガン酸カリウム消費量の推移について

— 理論的考察 —

主任研究者	遠藤卓郎	国立感染症研究所 寄生動物部
分担研究者	泉山信司	国立感染症研究所 寄生動物部
	縣邦雄	アクアス(株) つくば総合研究所

研究要旨： 浴槽水の水質基準では有機物汚染として過マンガン酸カリウム消費量が 25mg/L 以下、濁度は 5 度以下と規定されている。溢水と浴用水の供給が実施されている循環式浴槽システムにおいては、過マンガン酸カリウム消費量は基準値以内（10mg/L 程度）に制御されることを示した。これにより、「過マンガン酸カリウム消費量の管理に向けては生物浄化が必須」とのこれまでの考えは否定された。生物浄化を目的としたろ過装置は単にレジオネラ発生を助長するものに過ぎないと結論される。

一方、循環式装置には濁質除去のためのろ過装置が必要であるが、計算によれば必ずしも高い除去能力を必要としないことが示された。また、限られたろ過回数により基準値を満たす制御が可能であることも示された。一方、現行では 1 時間に 2 回程度と高頻度の処理が勧奨されているが、当該研究成果を参照してろ過性能およびそのろ過回数について再検討が必要と考える。過剰なろ過循環はろ材からの捕捉粒子漏出の原因となる危険が指摘される。

A 研究目的

浴槽水の連続使用に際しては入浴者が持ち込む濁質、有機物（過マンガン酸カリウム消費量）の適正管理と病原微生物汚染対策が求められる。そこで、循環式浴槽に関してはろ過装置と消毒装置（塩素剤注入装置など）の設置と、溢水および定期的な換水・洗浄が指導されている。これまで、入浴者の持ち込む有機物対策としてシステム内に形成されるバイオフィルムの浄化作用が効果的とされ、いわゆる生物浄化の必要性が論じられてきた。しかしながら、バイオフィルムを構成する微生物の質的な制御は不可能で、レジオ

ネラ等の病原微生物の発生は免れない。そこで、当該研究では入浴者の持ち込む濁質と有機物量（過マンガン酸カリウム消費量）について検討した。循環式浴槽では溢水が勧奨されていることを前提として、濁度や有機物と溢水量との関係を計算した。

B 研究方法

循環式浴槽では溢水とそれに見合う浴槽水の補給が勧奨されている。この処理により入浴者が持ち込む濁質や有機物（過マンガン酸カリウム消費量）は適宜希釈される。そこで、

1. 浴槽は常に満水で、
2. 入浴によりその人の体積（≒体重）に相当する浴槽水が溢れ、
3. 浴槽から出ると溢水分が補給される
4. 入浴者 1 人当たりの持ち込む濁質はカオリン 0.1~0.5g に相当する
5. 入浴者 1 人当たりの持ち込む有機物は過マンガン酸カリウム消費量としておよそ 0.5g

として、入浴者数と濁度、ならびに過マンガン酸カリウム消費量を計算から求めた。あわせて、濁度管理に向けたろ過の必要回数等について検討した。計算は Excel (Microsoft) のプログラミング機能 (Visual Basic for Application) を使用した。

$$\omega = m \times N \times \frac{V}{Wi} \left(1 - e^{-\frac{Wi}{V} \times t} \right) \div V \quad \dots\dots\dots (1)$$

ここでは、

- ω : 浴槽水の濁質量 (KMnO₄ 消費量)
 - m : 入浴者の持ち込む濁質量 (KMnO₄ 消費量) (g / 人)
 - N : 入浴者数
 - O : 入浴者一人当たりの給湯量
 - V : 浴槽容量
 - Wi : 給湯量 (=N×O)
 - t : 入浴からの時間(日)
- と定義する。

ちなみに、(1)式は、入浴時にある濁度(a)の浴槽水が溢水し(c)、そこに入浴者が持ち込む濁質(d)が加わり、浴槽から入浴者が出た際には溢水と同量の新鮮な湯水が供給されるものとし、

$$T = \frac{a \times (B - c) + d}{B} \quad \dots\dots\dots (1')$$

ここでは、

- T: 入浴後の濁度
 - a: 入浴前の浴槽水濁度
 - B: 浴槽水量(L)
 - c: 入浴者一人当たりの溢水量(補給水量)
 - d: 入浴者 1 人当たりの濁質持ち込み量
- と定義する。

