

図1 I施設のふき取り結果

表1 洗浄前後のレジオネラ菌数及び従属栄養細菌数

施設	微生物	洗浄前	洗浄後(塩素消毒)
I施設	レジオネラ CFU/100ml	140	<10、LAMP(+)
	従属栄養細菌 CFU/ml	890,000	20,000
K施設	レジオネラ CFU/100ml	<10、LAMP(+)	<10、LAMP(-)
T施設	レジオネラ CFU/100ml	1,500	<10
Y施設	レジオネラ CFU/100ml	<10	<10
	従属栄養細菌 CFU/ml	1,100,000	95

【 C 】

1 目的

入浴施設で浴槽水などの微生物学的な安全性を確保するためには、浴槽水や設備（浴槽、貯湯槽など）の微生物汚染を、従来の培養法以上に、迅速でより簡易に定量できる検査法の開発が急務である。そこで我々は、現場の入浴施設の浴槽、貯湯槽などの拭き取り材料を用いて、ATP 測定による微生物汚染の定量を行って、それらの方法の有用性について検討した。

2 調査方法

温泉（ナトリウム - 塩化物泉）の掛け流し方式の入浴施設の浴槽壁（磨いた石）、貯湯槽内面（FRP 製）を、洗浄および殺菌の工程ごとに、綿棒タイプ ATP 測定キットで拭き取り、ATP 値を測定した。ATP 数値と従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数とを比較し、ATP 数値で洗浄、殺菌効果の確認が可能か検討した。

3 結果および考察

浴槽（図 1）、貯湯槽（図 2）の洗浄および殺菌方法を図示した。

浴槽（図 3）、貯湯槽（図 4）の見取り図と拭き取り箇所、および高圧水洗浄で洗浄効果が不十分であ

った部位と写真を図示した。

洗浄および殺菌の工程ごとに、入浴施設の浴槽壁（図 5）、貯湯槽内面（図 6）の綿棒タイプキットによる拭き取りの ATP 測定値を示した。さらに、ATP 値が高かった浴槽（湯口下の目地）の高圧水洗浄後と塩素殺菌・洗浄後のレジオネラ属菌数、従属栄養細菌数と ATP 値の変化を図 7 に示した。同様に、ATP 値が高かった貯湯槽（床排水口周辺）の高圧水洗浄前、後と塩素殺菌・洗浄後の菌数と ATP 値の変化を図 8 に示した。

高圧水による洗浄では、平滑でない目地部分や、洗浄しにくい角や死角になる部分、排水がはけにくい部分の従属栄養細菌、レジオネラの除菌が十分とはいえず、ATP 値も高かった。しかし、0.2%次亜塩素酸ナトリウムの噴霧・散布による消毒、一定時間静置後に、再度、高圧水で洗浄した後は、従属栄養細菌、レジオネラとも殺菌・除菌され、ATP 値も低下した。

浴槽、貯湯槽の洗浄・殺菌効果の確認に、綿棒タイプキットの ATP 測定法が応用でき、衛生管理手法として有用であると思われた。本法は、入浴施設の管理者が日常の衛生管理手法として容易に実施でき、監視業務の現場指導にも活用可能と考えられた。

