

y80h8-1-421pseu : ... 477
y41h9-3-252pseu : ... 480
eh11 : ... 477
eh21 : ... 477
eh31 : ... 477
y100h5-3-253 : ... 455
eh14 : ... 477
eh34-2 : ... 477
y74h6-3-423 : ... 472
y136hst-6-13 : ... 471
y22h6-2-252hydr : ... 476
y105h5-2-254hyd : ... 476
y133hst-5-13hyd : ... 476
eh34-1hydrogeno : ... 476
eh43hydrogenoph : ... 476
yo117hydrogenop : ... 476
y98h5-3-422tep : ... 476
y111h6-3-255tep : ... 476
y112h6-3-256tep : ... 476
y114h6-3-425tep : ... 476
yo1j3tepidimona : ... 476
yo118tepidimona : ... 476
yo5114tepidimon : ... 476
ka21tepidicella : ... 466
ka23tepidicella : ... 466
ka24tepidicella : ... 476
ka31tepidicella : ... 476
ka32tepidicella : ... 476
ka43tepidicella : ... 476
y48h1-1-1-422sc : ... 465
y78h7-1-423schl : ... 476
y118h7-1-254sch : ... 476
yo453schlegella : ... 476
yo552schlegella : ... 476
y51h2-0-422cald : ... 476
y57h2-1-424cald : ... 476
y130hst-3-12cal : ... 476
y131hst-4-12cal : ... 468
y67h4-1-421cald : ... 476
y59h3-0-422cald : ... 476
yold5caldimonas : ... 476
y12h3-1-252cald : ... 476
y17h4-1-253cald : ... 476
y31h7-1-252cald : ... 476
y64h3-1-422cald : ... 476
y113h6-3-257cal : ... 476
y121h9-3-253cal : ... 476
yo551caldimonas : ... 476
y79h7-1-424cald : ... 476
yo115caldimonas : ... 476
y7h2-1-252caldi : ... 476
eh33-1 : ... 476
eh42 : ... 476
y23h6-2-254pelo : ... 476
y24h6-2-253pelo : ... 476
y35h8-1-253pelo : ... 476
y83h8-2-423pelo : ... 476
y125h9-3-425pel : ... 476
y127h9-4-422pel : ... 476
y128h9-4-423pel : ... 476
y132hst-5-11pel : ... 476
y134hst-6-11pel : ... 476
y42h9-3-254pelo : ... 476
y103h5-2-252pse : ... 476
y20h5-3-255pelo : ... 476
yo251 : ... 478
yo252 : ... 478
y9h3-0-252methy : ... 477
y15h4-0-252meth : ... 477
eh12thiobacillu : ... 477
eh32thiobacillu : ... 477
ka25hydrogenoph : ... 477
y73h6-3-422 : ... 477
y106h4-1-252sil : ... 477
y109h6-3-253sil : ... 477
y117h7-1-253sil : ... 477
yo1j4silanimona : ... 477
y71h5-3-423sila : ... 477
y44h1-0-422 : ... 477
y45h1-0-423 : ... 477
y53h2-0-424 : ... 477
y54h2-1-421 : ... 477
y68h4-1-422 : ... 477
y70h4-1-424 : ... 477
y75h6-3-424 : ... 477
y66h3-1-424 : ... 477
y77h7-1-422 : ... 477
yold6 : ... 477
y69h4-1-423 : ... 477
y47h1-1-1-421 : ... 472
yoid7 : ... 478
yoidj1 : ... 477
yo3i4 : ... 477
yo5204 : ... 477
yo232 : ... 477
yo5203 : ... 476

```

*          500          *          520
yold3      : CAGCGGCAAGATGTTTCAT : 502
yo212      : CAGCGGCAAGATGTTTCAT : 502
yo5172     : CAGCGGCAAGATGTTTCAT : 502
yold2      : CAGCGGCAAGATGTTTCAT : 502
yo5202     : CAGCGGCAAGATGTTTCAT : 502
y107h6-2-255 : GAGTGGTAAAGATGATATC : 509
yo111      : GAGTGGTAAAGATGATATC : 509
yo112      : GAGTGGTAAAGATGATATC : 509
yo5112     : GAG-GGTAAAGATGATATC : 507
ka41       : ----- : -
yo5111     : CAGAGTCCAAAGATGTTTCAT : 502
yold8      : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 498
yold9thermus : GGGGGCGGAAAGATGTTTCAT : 496
y27h7-0-252noca : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 493
y108h6-3-252noc : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 493
y93hst-7-03lute : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 485
y32h7-0-254micr : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 493
y95hst-7-05micr : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 493
y94hst-7-04micr : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 484
y115h7-0-255micr : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 487
y33h8-1-251 : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 493
y38h9-2-251micr : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 483
y10h3-0-253diet : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 483
y18h5-3-251myco : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 493
y13h3-3-252sph : TGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y30h7-1-251ka1s : TGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 473
y82h8-2-422sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 467
y110h6-3-254sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y123h9-3-423sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y126h9-3-421sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
yo113sphingomon : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
yo3ha2sphingomo : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
yo5113sphingomo : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y40h9-3-251sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y120h9-2-253sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 476
y36h8-1-254sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 469
y43h1-0-421sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 475
y61h3-0-424sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y1h1-0-251sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y2h1-0-252sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y4h2-0-251sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y6h2-1-251sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y8h3-0-251sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y11h3-1-251sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y14h4-0-251sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 475
y16h4-1-251sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y49h1-1-1-423sp : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y55h2-1-422sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y58h3-0-421sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y60h3-0-423sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y63h3-1-421sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y88hst-2-11sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y90hst-3-11sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y91hst-4-11sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y86hst-1-01sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 464
y50h2-0-421sph : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 483
y52h2-0-423porp : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y56h2-1-423porp : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y62h3-0-425 : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y72h6-3-421 : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y76h7-1-421porp : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 476
y119h8-1-422por : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 476
yo114porphyroba : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y84h9-3-421 : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 481
y25h6-3-251porp : GGGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
y3h1-0-253caulo : GGTGACGCAAGATGTTTCAT : 485
y89hst-2-12caul : GGTGACGCAAGATGTTTCAT : 467
y5h2-0-252caulo : GGTGACGCAAGATGTTTCAT : 485
y87hst-1-02caul : GGTGACGCAAGATGTTTCAT : 479
y104h5-2-253agr : GGTGACGCAAGATGTTTCAT : 485
y137hst-6-14pan : GGTGACGCAAGATGTTTCAT : 485
y34h8-1-252 : CCGTGTGGCAAGATGTTTCAT : 486
y39h9-2-252 : CCGTGTGGCAAGATGTTTCAT : 486