C 研究結果および考察

1. 利用者数と濁度との相関

現行の浴槽水水質基準では原水の濁度は 5 度 (カオリンに換算して 5mg/L) と規定されている (原水で 2 mg/L 以下、浴槽水で 5mg/L 以下)。通常、入浴者一人当たり 0.1 ~ 0.5g 程度持ち込まれるとされる。これを 10m³ 程度の浴槽にあてはめると単純計算で 240~500 人の入浴で水質基準の上限に達する。循環式浴槽が上述した条件で溢水管理が励行された際の浴槽水の濁度は (1) 式 (空気・調和衛生工学便覧、pp510-516) で得られる。

これを入浴者の数だけ繰り返して得られる曲線の式である。また、以下に示した (1') 式が利用者個人を単位とした基本式である。いずれの式を用いても同じ茎状のグラフが得られる。

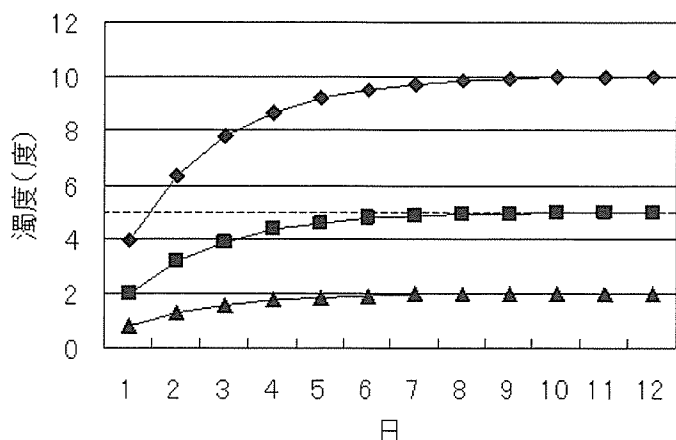


図1 循環式浴槽における濁質の持ち込み量と浴槽水濁度：10 m³の浴槽水に毎日100人が利用した場合の計算結果を示した。管理条件として、浴槽は常に満水に維持され、入浴者が入るたびに浴槽水が溢れ(50L/人)、入浴後に溢水分が補給されるものとした。入浴者1人当たりの有機物持ち込み量を0.1(▲)、0.25(■)、0.5g(◆)に設定。浴槽水の濁度はそれぞれ、2、5、10度に収斂する。

入浴者の平均体重を50kgに仮定、従って溢水量およびそれに見合う給湯量は50Lと仮定し、濁質の持ち込み量を0.1~0.5gとした場合、(1)式を用いて計算される濁度の継時変化を図1に示した。図から明らかなように、持ち込まれる濁質の量に応じて一定の値(2~10度)に収束することがわかる。(1)

式において時間を無限大[t → ∞]に取ると式は[ω → m/O]に収束し、浴槽水の濁度は持ち込まれる濁質量[m]を利用者あたりの給湯量[O]で除した値となる。したがって、(2)式で明らかなように、入浴者数や浴槽水量などの要素は捨象される。

$$\omega = m \times N \times \frac{V}{N \times O} \left(1 - e^{-\frac{m_i \times t}{V}} \right) \div V = \frac{m}{O} \left(1 - e^{-\frac{m_i \times t}{V}} \right) \Rightarrow \frac{m}{O} \dots \dots \dots (2)$$

上式から明らかなように、入浴者一人の持ち込む濁質量が0.25g以下であれば濁度は基準値の5度を超えることはない。一方、持ち込み量が0.5g/人となると2日以内、50人の場合でも3日以内に基準値を超える計算となる。逆に、7日間の連続使用(1週間ごとの完全換水、ろ過無し)で基準値を超えないように管理するためには、毎日の入浴者を20