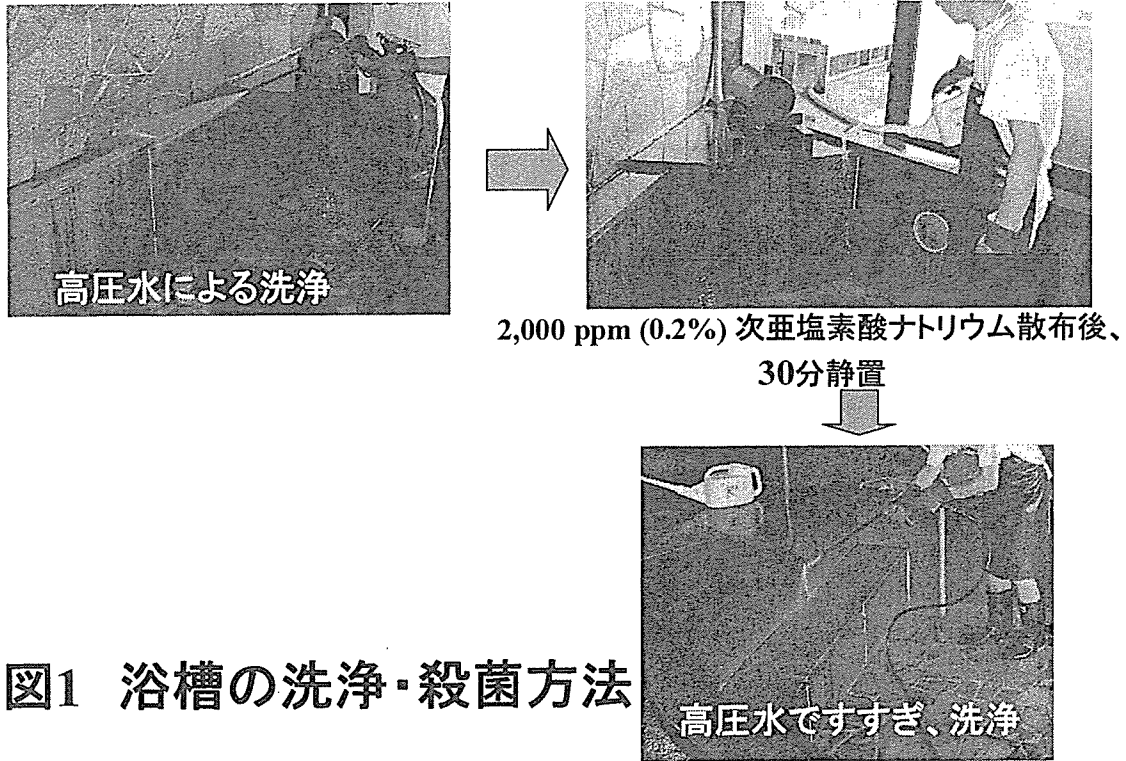


図1 浴槽の洗浄・殺菌方法

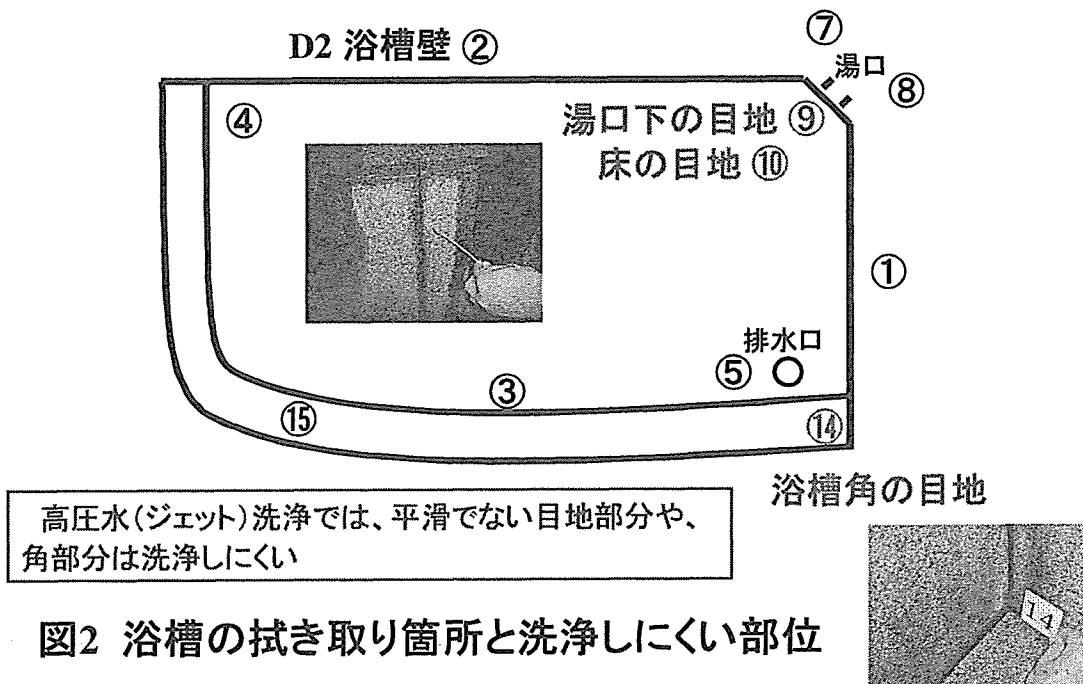


図2 浴槽の拭き取り箇所と洗浄しにくい部位

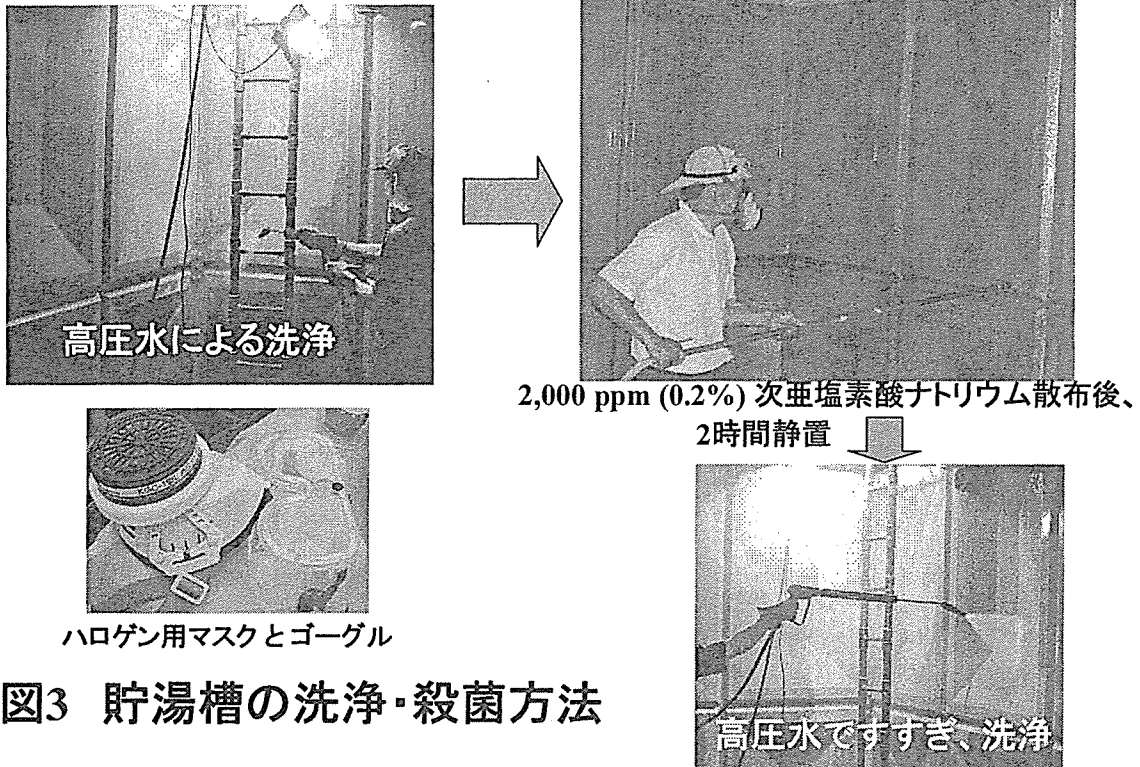


図3 貯湯槽の洗浄・殺菌方法

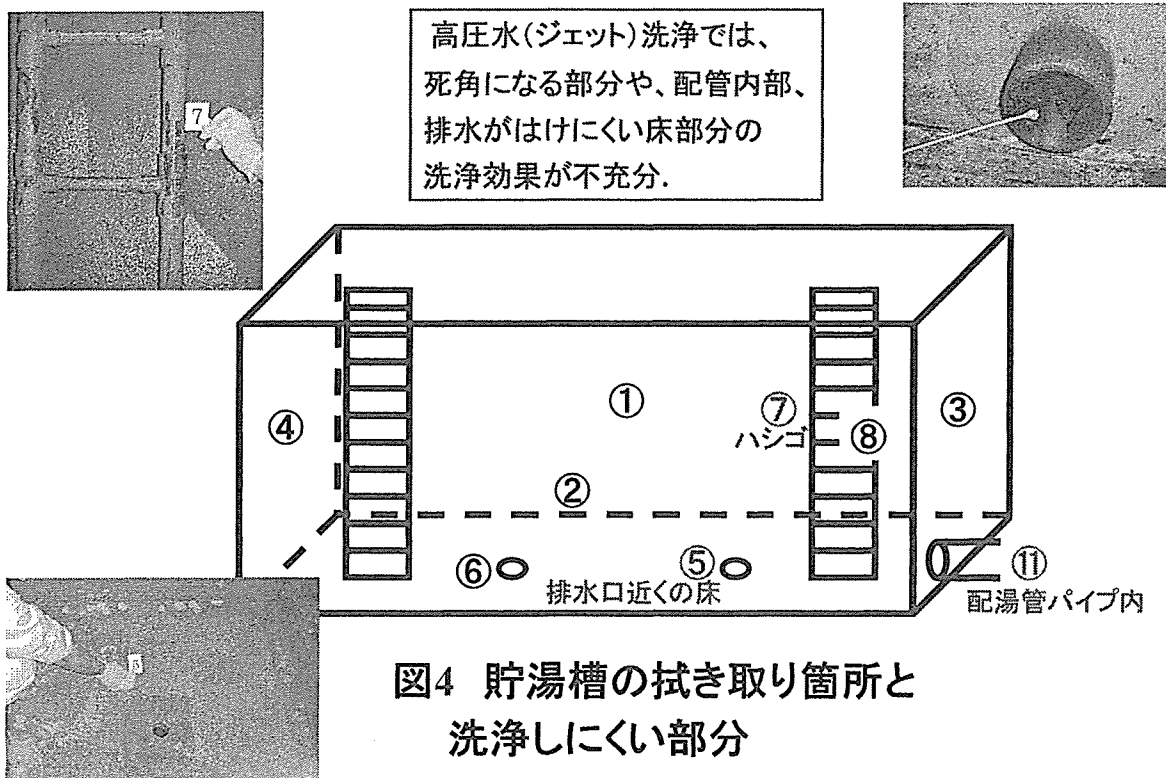


図4 貯湯槽の拭き取り箇所と
洗浄しにくい部分

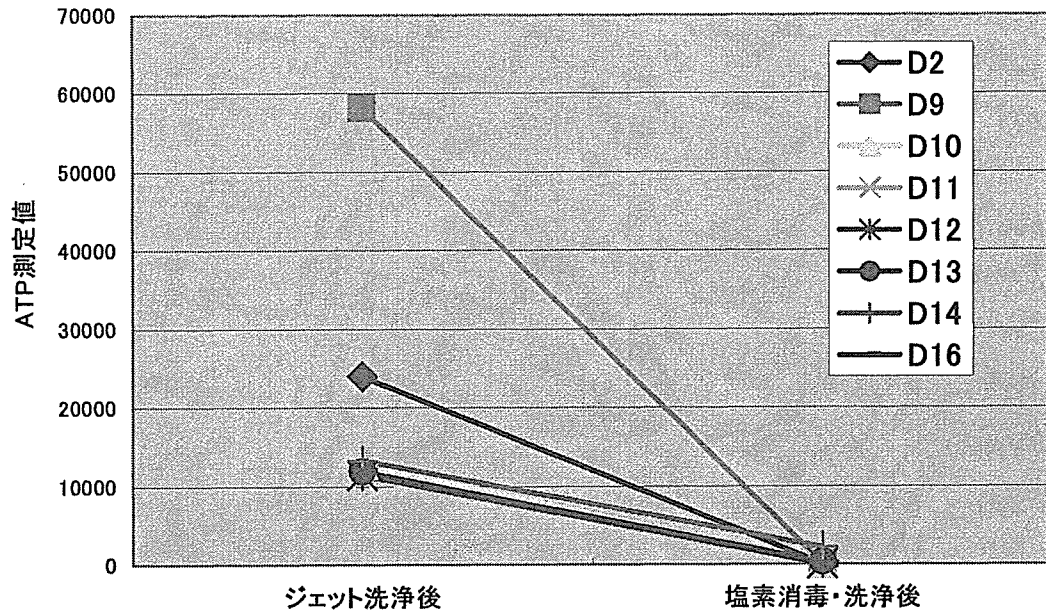


図5 浴槽の洗浄、殺菌効果とATP

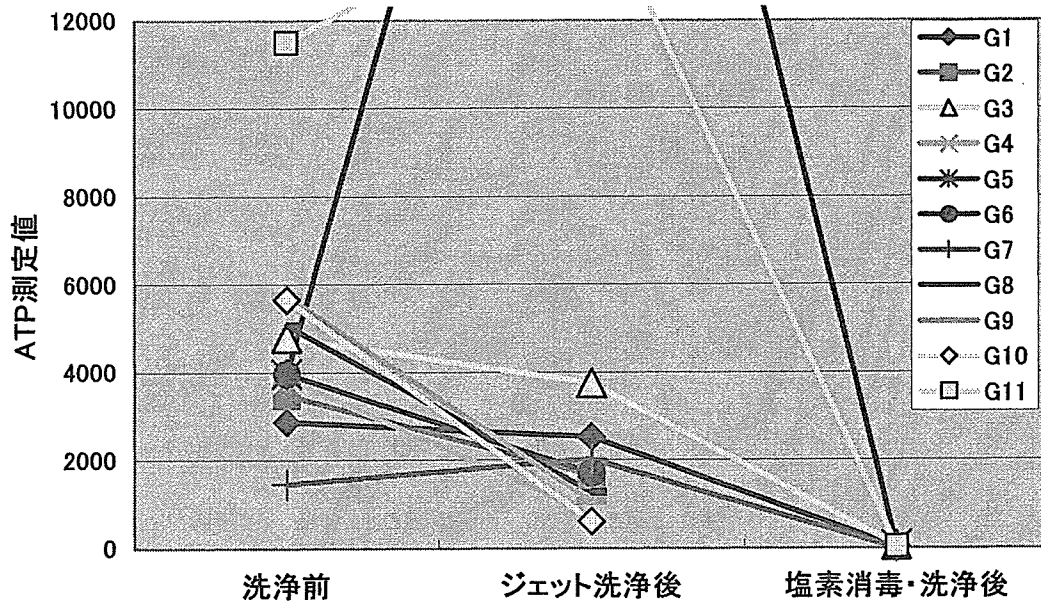


図6 貯湯槽拭き取りの洗浄、殺菌とATP測定値

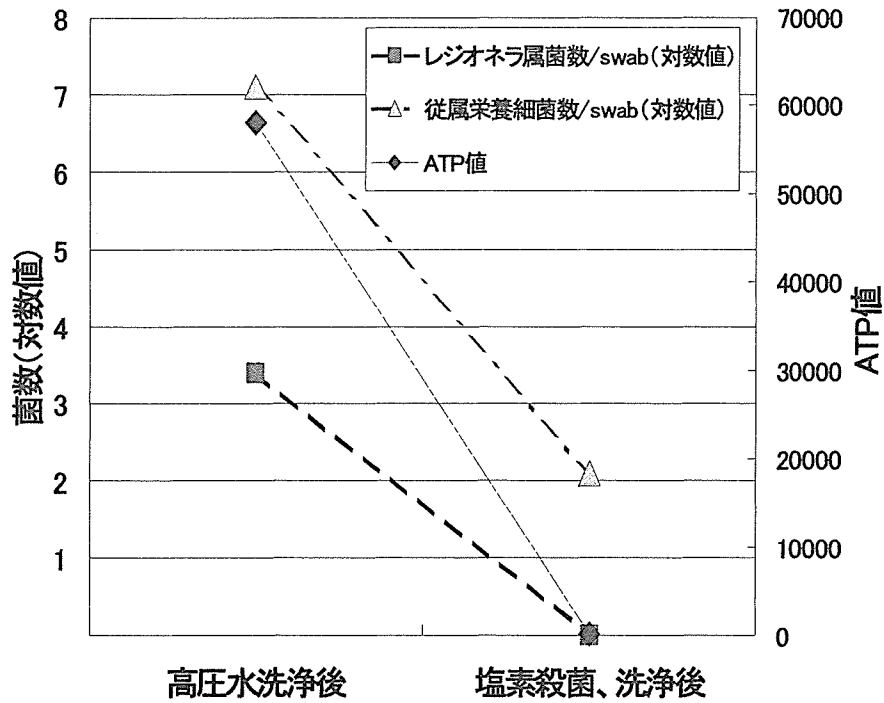


図7 浴槽(湯口下目地)の洗浄、殺菌効果とATP値

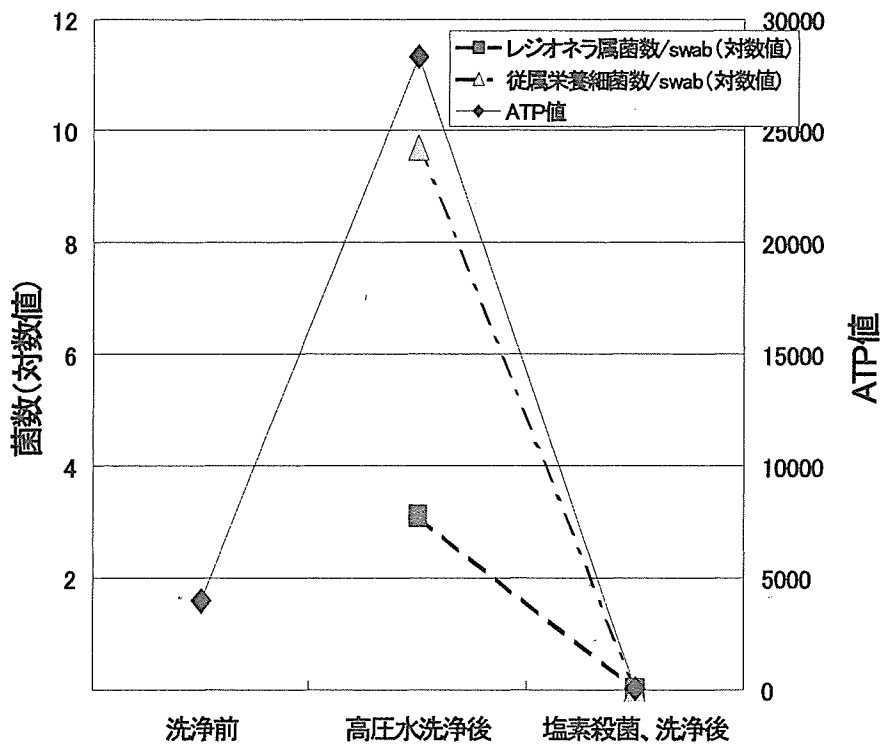


図8 貯湯槽(床排水口周辺)の洗浄・殺菌効果とATP値

【 D 】

1 A 施設

浴槽の状況は、岩とタイルの部分が繋がっており、漏水があるため、岩と岩の目地部分がコンクリート等でかなり浅くなっていた。

1回目の検査採水時において、浴槽等に水垢等の汚染状況が見られたことと定量下限値以下であったがレジオネラ属菌が検出されたため、ATP ふき取り検査を行った。通常の塩素系洗剤とブラシ清掃後に行った結果では、石の接合部においても最高 618 RLU であり、非常にきれいな結果であり、見た目にも採水時の様相と異なっており、以前に徹底的に清掃されていたことが窺われた。また、注湯後のレジオネラ検査でもレジオネラ属菌は検出されなかった。

2 B 施設

内湯と露天が2つの直径約 10cm 程度の穴で繋がっているが、両方とも通常は蓋をしたままで湯の繋がりはない。内風呂はタイル造り、露天風呂は岩風呂であった。

1回目の検査で、湯口からレジオネラ属菌が検出されず、内風呂の浴槽水と露天風呂水からレジオネラ属菌が検出された。そこで、露天風呂について、通常のブラシ清掃後に1回目の ATP 検査を実施した。