y122h9-3-422 : CCGTGTGGCAAGATGTTTCAT : 486
y81h8-2-421 : CCGTGTGGCAAGATGTTTCAT : 485
y65h3-1-423 : CAGTGTGTAAGATGTTTCAT : 478
yo241      : CCGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 486
yo1d4      : CTGTACCGTAAGATGTTTCAT : 487
yo5173     : CTGTACCGTAAGATGTTTCAT : 487
ka14       : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 488
ka15       : CCGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 488
kalllactococcus : T-GTATGCCAAGATGTTTCAT : 511
ka12lactococcus : T-GTATGCCAAGATGTTTCAT : 511
y26h7-0-251baci : TAGTGTGTAAGATGTTTCAT : 497
y96hst-8-02baci : TAGTGTGTAAGATGTTTCAT : 513
y28h7-0-253stap : TAGTGTGTAAGATGTTTCAT : 512
ka13       : CAGTGCAGCAAGATGTTTCAT : 513
yo211      : CCGTGTGGCAAGATGTTTCAT : 508
yo5171     : CCGTGTGGCAAGATGTTTCAT : 508
yo5201     : CCGTGTGGCAAGATGTTTCAT : 508
y92hst-5-12pseu : -AGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 510
y124h9-3-424pse : -AGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 511
y135hst-6-12pse : -AGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 511
y139hst-9-22pse : -AGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 511
y97hst-8-03pseu : -AGTGGGCGCAAGATGTTTCAT : 511

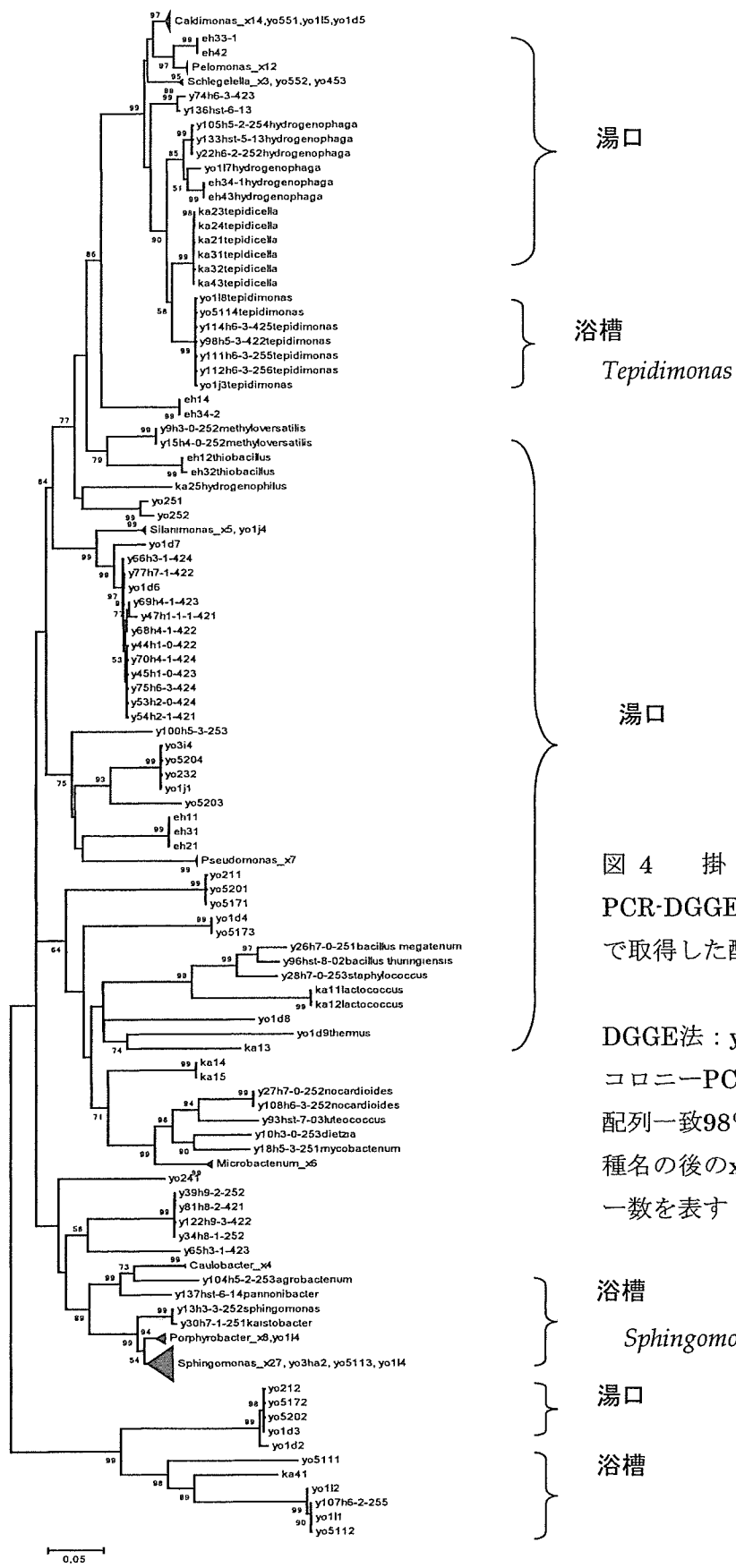
```

```

y80h8-1-421pseu : -AGTGGGCA A T T C G A G : 511
y41h9-3-252pseu : -AGTGGGCA A T T C G A G : 514
eh11 : CAGTGAGCCA T A T T T G A G : 512
eh21 : CAGTGAGCCA T A T T T G A G : 512
eh31 : CAGTGAGCCA T A T T T G A G : 511
y100h5-3-253 : ----- : -
eh14 : AGTAACGAA G G G C G A G : 511
eh34-2 : AGTAACGAA C G G C G A G : 511
y74h6-3-423 : AGTAACGAA G G C A G T G A G : 504
y136hst-6-13 : AGTAACGAA G G G T T G A G : 505
y22h6-2-252hydr : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y105h5-2-254hyd : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y133hst-5-13hyd : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
eh34-1hydrogeno : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
eh43hydrogenoph : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
yoll7hydrogenop : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y98h5-3-422tepi : AGTAACGAA G G G C G A G : 510
y111h6-3-255tep : AGTAACGAA G G G C G A G : 510
y112h6-3-256tep : AGTAACGAA G G G C G A G : 510
y114h6-3-425tep : AGTAACGAA G G G C G A G : 510
yolj3tepidimona : AGTAACGAA G G G C G A G : 510
yol18tepidimona : AGTAACGAA G G G C G A G : 510
yo5114tepidimon : AGTAACGAA G G G C G A G : 510
ka21tepidicella : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
ka23tepidicella : AGTAACGAA G G G T G A G : 500
ka24tepidicella : AGTAACGAA G G G T G A G : 500
ka31tepidicella : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
ka32tepidicella : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
ka43tepidicella : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y48h1-1-1-422sc : AGTAACGTA G G G G A C G C : 495
y78h7-1-423schl : AGTAACGTA G G G G A C G C : 508
y118h7-1-254sch : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
yo453schlegella : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
yo552schlegella : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y51h2-0-422cald : AGTAACGAA G G G G A C G C : 510
y57h2-1-424cald : AGTAACGAA G G G G A C G C : 506
y130hst-3-12cal : AGTAACGAA G G G G A C G C : 503
y131hst-4-12cal : AGTAACGAA G G G G A C G C : 486
y67h4-1-421cald : AGTAACGAA G G G G A C G C : 500
y59h3-0-422cald : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
yold5caldimonas : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y12h3-1-252cald : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y17h4-1-253cald : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y31h7-1-252cald : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y64h3-1-422cald : AGTAACGAA G G G T G A G : 500
y113h6-3-257cal : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y121h9-3-253cal : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
yo551caldimonas : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y79h7-1-424cald : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
yoll5caldimonas : AGTAACGAA G G G T G A G : 510
y7h2-1-252caldi : AGTAACGAA G G G G A C G C : 493
eh33-1 : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
eh42 : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y23h6-2-254pelo : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y24h6-2-253pelo : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y35h8-1-253pelo : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y83h8-2-423pelo : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y125h9-3-425pel : AGTAACGTA G G G T G A G : 500
y127h9-4-422pel : AGTAACGTA G G G T G A G : 499
y128h9-4-423pel : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y132hst-5-11pel : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y134hst-6-11pel : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y42h9-3-254pelo : AGTAACGTA G G G G A C G C : 503
y103h5-2-252pse : AGTAACGTA G G G T G A G : 510
y20h5-3-255pelo : AGTAACGTA G G G T G A G : 449
yo251 : CCGTAAAGCA G G G G C G A G : 513
yo252 : CCGTAAAGCA G G G G C G A G : 513
y9h3-0-252methy : GAGTACGCCA G G G G C G A G : 512
y15h4-0-252meth : GAGTACGCCA G G G G C G A G : 512
eh12thiobacillu : TAGTAACGAA G G G T G A G : 512
eh32thiobacillu : TAGTAACGAA G G G T G A G : 512
ka25hydrogenoph : GAGTGGCGAA G G G G A C C G : 512
y73h6-3-422 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y106h4-1-252sil : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y109h6-3-253sil : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y117h7-1-253sil : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 502
yolj4silanimona : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y71h5-3-423sila : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 500
y44h1-0-422 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y45h1-0-423 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y53h2-0-424 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y54h2-1-421 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y68h4-1-422 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 502
y70h4-1-424 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y75h6-3-424 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y66h3-1-424 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 497
y77h7-1-422 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
yold6 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 512
y69h4-1-423 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 505
y47h1-1-1-421 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 500
yold7 : CAGTATCGAA G G G T T C G G : 513
yo1j1 : TAGTGGGCA G G G G A T T C T G : 512
yo3i4 : TAGTGGGCA G G G G A T T C T G : 512
yo5204 : TAGTGGGCA G G G G A T T C T G : 512
yo232 : TAGTGGGCA G G G G A T T C T G : 512
yo5203 : CAGTGAGCCA G G G G A T T C T G : 511