人に限定することも考えられるが、実際的ではない。従って、循環式浴槽システムにおいては濁質除去を目的としたろ過装置の設置が必須となる。

次に、1回のろ過で40%程度の濁質除去が可能なるろ過装置(中村ら)を想定し、一日に1~8回(水泳プールでの勧奨)程度のろ過を想定して浴槽水の濁度を計算した。

$$C = a(1-b)^N \dots \dots \dots (3)$$

ここでは、C: 濁度、a: ろ過前の濁度、b: 1回のろ過による除去率(40%)、N: ろ過回数と定義する。

ろ過による濁度の変化は(1')を用いて計算した。便宜上、1日分(100人)の汚れが溜まった時点でろ過が行なわれるものとし

て、簡単な自作プログラムにより計算し、図2を得た。

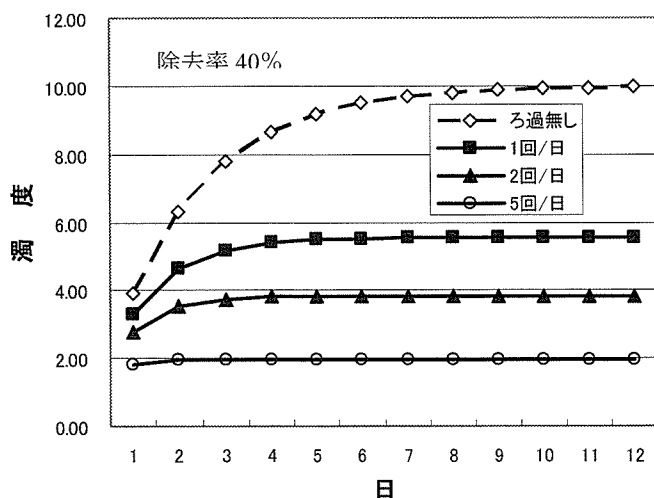


図2 ろ過回数と濁度の関係

ろ過無しでは濁度が10に達する浴槽の使用状況において、40%程度のろ過効率を持つろ過装置を想定し、ろ過回数による濁度の継時変化を計算した。1日に1回程度のろ過回数により、基準値以下に制御される。

例えば、 10m^3 の浴槽に100人が入浴した場合の濁度はおよそ3.9と計算される。ろ過を行わないまま、2日間連用すると濁度は基準値を超えて6.3に達する。この濁度の浴槽水を1日に1回ろ過することで濁度は4.6、2回のろ過で3.5にまで低下する。ところで、浴槽に関しては1時間に2回程度のろ過が推奨されているが、過剰なろ過はろ材からの捕捉粒子の漏出を招く懸念がある。

ちなみに、当該研究事業では循環装置の簡素化によるバイオフィーム対策、ならびに珪藻土ろ過を用いた管理方法について別途検討している。その中で、「珪藻土ろ過と塩素管理の併用による循環浴槽水の微生物汚染制御」に関する研究では砂ろ過に替えて珪藻土ろ過を導入し、塩素管理のもとで長期間(3週間)、レジオネラの発生を抑えた浴槽水管理に成功している。

2. 実測の入浴者数を用いた濁度の推定

試みとして、他の研究者による報告(小川等、2007)に記載された浴槽水の使用状況をもとに、毎日の入浴者数とその際の浴槽補給量を参照資料として用い(表1)、浴槽水の

濁度を推定した。報告書では特定の浴槽への入浴者数が記載されていないため、施設内のすべての浴槽を合わせて1つの浴槽(53.5m^3)とみなした。計算方法は(1')式を用いた。本来、ろ過による濁質除去は連続的に行われるものであるが、計算の都合上、ここではある数の入浴者が入った時点、すなわち入浴者の汚染が蓄積された時点でろ過が行われるものとした。計算のフローは図3に示した。具体的には、一日の入浴者をもとに、1回のろ過ごとに乱数を発生させて入浴者の偏りを発生させた。また、各入浴者の持ち込む汚染量は正規乱数(標準偏差1)を発生させ、ろ過ごとの汚染量を算出し、(1')式に代入した。一人当たりの溢水量(それに見合う補給量)は浴槽への補給量を入浴者数で除した値とした。また、各ろ過当りの総溢水量が浴槽水量を超える場合、浴槽水の濁度は汚染量を溢水量で除した値に収束するものとした(図1参照)。ろ過による濁質の除去は(3)式を用い、繰り返し計算した。図4に示すように、繰り返し計算は100回と10回とで結果にほとんど差がないことから、以後は10回の繰り返し計算に留めた。