岩の目地部分では、1,585~60,058 RLU、内風呂との連結部で、2,074~34,418 RLU であった。多くの部分で 10,000 RLU 以上の結果となり、奥まった部分での清掃が不十分であることがわかった。また、注湯後の浴槽水でもレジオネラ属菌が検出された。それと同じ血清型が、ふき取り検査後の ATP 値が高値を示した部位から培養後検出されたレジオネラ属菌の血清型と同じであった。

連結部と岩の目地の深い部分の清掃が不十分であった旨を施設に説明し、再度 ATP ふき取り検査を行った。

塩素系洗剤とブラシ清掃後の結果では、前回高値を示した岩の目地部分が 3,051 RLU と前回より1桁低かった。また、連結部でも 3,069 RLU、969 RLU

と前回より1桁低くなり、より丁寧に清掃が行われていたことが窺われた。しかし、前回に気がつかなかった連結部の奥に手が入りづらい箇所があることがわかり、43,020 RLU と高い値を示した。

それらをブラシで更に清掃した後では、岩の目地では 373 RLU、連結部ではそれぞれ 4,440 RLU、703 RLU、12,550 RLU となった。更に、連結部において 3%の塩素水を噴霧し 3 分放置後洗い流した後では、10,255 RLU、269 RLU、10,784 RLU となった。さらにブラシで強くこすった後では、584 RLU、1,888 RLU、250 RLU となった。

注湯口に塩ビパイプを繋げて使用する場合もあることが分かり、その部分の出口付近では、5,335 RLU の値を示した。内部の洗浄についても今後実施するよう依頼した。

そして、注湯後の検査で、レジオネラ属菌が 10 CFU/100mL 検出された。

洗にくい目地の奥や連絡管のように奥まったところで ATP 値が高く、清掃が難しい箇所に生物膜が形成され、レジオネラ属菌の生息場所となっている可能性があることが分かった。

清掃が進むにつれて減少傾向を示したが、逆に増加する場合があります。岩の接合部や奥まって目の見えないところであり、毎回同じ箇所のみを正確にふき取ることができなかったことが原因と思われる。