```

図 3 当該研究で取得した配列のアライメント



湯口

浴槽

Tepidimonas

湯口

浴槽

Sphingomonas

湯口

浴槽

図4 掛け流し式浴槽よりPCR-DGGE法並びにコロニーPCR法で取得した配列で構築した系統樹

DGGE法 : yo~

コロニーPCR法 : y~

配列一致98%を基準に種名を併記

種名の後のx数字は取得配列のコロニー数を表す

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
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 18 年度分担研究報告

紫外線殺菌装置の有効性評価

分担研究者	遠藤卓郎	国立感染症研究所 寄生動物部
	大谷勝実	山形県衛生研究所
	黒木俊郎	神奈川県衛生研究所
	杉山寛治	静岡県環境衛生科学研究所
	山崎和生	株式会社西原衛生工業所
	縣 邦雄	アクアス株式会社つくば総合研究所
研究協力者	八木田健司	国立感染症研究所 寄生動物部
	山口誠一	山形県村山保健所
	藪崎裕昭	アクアス株式会社つくば総合研究所

研究概要

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に、実際の施設を使用して試験を行なった。掛け流し温泉施設、3箇所の供給湯配管に流水式紫外線殺菌装置を設置して、浴槽水のレジオネラ属菌、一般細菌数、従属栄養細菌数の挙動を調査した。

貯湯槽(源泉タンク)の湯温の低い施設では、供給湯中のレジオネラ属菌数が $10^2 \sim 10^3$ CFU/100mL 検出されたが、紫外線処理により不検出(10CFU/100mL未満)から20CFU/100mLに低減され、紫外線殺菌装置の効果が確認された。3施設とも、供給湯中のレジオネラ属菌が不検出であっても浴槽水からレジオネラ属菌が検出された。浴槽水中の菌数のレベルや、清掃後定着までの期間は浴槽によって異なり、清掃翌日の朝から20 CFU/100mL 検出され、同日夜は100 CFU/100mLとなる場合、清掃翌日の朝から100~110 CFU/100mL 検出される場合、清掃後4日間不検出を維持できる場合などがあった。

湯口水のレジオネラ属菌が不検出で、浴槽水からレジオネラ属菌が検出される原因は浴槽内壁(及び隙間部分)のバイオフィルムの清掃除去不十分が考えられた。浴槽によっては隙間の存在や材質の問題から、清掃・消毒の徹底が困難な場合があり、個別の浴槽の特性を把握して清掃・消毒のポイントを明確にする必要があることが示された。

また、今回の調査により、塩素殺菌していない掛け流し式浴槽水中の一般細菌数は夕方には 10^5 CFU/mL台、従属栄養細菌数は 10^6 CFU/mL台の菌数がみとめられ、浴槽内で一日のうちに菌数が増加することが示された。

A. はじめに

掛け流し式温泉浴槽では、ろ過器が存在せず、循環系配管も無いことが多いため、バイオフィームが定着する危険性が低く、供給湯中のレジオネラ属菌を不検出した場合、浴槽水中のレジオネラ属菌を不検出に維持し易いと考えられる。供給湯は、湯温が低く（50℃未満）なおかつ塩素剤による消毒をしていない場合はレジオネラ属菌が存在する可能性が高い。供給湯の全量を流水式紫外線殺菌装置で処理することで温泉の泉質を変化させることなく、供給湯中のレジオネラ属菌を不検出にすることが可能であると考えられる。

平成 17 年度の研究では、実際の掛け流し式温泉浴槽 3 箇所について、供給湯を紫外線処理してレジオネラ属菌を不検出した場合の、掛け流し式浴槽水中のレジオネラ属菌の挙動について調査を行った。その結果、湯口水中のレジオネラ属菌数を不検出した場合も浴槽水からレジオネラ属菌が検出される結果となった。平成 18 年度においては、平成 17 年度に調査した 3 箇所の掛け流し式温泉浴槽について引き続き、浴槽水中のレジオネラ属菌の挙動について調査を行い、紫外線による供給湯の殺菌による浴槽水中のレジオネラ属菌抑制効果を評価した。

B. 研究方法

A 施設、B 施設、C 施設の 3 箇所の掛け流し式温泉施設において、供給湯の配管の途中（源泉貯槽と湯口の間）に流水式紫外線殺菌装置を設置して、供給湯を殺菌処理する。浴槽水中のレジオネラ属菌数の挙動を調査し、供給湯中のレジオネラ属菌数を不検出した場合の浴槽水中レジオネラ属菌数抑制効果を評価した。

(1) 試験箇所の概要

	A 施設	B 施設	C 施設
浴槽容量 (m ³)	1 1	1 3	7
浴槽の種類	屋内	露天	屋内
浴槽の材質	木の板 (1 5 c m 角) を貼り付け	壁面は岩、底面は平らな石	平滑な石
供給湯量 (m ³ /h)	1. 5	2. 5 (1 0 *)	3
浴槽滞留時間 (h)	7. 3	5. 2	2. 3
補給湯温度 (°C)	5 1 ~ 5 7	5 7	4 7 ~ 5 3
紫外線照射線量 (m J / c m ²)	6 0	4 0 (1 0 *)	3 5
紫外線装置設置	2005 年 8 月	2005 年 12 月	2006 年 2 月
清掃方法、頻度	毎日営業終了後、水抜き、ジェット洗浄、1000ppm の塩素水散布。月 2 回程度の休業日は 50ppm の塩素 4 時間漬け置き実施。	数日から 1 週間に一度 (不定期)、水抜きし、ジェット洗浄、その後殺菌剤を散布。 *湯張り時の流量と照射線量	毎日営業終了後、水抜きし、ジェット洗浄、その後 6% 塩素水散布。貯湯槽は毎月洗浄、配管は半年に一度酸洗浄。

(2) 紫外線殺菌装置仕様

メーカー名：岩崎電気株式会社

型式：流水殺菌装置（参考図面を添付）

処理槽：SOS304、バフ研磨仕上げ

紫外線ランプ：A施設は65W（高温用）、BとC施設は120W（いずれも100V）

照射線量と通水量：水温50℃において、33.3mJ/cm²の照射線量となる通水量

65Wタイプ：2.8t/h、120Wタイプ：3.2t/h

C. 結果と考察

1. A施設

(1) 試験条件

	紫外線処理浴槽	対照浴槽
浴槽の種類	屋内大浴槽（浴室は別々）	
浴槽容量（m ³ ）	11	11
浴槽の材質	木の板（15cm角）を貼り合わせた。目地部は欠損して隙間が多い状態。	石を平らに磨いたもの、浴槽内部に隙間などはほとんど無し。
供給湯量（m ³ /h）	1.5	1.5
紫外線照射線量（mJ/cm ² ）	60	紫外線照射無し
浴槽滞留時間（h）	7.3	
補給湯温度（℃）	57	
清掃方法、頻度	毎日営業終了後、水抜きしジェット洗浄、その後1000ppmの塩素水を散布。翌朝にかけて湯張りを行う。月2回程度の休業日は浴槽自体を50ppmの残留塩素濃度で4時間漬け置き実施。	

(2) 調査日程

年 月/日	内容
2006年 9/25	20時まで、通常通り営業
2006年 9/25	20時以降、浴槽のブラシ洗浄、殺菌洗浄実施 洗浄前/後で浴槽壁面の細菌数検査用試料採取
2006年 9/26	休業日、高濃度塩素100ppmで3時間漬け置き殺菌処理 洗浄後に浴槽壁面の細菌数検査用試料採取 紫外線ランプの石英保護管の点検・洗浄 浴槽洗浄後、湯張り開始
2006年 9/27	朝から通常通り営業、朝（8:00）、夕方（19:40）採水 営業終了後、清掃・湯張り
2006年 9/28	朝から通常通り営業、朝（8:00）、夕方（19:35）採水 営業終了後、清掃・湯張り
2006年 9/29	朝から通常通り営業、朝（8:00）、夕方（19:40）採水