清掃後にレジオネラ属菌が検出されたのは、清掃不十分な箇所から水中に出てきた以外に、清掃ではがれたものが不十分な洗い流しにより残った可能性もあると考えられる。

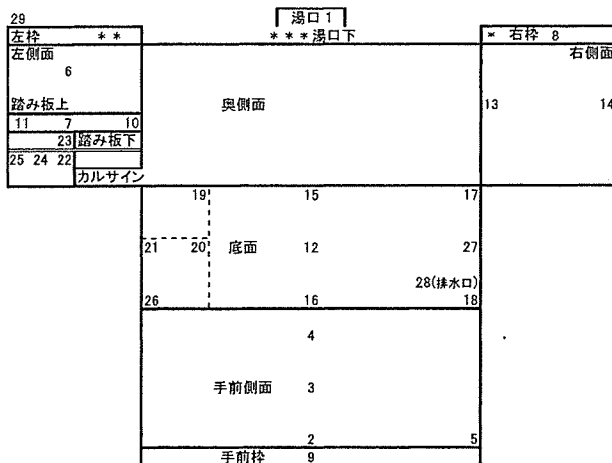
ATP 検査は短時間でしかも簡単に微生物汚染が分かり、汚染状況の把握には有効と思われた。しかし、岩風呂等の目地部分などではふき取り面積等を一定にできないことから、厳密に数値の絶対値での判断は難しいところもあると思われた。

洗浄方法はブラシ使用と塩素剤の使用であったが、ブラシによる物理的な除去が有効であった。

【 E 】

(コメント)

- ・28 (浴槽排水口の周り) は通常の衛生管理実施時に行った拭き取り調査でレジオネラが 270 cfu /100 cm² 検出された。
- ・8 (浴槽枠上部日陰部分) や 28 は常に ATP 値が高い。どちらも日陰になり、いつも濡れた状態なので、汚れの染み込みや微生物の繁殖の可能性が考えられる。8 と同じ浴槽枠上部で他の乾燥した箇所では ATP 値が低かった。
- ・洗剤とブラシによる洗浄で ATP 値はかなり改善されたことから、この方法での洗浄に加えて消毒剤の噴霧などを行うことが、レジオネラ対策として効果があると考えられる。高圧水洗では逆に ATP 値が高くなる傾向も見られた。これは、高圧水により檜の表面が削られて檜の繊維が壊れ、染み込んでいた汚れや微生物が出てきたためと考えられる。このため、洗浄後に湯張りした浴槽水の TOC 値は通常の洗浄後のものに比べ顕著に上昇し、檜の表面は白けて見た目が悪くなるなど、檜浴槽の洗浄法としては不向きな方法と思われた。



施設名称	Y温泉	
浴槽容量	1t	
換水頻度	毎日	
泉質	低張性アルカリ高温泉	
補給湯量	10L/min	
清掃頻度	毎日	
浴槽の主な材質	檜	
洗浄方法	ブラシ、消毒剤、(ホタテ焼成物を貯湯槽、浴槽中に浸漬)	
平均入浴者数	15名	
重点管理箇所 No.	ATP値 (RLU)	洗浄方法
	8	
29	5,764	
10	5,763	
11	3,911	
28	68,119	
8	2,262	ブラシ+水洗い+水切り
29	759	
10	1,148	
11	1,028	
28	10,094	
8	3,593	洗剤(バスマジックリン)+ブラシ+水洗い+水切り
29	984	
10	350	
11	403	
28	2,378	
8	3,054	高圧水洗+水切り
29	650	
10	846	
11	2,279	
28	3,218	
8	4,491	高圧水洗+ブラシ+水洗い+水切り
29	565	
10	777	
11	591	
28	1,523	
9	1,227	
*	3,939	
**	1,588	
***	2,831	

【 F 】

H18 年は、3 施設について調査し、ATP 簡易検査以外については、表 1 に示す結果を得た。ATP 簡易検査に関しては、表 2 に示した。清掃による ATP 値の変化は図 1 に示した。ブラッシング等の洗浄に

より ATP 値は、確実に減少した。ATP 値が浴槽の微生物汚染の指標となりうるなら、ATP の値を明らかにすることは、各施設の各浴槽の管理において、非常に簡便かつ有意義な方法であることが分かった。

表 1 検査対象施設と検査結果

施設	検査回数	採水場所等	pH	遊離残留塩素濃度	レジオネラの菌数 (-は検出限界以下)	レジオネラの血清型など	浴槽の材質等	TOC (mg / L)	従属芽 菌数 (CUF / ml) (42℃)
A	1	浴槽	9.52	0.05 ppm 未満	60	<i>L.pneumophila</i> SG3	岩風呂	0.7	9,200
	1	湯口	9.59	0.05 ppm 未満	-			0.6	2,000
	2			0.05 ppm 未満	10	<i>L.pneumophila</i> SG3			
B	1	浴槽	9.39	0.05 ppm 未満	-		御影石	1.3	19,000
	1	湯口	9.42	0.05 ppm 未満	-			0.5	2,900
C	1	浴槽	9.35	0.05 ppm 未満	40	<i>L.pneumophila</i> SG1 <i>L. rubrilucens</i>	岩風呂	0.7	2,000
	1	湯口	9.44	0.05 ppm 未満 塩素は投入しているが検出できない	300	<i>L.pneumophila</i> SG1 <i>L. rubrilucens</i>	岩風呂	0.7	8,200
	2	浴槽	9.44	同上	-		浴槽 岩風呂		
	2	浴槽	9.47	同上	810	<i>L.pneumophila</i> SG1	ひのき風呂		
	2	湯口	9.63	同上	70	<i>L.pneumophila</i> SG1	ひのき風呂		

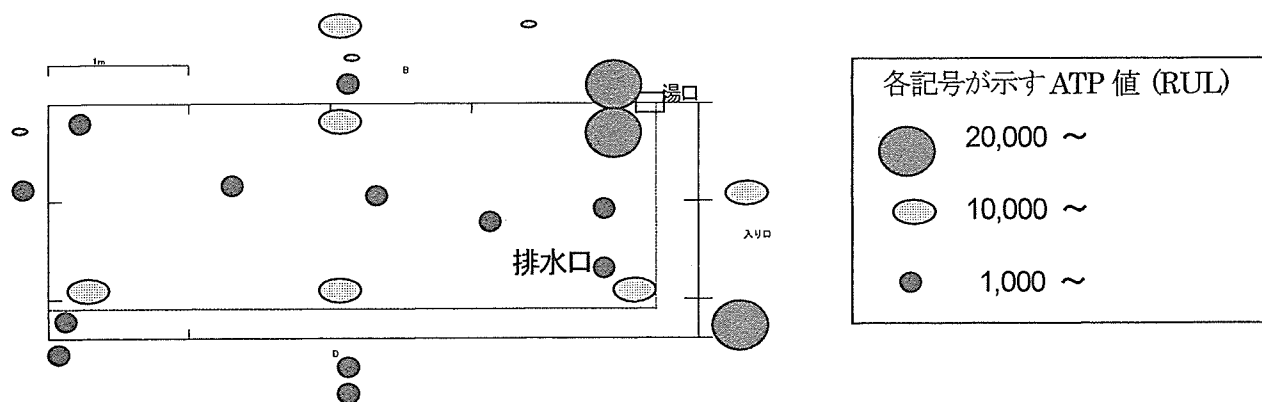


図 1 ひのき浴槽における ATP 値。実線は浴槽の底面における内周を示す。点線は浴槽内における 所謂腰掛の位置を示す。実線の外側の記号は、浴槽の垂直に置ける ATP 値を示す。浴槽底面の各周辺部、辺縁部において ATP の値が高いことが分かる。当該浴槽の同一検査部位からは、一部レジオネラが検出された。

表 2 浴槽の洗浄と ATP 値 (RUL) の変化 (%は、処理ごとの減少率を示す)

サンプリングポイント	元の値	通常のブラシ後	ブラシ2回目	コンプレッサ	ブラシ3回目(1分)	ブラシ3回目(2分)
3	16,258	3,902		1,949		
		-76%		-50%		
8	10,970	7,609		2,355	911	
		-31%		-69%	-61%	
11	51,929	14,585	7,647	4,814	2,528	309
		-72%	-48%	-37%	-47%	-88%

【 G 】

1. 現地調査(1回目)

(ア) 施設の状況

- ① 泉質等：Na 炭酸水素塩泉、貯湯槽なし、毎日換水
- ② 浴槽材質：全面粗加工自然石で敷き詰められ、岩間はセメント様目地で目張りされている。
- ③ 洗浄方法：毎日の次亜塩素酸 Na によるつけ置き消毒 (0.4mg/L×15分) および高圧洗浄、週1回のブラッシング、月1回の業者による高圧洗浄

(イ) 調査の背景

- ① 本研究平成17年度汚染調査をした施設であり、浴槽水から30~85 CFU/100mLのレジオネラ属菌を検出したが、追試により、泉源および湯口水陰性で浴槽水陽性を確認し、原因を洗浄方法の不備と特定できたため、洗浄方法の改善措置(高圧洗浄のみの対応から上述の洗浄方法に変換)により陰転化を確認した。