(3) 細菌数測定結果

A施設(調査日 2006年9月25日から29日)

① 浴槽水中のレジオネラ属菌数 (CFU/mL)

採水日時	紫外線処理浴槽	無処理浴槽
9月25日 20:00	560	40
9月25日 20:00以後	浴槽水のブラシ及び殺菌洗浄を実施	
9月26日	高濃度塩素100ppm×3時間による漬け置き殺菌処理	
9月27日 8:00	20	<10
9月27日 19:40	100	<10
9月28日 7:40	640	50
9月28日 19:35	2200	<10
9月29日 8:00	980	<10
9月29日 19:40	3100	70

② ふき取り検査時の細菌数 (CFU/mL)

月日	条件	紫外線処理浴槽			無処理浴槽		
		レジオネラ	一般細菌	HPC	レジオネラ	一般細菌	HPC
9月25日	洗浄前	1500	1100000	2400000	10	220000	390000
9月25日	洗浄後	20	96	190	<10	30	14
9月26日	洗浄後	<10	25	11	<10	19	6

ふき取りは、浴槽壁面（目地欠損部の内部含む）約100cm²について行なった。

(4) A施設の調査結果まとめと考察

- ・紫外線処理浴槽のレジオネラ属菌数は、殺菌洗浄前で560 CFU/100mLであり、高濃度塩素による殺菌洗浄を行った後、翌日の9月27日朝から20 CFU/100mL検出され、同日夜は100 CFU/100mLとなった。
- ・2日目の28日朝は、640 CFU/100mL、夜は2200 CFU/100mLとなり、3日目の29日朝は、980 CFU/100mL、夜は3100 CFU/100mLとなった。
- ・湯口のレジオネラ属菌数は不検出であるので、紫外線処理浴槽水のレジオネラ属菌は、浴槽の内壁（木のタイルの目地の破損部内側）部分のバイオフィームから供給されたものであった。その後の調査により、木のタイルは根太組み構造と呼ばれるすきま部分が存在し、その空間にバイオフィームの定着が確認された。
- ・無処理浴槽水について、湯口のレジオネラ属菌は不検出であるが、浴槽水からは菌数は低いもののレジオネラ属菌が検出された。平滑な表面の石作り浴槽のため、多量のバイオフィームの存在は無いものの、偶発的に浴槽水中にレジオネラ属菌が検出されることに注意が必要である。
- ・ふき取り検査の結果によれば、紫外線処理浴槽のすきま部分からは多くの細菌類が検出されており、徹底した殺菌洗浄により菌数を低減できている。
しかし、ふき取り部よりも更に奥まった箇所のバイオフィーム全体を殺菌できていなかったために、殺菌洗浄の翌日から浴槽水からレジオネラ属菌が検出された。
- ・浴槽水は小さな隙間でも浸透して行き、その中に存在するバイオフィームから

レジオネラ属菌を引っ張り出して浴槽水中に存在させる可能性がある。

掛け流し温泉で供給湯中のレジオネラ属菌を不検出した場合も、浴槽内に隙間や、割れ目の奥のバイオフィルムが存在した場合は、浴槽水からレジオネラ属菌が高い菌数で検出されることになるので注意が必要である。

- ・これに対して、隙間や割れ目が無い場合は、高い菌数はないが、偶発的に100 CFU/100mL以下のレジオネラ属菌が検出される。（この由来は不明である）

2. B施設

(1) 試験条件

	紫外線処理浴槽	対照浴槽
浴槽の種類	男子露天風呂	男子屋内大浴場
浴槽容量 (m ³)	13	40
浴槽の材質	周囲の内壁は岩を組み合わせたもの、底面は平らな石で構成されている。	内壁面をタイルで覆ったもの。
供給湯量 (m ³ /h)	2.5 (10*)	3 (40*)
紫外線照射線量 (mJ/cm ²)	40 (10*)	紫外線照射無し
浴槽滞留時間 (h)	5.2	1.3
補給湯温度 (°C)	57	
清掃方法、頻度	数日から1週間に一度（不定期）、水抜きしジェット洗浄、その後殺菌剤を散布。	
湯張り時	水抜き清掃後の、湯張り時は湯張りの時間を短くするために通常の供給湯配管とは別に大容量の供給湯配管から湯を供給して湯張りする。 カッコ内 *印で示した数字は、湯張り時の供給水量及び紫外線処理系統での照射線量である。	

(2) 試験日程

年 月/日	内容
2006年 5/14	紫外線処理（露天）浴槽の清掃
2006年 5/15	対照（屋内）浴槽の清掃、内湯は清掃前後で採水
2006年 5/16	採水
2006年 5/17	採水
2006年 5/18	紫外線処理（露天）浴槽の清掃
2006年 5/19	対照（屋内）浴槽の清掃、内湯は清掃前後で採水
2006年 5/20	採水
2006年 5/21	採水
2006年 5/22	採水

(3) 細菌数測定結果

表中の細菌数単位：レジオネラは CFU/100mL

一般細菌数、HPC(従属栄養細菌数:42℃)は CFU/mL。

①紫外線処理（露天）浴槽 5月15日から5月22日の採水結果

		レジオネラ		一般細菌数		HPC (42℃)	
月日	条件	湯口水	浴槽水	湯口水	浴槽水	湯口水	浴槽水
5月14日	清掃	-	-	-	-	-	-
5月15日		<10	<10	<1	1500	200	250000
5月16日		<10	<10	<1	15000	<1	340000
5月17日		<10	<10	<1	1600	200	110000
5月18日	清掃	<10	<10	<1	5400	400	130000
5月19日		<10	<10	<1	6200	700	190000
5月20日		<10	10	<1	12000	30	1500000
5月21日		<10	10	<1	4800	40	810000
5月22日		<10	120	<1	4900	40	720000

湯口水は、常時レジオネラ属菌が不検出であるが、浴槽水からは5月18日の清掃後2日目と3日目に10 CFU/100mL、4日目に120 CFU/100mL 検出されている。

一般細菌数は3~4乗、HPCは5~6乗の菌数が検出されている。

レジオネラ属菌は、清掃後次第に定着していくのに対して、一般細菌数、HPCは清掃当日や翌日から高い菌数に達している。

②対照（屋内）浴槽 5月15日から5月22日の採水結果

		レジオネラ		一般細菌数		HPC (42℃)	
月日	条件	湯口水	浴槽水	湯口水	浴槽水	湯口水	浴槽水
5月15日	洗浄前	<10	4800	<1	3100	12000	150000
	洗浄後	-	<10	-	3	-	2
5月16日		<10	<10	<1	250000	8000	480000
5月17日		<10	10	<1	28000	7200	400000
5月18日		<10	40	<1	29000	6900	1200000
5月19日	洗浄前	<10	780	<1	4200	25000	180000
	洗浄後	-	<10	-	<1	-	2
5月20日		<10	<10	<1	160000	680	2000000
5月21日		<10	70	<1	40000	510	2500000
5月22日		<10	290	<1	12000	450	200000

湯口水は、常時レジオネラ属菌が不検出であるが、浴槽水からは、清掃前で4800 CFU/100mL、清掃後2日目で10ないし70 CFU/100mL 検出されている。

清掃後3~4日では780ないし290 CFU/100mLの菌数が検出された。

紫外線処理浴槽との違いは、浴槽の容量や滞留時間、などがあるが対照浴槽のほうが、レジオネラ属菌数の立ち上がりが早くなっている。

一般細菌数、HPC は、紫外線処理浴槽と同様、清掃の翌日から高い菌数に達しており、レジオネラ属菌に比較して菌数の立ち上がりが早くなっている。

(4) B施設の試験結果まとめと考察

- ・本施設においては、湯口水の温度が高いため、紫外線処理、無処理ともに、湯口水からはレジオネラ属菌は検出されなかった。
- ・紫外線（露天）浴槽水は、清掃後数日で数 10 CFU/100mL のレジオネラ属菌が検出、対照（屋内）浴槽水は、清掃後数日で数 100 CFU/100mL のレジオネラ属菌が検出された。
- ・浴槽によって、レジオネラ属菌数の立ち上がりの状況が異なっている。この要因としては、浴槽の容量、滞留時間、入浴者数、清掃のしやすさ、バイオフィルムの残存の程度などが上げられるが、特定には至っていない。
- ・清掃直後は浴槽水中のレジオネラ属菌を不検出にすることが出来た。
- ・一般細菌数、HPC は一日以内に菌数が各 3～4 乗、5～6 乗に増加する。

3. C施設

(1) 試験条件

	紫外線処理浴槽	対照浴槽
浴槽の種類	男子内風呂	女子内風呂
浴槽容量 (m ³)	7	7
浴槽の材質	磨いた石	磨いた石
供給湯量 (m ³ /h)	3	3
紫外線照射線量 (mJ/cm ²)	35	紫外線照射無し
浴槽滞留時間 (h)	2.3	2.3
補給湯温度 (°C)	47	
清掃方法、頻度	毎日営業終了後、水抜きしジェット洗浄、その後 6% 塩素水を散布。 貯湯槽は毎月洗浄、配管は半年に一度酸洗浄を実施。	

(2) 試験日程

年 月 / 日	内容
2006 年 2 / 6	試験前採水(貯湯槽の底部堆積物と温泉水)、紫外装置設置。貯湯槽清掃、温泉供給管を酸洗浄実施。
2006 年 2 / 10	紫外線処理開始
2006 年 2 / 26	採水
2006 年 8 / 27	採水

(3) 細菌数測定結果

① 2月6日採水

貯湯槽の堆積物の上澄み水中のレジオネラ属菌数は、 6.0×10^3 CFU/100mL。

貯湯槽堆積物の成分は、酸化鉄 49%、灼熱減量 31%であり鉄バクテリアを主体とするものと判断された。(他ケイ素 9%、カルシウム 8%)

貯湯槽の水温は 47°C程度であり、レジオネラ属菌が定着しやすい条件である。

② 2月26日採水

朝 8 時、昼 12 時、夜 21 時に採水して細菌類を測定した。

検査項目		レジオネラ属菌数 CFU/100ml	一般細菌数 CFU/ml(37°C)	従属栄養細菌数 CFU/ml(42°C)
UV入口	8時	7.5×10^3	7.3×10^4	7.5×10^5
	12時	8.8×10^3	9.1×10^4	7.5×10^5
	21時	1.4×10^3	5.6×10^4	4.3×10^5
UV出口	8時	3.0×10	2	8.5×10
	12時	1.0×10	8	1.1×10^2
	21時	<10	1.7×10	1.2×10^2
UV吐出湯	8時	1.0×10	2.4×10^2	1.2×10^3
	12時	2.0×10	2.1×10	2.5×10^2
	21時	<10	1.8×10	5.1×10^2
UV浴槽水	8時	1.0×10^2	2.2×10^2	1.0×10^4
	12時	2.8×10^2	9.1×10^3	2.6×10^5
	21時	1.1×10^3	1.6×10^5	9.5×10^5
対照吐出湯	8時	6.5×10^3	2.8×10	3.0×10^3
	12時	8.1×10^3	1	2.7×10^3
	21時	1.3×10^3	6.3×10^3	1.9×10^5
対照浴槽水	8時	4.2×10^3	4.3×10^4	1.0×10^5
	12時	3.8×10^3	4.8×10^3	8.1×10^5
	21時	3.3×10^3	9.7×10^4	2.3×10^6