(ウ) 調査の方法

- ① 図1に示した内風呂の浴槽縁(1~3、表面磨き加工)、浴槽内階段表面(4~5、磨き加工なし)、浴槽内階段側壁(7~9、磨き加工なし)、床(10~12、磨き加工なし) および壁(13~16、磨き加工なし)の各々3~4カ所について、約10cm四方を綿棒で縦→横→縦にふき取り、測定器にセットしてRLU値を記録した。浴槽内階段表面(17~19)と浴槽内階段側壁(20~22)については、高圧洗浄後に再度同じ操作をしてRLU値を記録した。
- ② 当該浴槽は、つけ置き消毒および高圧洗浄を実施した後に湯張りし、約9時間後に浴槽水を採

水してレジオネラ属菌、アメーバ検査および従属栄養細菌数(42℃培養)の検査に供した。検査方法は当該研究の実態調査の方法に準じた。

(エ) 成績

- ① 高圧洗浄前の浴槽縁(1~3)、浴槽内階段表面(4~5)、浴槽内階段側壁(7~9)、床(10~12)および壁(13~16)の平均RLU値、並びに高圧洗浄後の浴槽内階段表面(17~19)と浴槽内階段側壁(20~22)の平均RLU値を表1に示した。浴槽内階段表面と同側壁については、高圧洗浄前後で比較した。除去率は洗浄前後のRLU値差を洗浄前RLU値で除して算出した。表2は平成18年12月現在で分担研究者が集計していた途中結果をまとめたものである。
- ② 湯張り後の浴槽水からは、レジオネラ属菌20 CFU/100mL、アメーバ8 PFU/100mL、および従属栄養細菌280,000 CFU/mLが検出された。

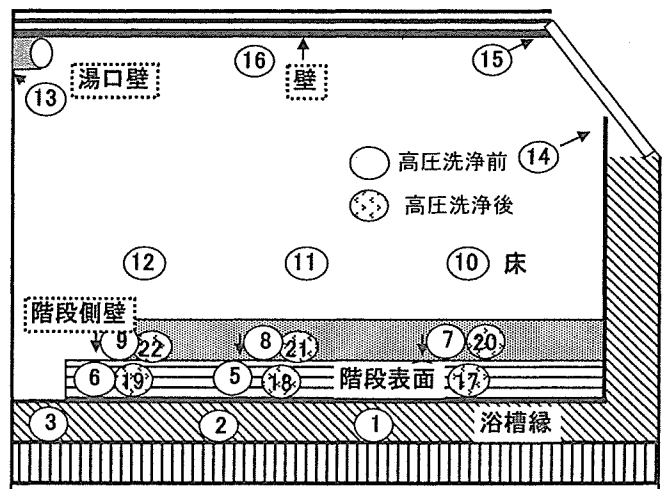


図1 浴槽の概略図(番号は拭き取り箇所)

表1 調査施設における拭き取り箇所ごとの平均RLU値と洗浄前後の除去率

拭き取り場所	平均RLU値		除去率 (a-b)/a
	洗浄前a	洗浄後b	
浴槽縁	15,994		
浴槽内階段表面	14,197	8,599	39%
浴槽内階段側壁	91,510	22,495	75%
床	29,675		
壁	2,987		
平均値	30,873	15,547	50%

表2 研究全体における材質ごとの平均RLU値と洗浄前後の除去率(平成18年12月現在)

浴槽材質	平均RLU値		除去率 (a-b)/a
	洗浄前a	洗浄後b	
石	4,070	2,160	47%
木	19,152	4,908	74%
コンクリート	5,700	1,468	74%
タイル	7,273	1,297	82%
平均値	9,049	2,458	69%

(オ)考察

- ① 拭き取り場所ごとの比較 当該施設における拭き取り調査結果では、壁以外は高い RLU 値を記録した。場所ごとに見ると、高い数値の中にあつて浴槽内階段側壁のように洗浄しにくいと思われた場所が比較的高い値を示した。浴槽縁のように磨き加工した表面と未加工の階段表面などの間には、差を認めなかった。
- ② 浴槽材質と洗浄による除去率の比較 洗浄前後の数値には明確な差を認めたため、洗浄効果を確認できると思われた。例えば、研究全体における浴槽材質ごとの比較において、洗浄前後の除去率は石を材質とするものが最も低く洗浄が難しい材質であると推察される(表2)。浴槽材質が自然石でできている当該施設の除去率も全体平均と同程度であり、このことを支持する結果であつた。
- ③ ATP 値と微生物検査結果の関係 表1、2に示したとおり、当該施設は RLU 絶対値が全体平均に比べて 10 倍程度高く、同程度の数値を浴槽内拭き取り箇所ほとんどで認め、さらに洗浄前後で共に高い数値を認めた。これらの結果と前述した材質の結果から、本浴槽が洗浄効果の得がたい材質で、浴槽全体にバイオフィルムが形成されていることが強く疑われ、現行の洗浄方法を見直す必要があると思われた。

これらのことは、湯張り後の微生物試験結果により裏付けられた。

- ④ ATP 測定値に対する泉質の影響 表1に示さなかつたが、同じ浴槽の浴槽縁で 285,719 RLU を示した箇所があつた。当該箇所は、図1の③と数10 cm も離れていない部分で他の浴槽縁と同じく磨き加工した自然石でできており、手で触ってもぬめり感はなかつた。反復測定で 249,008 RLU (2回目)、180,337 RLU (3回目)、高圧洗浄後に 36,029 RLU と漸減した。また、施設の清掃実施者からはブラッシング時に泉質由来と思われる褐色の水あかを多く認

め、非常に清掃しづらいと聞いていた。

- ⑤ 今回、微生物検査結果との整合性から当該施設の ATP 検査結果は衛生管理不備であると結論づけたが、同一材質面成績の不均一性、全体的な高 RLU 値、および泉質由来の水あかの存在などを考え合わせると、泉質の ATP 反応への関与を完全に否定することができず、泉質の影響を精査する必要性を感じた。

2. 現地調査(2回目)

(ア) 施設の状況

- ① 泉質、管理方法および浴槽材質は現地調査(1回目)と同じ。

(イ) 調査の背景

- ① 現地調査(1回目)の培養検査結果に基づき、清掃時のブラッシングの徹底と消毒時の塩素濃度の低さを指摘したところ、洗浄方法を次のように変更した。

② 洗浄方法:

- 1. 毎日管理 a)お湯抜き、b)洗浄剤を用いたブラッシング、c)高圧洗浄、d)0.6%次亜塩素酸ナトリウム溶液の散布と 10 分間の浸漬、e)高圧洗浄
- 2. 月1回の管理 a)業者による高圧洗浄

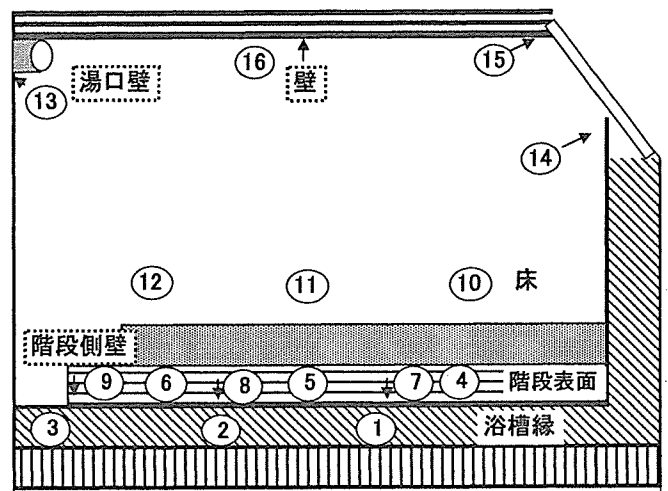


図2 浴槽の概略図(番号は拭き取り箇所)

(ウ) 調査の方法

- ① 図2に示した内風呂の浴槽縁(1~3、表面磨き加工)、浴槽内階段表面(4~5、磨き加工なし)、浴槽縁側壁(7~9、磨き加工なし)について、それぞれ洗浄前 a、ブラッシング洗浄後 b、消毒洗浄後 c に RLU 値を測定し、比較した。床(10~12、磨き加工なし) および壁(13~16、磨き加工なし) は、それぞれ洗浄前 a と洗浄後 b および洗浄前 a と消毒後 c の RLU 値のみ測定した。
- ② 現地調査(1回目)と同様に、湯張り後の浴槽水に加えて湯口水を採水してレジオネラ属菌、アメーバ検査および従属栄養細菌数(42℃培養)を測定した。

(エ) 成績

- ① 洗浄前の RLU 値は1回目の現地調査(表1、平均値 30,873RLU)とほとんど変わらなかった(表3)。しかし、ブラッシングと高圧洗浄により平均 85.25%の除去率を得たことに加えて、高濃度塩素の撒布・浸漬と高圧洗浄を行った後には RLU 値は劇的に減少し、全体の除去率は 98.08%に達した。
- ② 湯張り後の浴槽水からはレジオネラ属菌およ

びアメーバは共に検出されなかったが、従属栄養細菌数は 120,000 CFU/mL と湯口水(1300 or 1700) よりもかなり高い値を示した。

(オ) 考察

- ① 洗浄方法と消毒方法を変えたことにより、RLU 値は劇的な減少を示した。このことが微生物学的な検査に反映できていれば、ATP の拭き取り調査によりオンサイトで微生物汚染度を評価しかつ改善策に利用できたことになる。
- ② レジオネラ属菌数、アメーバ数は、公定法に基づく検査により検出されなかったことから ATP の拭き取りによる RLU 値の減少が微生物学的にも検証できたといえる。
- ③ ただし、従属栄養細菌数は湯口水と湯張り後の浴槽水との間に 2 オーダーの差を認め、かつその実数が 10^5 オーダーと決して少なくない値であった。これらのことに関連して、今回 ATP 測定部分の隣接部を拭き取り、レジオネラ属菌、アメーバ検査および従属栄養細菌数(42℃培養)を測定して培養検査との対比を行うと共に、現地調査(1回目)で提起した ATP に対する泉質の増強作用を検討したので次に報告する。

表3 調査施設における拭き取り箇所ごとの平均RLU値と洗浄前後の除去率

拭き取り場所	平均RLU値			除去率 (a-b)/a	除去率 (a-c)/a
	洗浄前a	洗浄後b ¹	消毒後c ²		
浴槽縁	27,222	2,217	544	91.86%	98.00%
浴槽内階段表面	61,824	8,392	51	86.43%	99.92%
浴槽縁側壁	28,556	10,104	529	64.62%	98.15%
床	11,434	218		98.09%	
壁	17,531		656		96.26%
平均値	29,313	5,233	445	85.25%	98.08%

1: a)お湯抜き、b)洗浄剤を用いたブラッシング、c)高圧洗浄

2: d)0.6%次亜塩素酸ナトリウム溶液の撒布と10分間の浸漬、e)高圧洗浄

表4 拭き取り調査前後の湯口水と湯張り後浴槽水における培養検査結果

	レジオネラ属菌 (CFU/100ml)	HPC 42℃ (CFU/ml)	アメーバ (PFU/50ml)
消毒時湯口水	ND	1300	ND
湯張り後湯口水	ND	1700	ND
湯張り後浴槽水	ND	120,000	ND

3. その他の検討1 (拭き取り検査における洗浄消毒前後の各種検査成績の比較)

(ア) 調査方法

- ① 検査は、浴槽縁側壁の2カ所(図2⑧および⑨)の隣接部において、それぞれ当該施設の浴槽構造上の特徴である岩表面Aと目地部分Bで実施した。岩表面はATP拭き取り部分の隣の岩表面約100cm²を同じ方法で拭き取り、検査に供した。目地部分はATP拭き取り検査を実施し岩周辺の目地をおよそ同じ面積となるように拭き取った。これらを洗浄消毒の前後で実施し、比較した。
- ② 綿棒を1ml滅菌生理食塩水に懸濁し、所定の方法に基づいてレジオネラ属菌、アメーバ検査および従属栄養細菌数(42℃培養)を測定した。

(イ) 成績

- ① 洗浄消毒前の岩表面と目地は、両者共にSPCが10⁴~5オーダー、HPCが10⁵オーダーと高い値を示し、これらの隣接部RLU値も高

い値であった。

- ② 洗浄消毒後の拭き取りの値は培養法とATP法の減少度合いに差を認めたものの、岩表面、目地ともに拭き取り前に比べて大幅に減少していた。
- ③ 岩表面よりも目地の方が、培養法、ATP法共に比較的高い数値を示し、後者のRLU値は洗浄消毒後も高い値を示した。

(ウ) 考察

- ① 培養法とATP法の成績を比較すると、消毒剤の影響を受けない洗浄前の数値が比較的同じ傾向を取り、洗浄前後の減少がともに明らかであったことにより、ATP検査が培養検査のスクリーニングとなりうる可能性が支持された。
- ② 目地部分が洗浄消毒後にRLU値が減少しなかったのは、培養検査と同じサンプルではないことが第一の原因と思われるが、当該部の洗浄前の値が比較的高いことと共に、生物膜の影響が考慮され、今後検討する必要性を認めた。

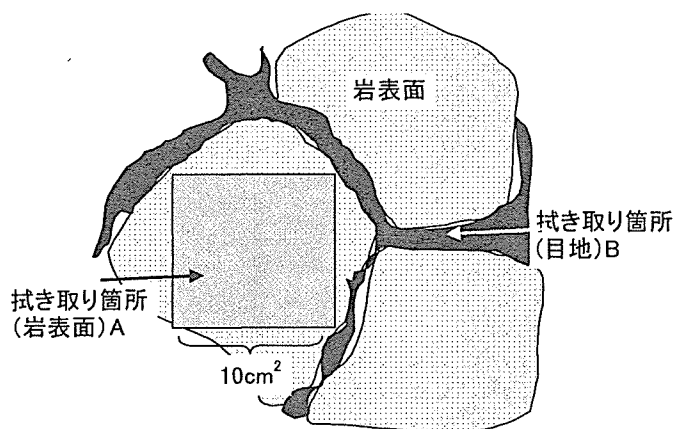


図3 拭き取り検査の概略図

表5 浴槽側壁表面(岩および目地)拭き取り材料における洗浄消毒前後の各種培養検査結果と隣接部ATP量の比較

	レジオネラ属菌 (CFU/100cm ²)	SPC 37℃ (CFU/100cm ²)	HPC 42℃ (CFU/100cm ²)	アメーバ (PFU/100cm ²)	隣接部のRLU値 (RLU/100cm ²)
側壁岩表面洗浄・消毒前拭き取り	ND	43,000	440,000	ND	7,909
側壁岩表面洗浄・消毒後拭き取り	ND	550	630	ND	39
側壁目地洗浄・消毒前拭き取り	ND	320,000	980,000	ND	75,328
側壁目地洗浄・消毒後拭き取り	ND	30	<30	ND	1,019

SPC(Standard Plate Counts): 一般生菌数、HPC(Heterotrophic Plate Counts): 従属栄養生菌数
CFU(Colony Forming Unit)、RLU(Relative Lights Unit)

4. その他の検討2 (温泉浴槽水を用いた ATP の添加回収試験)

(ア) 調査方法

- ① PCR 検査で用いる dNTP mixture (10mMeach) を注射用蒸留水 (大塚製薬) を用いて希釈し 100 μ M と 10 μ M の水溶液を調製した。
- ② 供試材料は、A) 注射用蒸留水、B) 温泉湯口水、C) 温泉浴槽水、D) 3000rpm \times 5min 遠心後の湯口水上清、および E) 3000rpm \times 5min 遠心後の浴槽水上清とした。これらの溶液 900 μ l に①で調製した 100 μ l と 10 μ M の水溶液を添加し、十分に混釈した後に、それぞれの 100 μ l を ATP アナライザー (TOA-DKK AF100) で測定した。

(イ) 成績

- ① 温泉湯口水の回収率は 100%を超えたがオーダーレベルで影響されることはなかった。
- ② 細胞成分を除去する目的で遠心分離した湯口水および温泉水上清においても添加量を増幅させるような所見を認めなかった。

(ウ) 考察

- ① 湯口水の回収率は良好で 100%を超えたが、オーダーレベルで影響されることはなく、ATP 反応に対する泉質の関与を認めなかった。

5. 結論

ATP 拭き取り検査法について、二度にわたる現地調査および追加試験の結果をふまえて、洗浄消毒前後の RLU 値の差は明らかであり、かつ数値が量的

に培養検査結果に反映される傾向を認めた。さらに拭き取り検査でもこれらのことが支持されたことから、本法は生物膜の汚染状況を把握する有用な手段として活用することができ、今後材質ごとや管理状況ごとの基準値を明確にしていけば、温泉や公衆浴場の衛生管理指標になりうると考えられた。

ATP 法の最大の利点は迅速性と簡便性にあり、比較的安価な携帯器も流通しているためオンサイトで評価が可能である。欠点としては、生物全てが保持している ATP を標的にしていることや、酸化剤などの阻害物質の存在、或いはある種の有機物が持つ非特異反応の存在などが考えられる。

様々な生物が生息している水環境中では ATP 法で検出する対象の絞り込みが難しく、同種の細菌ですらその発育ステージにより単位細胞あたりの RLU 値が異なることが知られている。また、水環境中に存在する細菌の約九割は人工培地上に発育できないとされており、RLU 値と培養検査結果との間に明らかな相関を得ることが難しいことは容易に推察できる。阻害反応や非特異反応は遊離 ATP と細胞内 ATP の差別化により改善できるが、ろ過洗浄などの追加操作が必要であり、最大の利点を犠牲にしなければならない。従って、通常の ATP 法で得られる値は定量性に乏しくかなり大雑把なものとして理解される。