- ・ UV入口は、ほぼ貯湯槽水の細菌数を示していると考えられる。
- ・ UV浴槽水、対照浴槽水とも、前日営業終了時に全換水し、洗浄を行い、夜間に新湯を張っている。
- ・ UV処理により、吐出湯中のレジオネラ属菌数は対照吐出湯に比較して100分の1以下に低下している。
- ・ UV浴槽水は朝から昼では、対照浴槽水よりもレジオネラ属菌数が少ないが、夜には、UV浴槽水と対照浴槽水の菌数はほぼ同じレベルになっている。これは、朝から昼にかけては湯張り時の菌数の違いがあらわれており、夜にかけて次第に浴槽水が汚染されていることを示している。

③ 8月27日採水

朝10時、昼13時、夕方17時に採水して細菌類を測定した。

検査項目		レジオネラ属菌数 CFU/100ml	一般細菌数 CFU/ml(37°C)	従属栄養細菌数 CFU/ml(42°C)
UV入口	10時	4.2×10^2	1.5×10	3.1×10
	13時	1.1×10^3	4	7.1×10^3
	17時	7.0×10	<1	3.2×10^3
UV出口	10時	<10	<1	1.1×10^2
	13時	1.0×10	4.5×10	2.9×10^2
	17時	2.0×10	1.1×10	7.4×10^2
UV吐出湯	10時	<10	<1	1.6×10^4
	13時	<10	7.0×10^2	9.6×10^3
	17時	<10	2.0×10^2	2.1×10^3
UV浴槽水	10時	1.1×10^2	4.4×10^3	5.4×10^4
	13時	2.2×10^2	1.9×10^5	2.9×10^6
	17時	4.4×10^2	3.7×10^5	1.8×10^6
対照吐出湯	10時	1.1×10^2	1	7.0×10^3
	13時	2.2×10^2	<1	8.0×10^3
	17時	1.9×10^2	<1	1.8×10^4
対照浴槽水	10時	4.4×10^2	1.8×10	1.2×10^3
	13時	3.8×10^2	7.8×10^2	1.2×10^4
	17時	1.8×10^3	1.2×10^6	2.6×10^6
源泉	17時	<10	8.0×10	5.0×10
貯湯槽水	17時	6.7×10^2	1.0×10	7.1×10^5

- ・ UV入口水にレジオネラ属菌が存在しても、UV吐出湯中のレジオネラ属菌を不検出（10CFU/100mL未満）に維持できている。
- ・ UV吐出湯中のレジオネラ属菌が不検出であっても、浴槽水中にレジオネラ属菌が検出された。浴槽の清掃消毒の不十分、日中使用している間の汚染が考えられる。対照浴槽水に比較してUV浴槽水中のレジオネラ属菌数は低めである。

(4) C施設の試験結果まとめと考察

- ・ 本施設では、源泉からはレジオネラ属菌不検出であるが貯湯槽水（源泉タンク）から、レジオネラ属菌が $10^2 \sim 10^3$ CFU/100mL検出される。湯温が47°C程度のため定期的な半年に一度程度の清掃を行なっても、早期に定着している。
- ・ 紫外線装置により浴槽への供給湯を殺菌することで、浴槽への吐出湯のレジオネラ属菌を不検出から20 CFU/100mL程度の低い菌数に維持できている。
- ・ 紫外線処理浴槽水中のレジオネラ属菌数は、対照の無処理浴槽に比較して低い傾向にあるが 10^2 CFU/100mL台のレジオネラ属菌が検出される。
- ・ この要因として、毎日行っている浴槽の全換水・清掃が不十分であること及び入浴者に起因するレジオネラ属菌の存在が考えられる。

- ・本施設では、温泉水中の鉄濃度が高いため紫外線殺菌灯の石英保護管が鉄分によって汚れ、照射線量が低下する。メンテナンスとしては、1週間に一度以上の頻度での洗浄が必要である。

D. 結論

- ・掛け流し式温泉において、貯湯槽(源泉タンク)の湯温が低い(47℃程度)場合は、貯湯槽水中でレジオネラ属菌が増殖し、浴槽に供給される場合がある。
- ・貯湯槽(源泉タンク)の温度が高い場合(55℃以上)は、供給湯中でレジオネラ属菌が増殖し検出されることは無かった。
- ・供給湯から、レジオネラ属菌が検出された場合、紫外線殺菌装置を、供給湯配管に設置することにより、供給湯中のレジオネラ属菌数を無処理の場合の100分の一から不検出に低減・維持することが可能である。
- ・供給湯中(湯口水)のレジオネラ属菌が不検出の場合も、浴槽水中からレジオネラ属菌が検出された。この原因は、主に浴槽の内壁や隙間部分にレジオネラ属菌が定着しているためと考えられ、そこから浴槽水中へレジオネラ属菌が供給されることによる。浴槽の清掃、消毒を徹底することで直後の浴槽水中のレジオネラ属菌を不検出にすることができるが、不検出維持効果の持続期間は浴槽によって異なっている。
- ・A施設の浴槽水では、高濃度塩素洗浄後、翌日の朝から20 CFU/100mL検出され、同日夜は100 CFU/100mLとなった。毎日全換水とジェット洗浄+塩素噴霧を行なって、2日目の朝は、640 CFU/100mL、夜は2200 CFU/100mLとなり、3日目の朝は、980 CFU/100mL、夜は3100 CFU/100mLとなった。
- ・B施設の場合は、清掃後翌日は不検出、2日目と3日目に10 CFU/100mL、4日目に120 CFU/100mL検出されている。
- ・C施設の場合は、2月26日、吐出湯中の菌数が不検出から20 CFU/100mLに対して浴槽水は100から1100 CFU/100mL、8月27日、吐出湯中の菌数が不検出に対して浴槽水は110から440 CFU/100mLであった。
- ・A施設でレジオネラ属菌による汚染の立ち上がり早いのは、浴槽が木のタイル張りであり、破損した目地部や隙間にレジオネラ属菌を含むバイオフィルムが定着しており、洗浄により除去されなかったためと考えられる。
- ・B施設は、石とモルタルで出来た露天風呂であり、清掃による除菌効果は十分であり、毎日全換水では無いため、数日でレジオネラ属菌が定着していった。
- ・C施設は、毎日全換水と清掃を行なっているが、効果が十分ではなく浴槽壁面などにバイオフィルムが残存しそこからレジオネラ属菌が供給されたことが考えられる。また入浴者が多く、入浴者由来のレジオネラ属菌の存在も疑われる。
- ・掛け流し温泉浴槽のレジオネラ属菌対策としては、貯湯槽でレジオネラ属菌が増殖する温泉施設において、湯口の間に紫外線殺菌装置を設置することは有効である。但し、紫外線照射管の汚れが無い様に清掃する必要がある。
- ・供給湯中のレジオネラ属菌が不検出の場合でも、浴槽水中にレジオネラ属菌が検出される場合がある。この対策として、浴槽を毎日徹底して清掃・消毒し、隙