しかしながら、これらの欠点を差し引いても、明瞭な迅速性と簡便性は非常に魅力的であり、今回の事例のように清掃 (洗浄) 方法や消毒方法を検討しているときは、ATP 法を目安として活用すれば、適切に作業の有効性を確認できるように思われた。

表6 温泉水を用いたATPの添加回収試験

	RLU (Relative Lights Unit)			
	100 M 溶液	対原液 回収率	10 M 溶液	対原液 回収率
原液(ATP調製液)	4.02E+06	100.0%	4.19E+05	100.0%
A 注射用蒸留水	4.55E+06	113.2%	6.69E+05	159.7%
B 温泉湯口水	4.16E+06	103.5%	5.49E+05	131.0%
C 温泉浴槽水	3.14E+06	78.1%	1.33E+05	31.7%
D 温泉湯口水遠心後上清	2.45E+06	60.9%	4.14E+05	98.8%
E 温泉浴槽水遠心後上清	1.94E+06	48.3%	3.33E+05	79.5%
温泉水(B~E)の平均値	2.92E+06	72.7%	3.57E+05	85.3%

【 H 】

1 施設状況

泉質は塩化物泉で、源泉井戸から湯量・温度調整層を経て、浴槽へ給湯している掛け流し式温泉である。浴槽の側壁は老朽化し、ひび割れ等が生じている。浴槽の底からお湯が湧き出ることから、採石を敷き、その上に石材を敷き詰めてある。

清掃状況は、週1回の換水・簡易清掃と、浴槽の塩素消毒を含めた完全清掃を月1回（毎月15日）実施している。

2 調査方法

1回目調査では、ブラシ洗浄、高圧洗浄、洗剤・ブラシ洗浄後次亜塩素剤(200mg/L)で1時間30分間の消毒等実施後拭き取りを実施した。

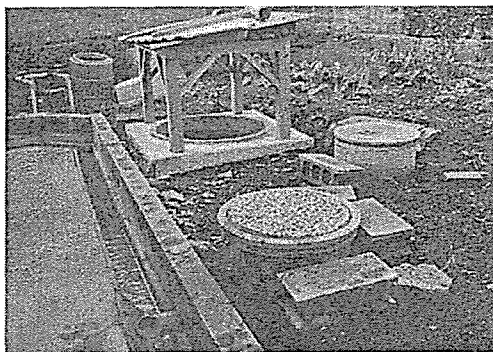
2回目調査においては、ブラシと高圧洗浄併用、洗剤・ブラシ洗浄と高圧洗浄併用後、次亜塩素剤(200mg/L)で1時間30分間後高圧洗浄を実施し、それぞれの工程後拭き取りを行った。測定器ルミテスターPD-10N（キッコーマン）、検出試薬ルシパックワイド（キッコーマン）を用いてATP値を測定し、併せてレジオネラ属菌、従属栄養細菌、アメーバの

検査を実施した。

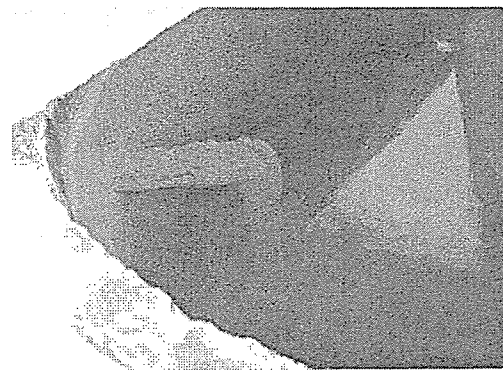
3 結果

1回目調査において、浴槽内20箇所でのATP値は、ブラシ洗浄後で平均5598.3（355～15,720）RLUと測定箇所により大きな差があった。また、洗剤・ブラシ洗浄後では平均1829.2（7～5,122）RLU、塩素消毒（1時間30分）後は平均11.65（3～67）RLUであった（図1）。

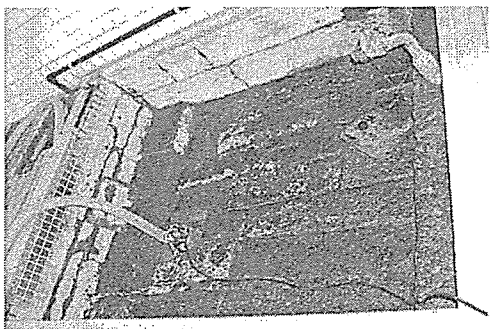
2回目調査においては、ブラシに加え高圧洗浄機を併用し、ブラシと高圧洗浄、洗剤・ブラシ洗浄と高圧洗浄、塩素消毒（1時間30分）後高圧洗浄を実施し、1回目調査同様20箇所でのATP値を測定した。ブラシと高圧洗浄併用後のATP値は平均1,847（4～6,961）RLU、洗剤・ブラシ洗浄と高圧洗浄は776RLU（2～2,536）、塩素消毒（1時間30分）後は65RLU（3～985）であった（図2）。また、20箇所のうち10箇所においてはレジオネラ属菌、従属栄養細菌、アメーバの検査の拭き取り検査を実施した。結果は、表1のとおりであった。



源泉井戸



温度調整槽



排水時浴槽



傷んだ浴槽壁

4 考察

2回目調査における各洗浄後のATP値は、1回目調査に比べ低値を示した。洗浄方法を追加する事により、より洗浄効果が増すと考えられる。

塩素消毒後の浴槽水からレジオネラ属菌が検出されたのは、浴槽の構造上、洗浄や消毒が不可能な部分があったためと考えられる。浴槽は洗浄、消毒の行い易い構造や材質等を考慮して、設置、改善することが望まれる。

レジオネラ属菌、従属栄養細菌、アメーバの検査においても、各洗浄を実施することにより、段階的

に減少し、塩素消毒以後には、何れも検出されなかった事から、消毒以前に洗剤等で洗浄することで、確実な塩素消毒効果が期待できる。

今回の調査では、ATP値が低値でもレジオネラ属菌が検出された箇所が散見され、阻害物質の検討等課題が残った。しかし、ATP高値域においては、レジオネラ属菌は高率に検出されたことから、浴槽内のできるだけ多くの箇所を測定することにより、ATP値は総合的に洗浄効果を判断する指標に利用可能と考える。

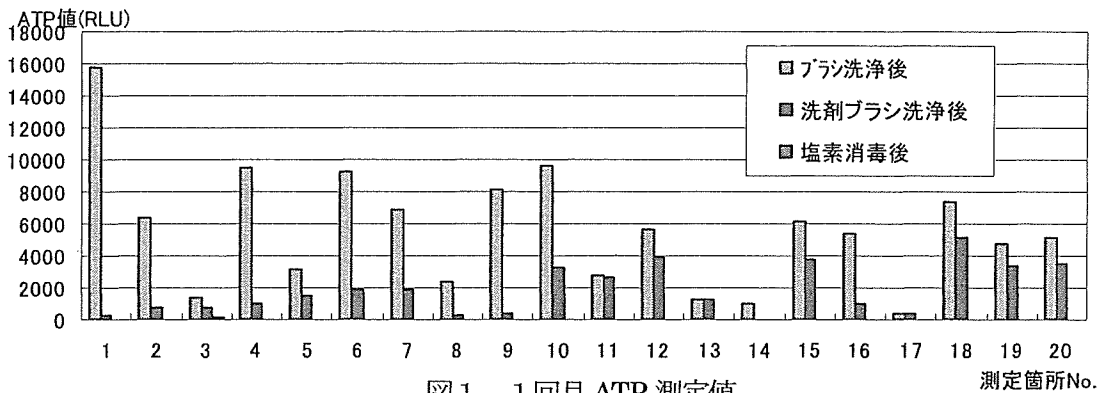


図1 1回目 ATP 測定値

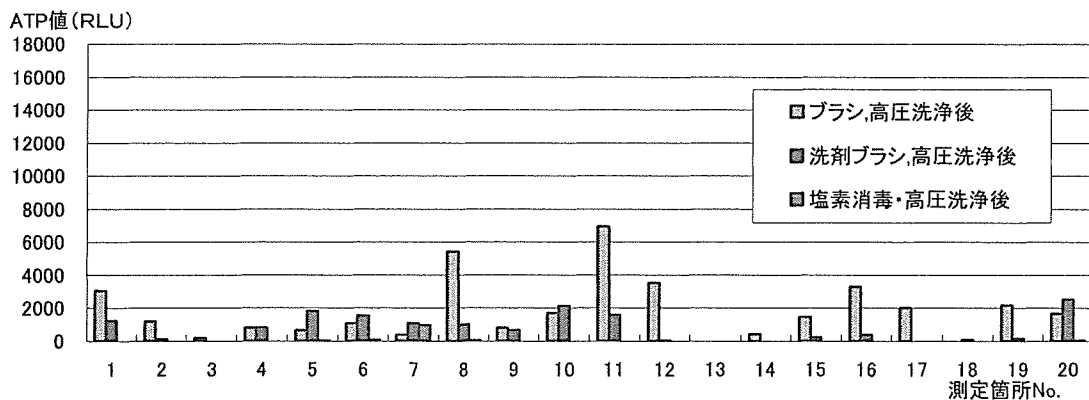


図2 2回目 ATP 測定値

表1 拭き取り検査結果

平均値

	ブラシ,高圧洗浄後	洗剤ブラシ洗浄後	塩素消毒後
レジオネラ属菌(CFU/cm ²)	233(1~1080)	56(2~315)	<10
従属栄養細菌(CFU/100cm ²)	5,830(100~2,5000)	1,831(20~4,900)	37(<10~180)
アメーバ(PFU/100cm ²)	132(40~300)	68(<10~170)	<10