間や接続配管などにバイオフィルムを残存させない管理が必要である。

- ・浴槽の清掃・消毒のしやすさや効果は、浴槽の材質や構造によってまちまちであり、現在浴槽が設置されている場合は、個別に調査検討を行なう必要がある。
- ・新たな浴槽の設計に当たっては、隙間箇所を作らないこと、微生物が浸透しないような材質の採用、出来るだけ平滑な浴槽内壁とすることが重要である。

E. 文献

なし

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
 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
 微生物汚染に影響を及ぼすリスク要因

分担研究者	研究協力者
烏谷 竜哉 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	齋藤志保子 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	山口 誠一 山形県村山保健所
藏元 強 鹿児島県環境保健センター	船渡川圭次 栃木県保健環境センター
縣 邦雄 アクアス(株)つくば総合研究所	藤田 雅弘 群馬県衛生環境研究所
山崎 和生 (株)西原衛生工業所	田口 寛 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
	薮崎 裕昭 アクアス(株)つくば総合研究所

研究要旨

全国の循環系を持たない掛け流し式温泉 200 施設について、病原微生物汚染及び施設状況（泉質、構造設備、衛生管理方法）に関する実態調査を行い、微生物汚染に影響を及ぼすリスク要因を解析した。浴槽水、湯口水、貯湯槽水及び源泉の計 433 件を調査した結果、132 件（30.5%）からレジオネラ属菌が検出された。浴槽での検出率は 40.8%であり、源泉から貯湯槽、配管を経て湯口に至る過程で検出率が 8%から 24%に上昇していることから、まずは配管及び貯湯槽での汚染対策を講じることで清浄な原湯の供給を確保し、その上で浴槽の汚染対策を施すことが重要であると考えられた。抗酸菌の検出率は 2.5%と低値であり、ヒト由来微生物である大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌の浴槽での検出率は 30~40%であった。レジオネラ属菌汚染のリスク因子として、初めて泉質の影響が明らかとなり、アルカリ性単純温泉で最も汚染のリスクが高く、塩化物泉においてもリスクが増加する一方、硫黄泉ではリスクが低下する可能性が示唆された。また、pH 3 未満の酸性泉及び 55℃以上ではほとんど検出されないことが確認された。リスクの高い泉質を利用する施設では貯湯槽や配管において 55℃以上の温度管理を徹底すること、あるいは洗浄消毒の頻度を増やすこと等、

バイオフィームの蓄積を防ぐための一層の注意が必要と考えられた。さらに、浴槽での汚染においては洗浄方法が重要なリスク要因であり、ブラシ主体で洗浄すればリスクは低下し、ブラシを使用しない高圧や消毒ではリスクが高くなることが明らかとなった。可能な限り、ブラシ洗浄および洗浄後の消毒の励行が望まれる。また、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌などのヒト由来微生物については、入浴者数が増えるほど汚染のリスクが増加することを充分理解し、入浴者への衛生教育を含めた対策を講じる必要があると考えられた。

A. 研究目的

循環系を持たない掛け流し式温泉においては、循環式浴槽と比較してレジオネラ属菌等の病原微生物汚染の程度は小さいと考えられてきた。これは、レジオネラ属菌やアメーバ等の病原微生物が、浴用水中の濁質を除去する循環処理装置内部で増殖することが知られており、これらの付帯設備を持たない掛け流し温泉では汚染のリスクが小さいことが期待されるからである。しかし、掛け流し式温泉を対象とした昨年度の調査により、源泉から貯湯槽を経て湯口に至る過程で汚染が増加し、浴槽水では高率にレジオネラ属菌が検出されることが明らかとなった。また、レジオネラ汚染に影響を及ぼす温泉側の要因として温度、pH、泉質が関与することのほか、衛生管理上の要因として浴槽の材質や洗浄方法の違いによって汚染の程度に差が出る可能性を指摘した。

掛け流し式温泉の実態に即した衛生管理手法を確立するうえでは、泉質や施設構造等のハード面に加え、清掃頻度や洗浄方法というソフト面の影響も加味した上で汚染のリスク評価を行うことが重要である。そのためには対象施設数を増やして調査規模を拡大することが必要と考えた。そこで、昨年度に引き続いて掛け流し式温泉の病原微生物汚染及び施設状況（泉質、構造設備、衛生管理方法等）に関する実態調査を行い、微生物汚染に影響を及ぼす要因を解析した。

B. 研究方法

平成 18 年度は全国 13 府県、93 施設の掛け流し式温泉を対象に、構造設備及び衛生管理状況を調査するとともに、浴槽 90 件、湯口 106 件、貯湯槽 8 件、源泉 24 件の計 228 件の温泉水を採取し、微生物

汚染状況を調査した（表 1-1）。調査方法は、平成 17 年度と同様に、本研究班の分担研究者、研究協力者あるいは保健所職員が現地に赴き施設状況を確認するとともに、各サンプリングポイントから温泉水 500ml を 3 本採取して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℃培養）、有機物指標として全有機炭素（TOC）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。

なお、本研究は平成 17 年度からの継続事業であり、年度別に比較、解析する意義は認められない。そこで、施設状況及び微生物汚染状況の解析とともに、平成 17 年度調査 107 施設を含む 200 施設から得た浴槽 206 件、湯口 164 件、貯湯槽 26 件、源泉 37 件の計 433 件の結果を解析することとした（表 1-1 b）。

1. 検査方法

細菌検査は平成 17 年度本研究班作成の「細菌検査マニュアル」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℃～30℃で 1 週間程度培養して得られた分離株を形態観察にて