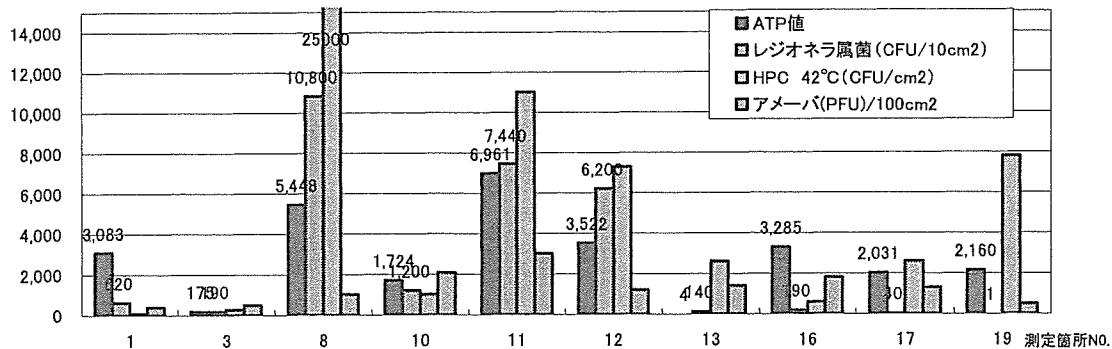


図3 ブラシ・高圧洗浄後結果

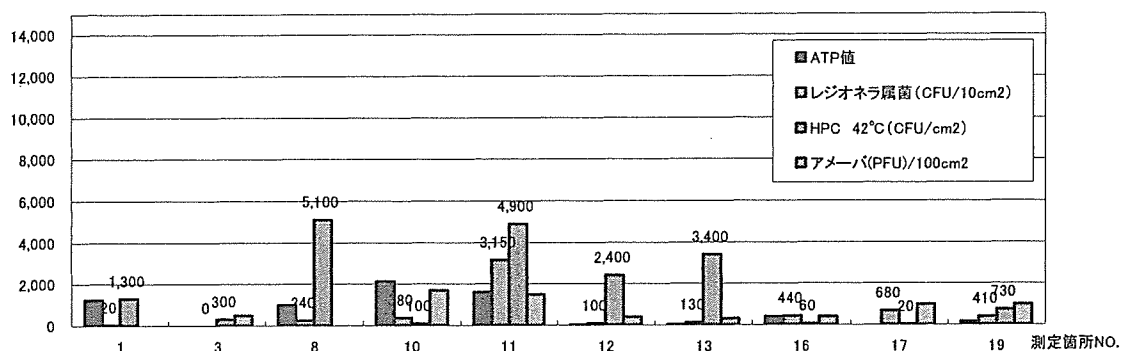


図4 洗剤ブラシ・高圧洗浄後結果

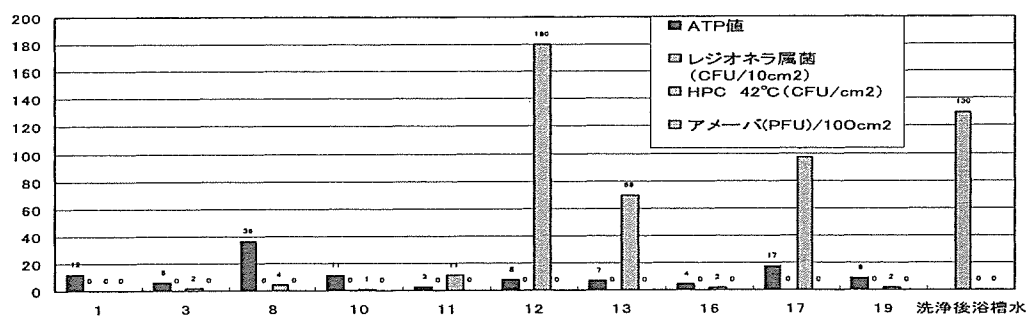


図5 塩素消毒後の結果

平成 18 年度分担研究報告

掛け流し式温泉施設の衛生管理

分担研究者	黒木俊郎	神奈川県衛生研究所微生物部
	遠藤卓郎	国立感染症研究所寄生動物部
主任研究者	井上博雄	愛媛県立衛生環境研究所
研究協力者	烏谷竜哉	愛媛県立衛生環境研究所

掛け流し式温泉施設においても循環式浴槽と同様に、レジオネラ属菌の増殖を抑えてレジオネラ感染症の発生を防ぐことを目的として、確実な衛生管理を進めることが重要である。衛生管理手法の強化には、食品分野において採用されている HACCP システムの導入が有効である。HACCP では管理上の重要管理点 (Critical point) を設定し、それぞれのポイントを解析して、適切な管理手法により危害発生の可能性 (リスク) を取り除く。そこで、本研究では掛け流し式温泉施設への HACCP システムの導入を検討するとともに、導入の前提となる一般的衛生管理の充実を図るに必要な情報の収集やケーススタディを行ってまとめ、浴槽の管理の現場での活用が期待される資料を作成した。

A. はじめに

食品衛生の分野では、食品における種々のリスクを軽減するために HACCP の導入とその推進が盛んに行われている。浴槽施設においても、HACCP の導入が必要であることは、これまでの報告書で訴えてきたとおりである。

HACCP は重要管理点の設定、危害の有無の検討、モニタリングの設定、基準の設定等の作業を行った後に、実際に管理が行われる。ここで、モニタリングは危害を減らすための重要な管理作業であり、HACCP においては不可欠の項目である。浴槽施設の HACCP においては浴槽水中の残留塩素濃度や水温が適切なモニタリング対象となる。重要管理点の設定が可能な施設においては HACCP システムの導入を積極

的に推進することが必要と考えられ、導入のステップを示すこととした。しかしながら、掛け流し式温泉施設では浴槽水の残留塩素濃度を一定に保つことによる浴槽水の微生物学的安全性の確保を行っていない場合がある。さらに貯湯槽や配管中の水温がレジオネラが増殖できない 55℃以上に保たれていない場合が見受けられる。そのため、こうした施設では HACCP システムに不可欠なモニタリングを行うことが困難である。そこで、本来あるべき、定義に則った HACCP の導入ではなく、当面、HACCP の概念の導入を試みることにした。

HACCP の導入にはいくつかのステップを踏んで実施に至るが、本研究では、掛け流し式温泉施設における衛生管理を充実させるために重

要なポイントの選定を行うとともに、それぞれのポイントにおける危害と対策をまとめた。また、こうしたポイントのなかから重要管理点となりうるポイントを示した。

B. 研究方法

1) 衛生管理の強化

HACCP システム導入の前提条件である、一般的衛生管理の充実を確実にするために、浴槽の各設備において管理上特に留意すべきポイント（重要ポイント）の選定を行い、それぞれの対策を検討した。

(1) 施設における構成要素

掛け流し式温泉施設の一般的な構成システムを基に、システムを構成する要素（浴槽、その他の設備等）の設定を行った。

(2) 各設備におけるポイントの設定

各設備において、重要ポイントについての意見および情報（設定すべきポイント、危害発生状況、対策）を、研究班の分担研究者および研究協力者から収集した。

(3) ケーススタディ情報の収集

研究班の分担研究者および研究協力者から、浴槽のレジオネラ対策で経験した種々のケースについて、情報を収集し、事例集としてまとめた。

2) HACCP システム導入の検討

HACCP システムの導入はステップごとに行われる。そのステップを掛け流し式温泉施設にあわせることを検討した。

さらに、HACCP システム（衛生管理を含めて）では多くの文書の作成が求められる。そこで、作成することが想定される文書のリストを作成した。

C. 結果

1) 衛生管理の強化

HACCP システムの導入によりそれを有効に機能させるためには、一般的衛生管理が確実に実施されていることが前提となる。衛生管理がおろそかになっていては、HACCP の本来の効果を発揮することはできない。HACCP システムは衛生管理の実効性を科学的に実証し、衛生状態の維持あるいは向上を図るための活動といえることができる。したがって、HACCP システムそのものが施設の衛生状態を良くしてくれるわけではなく、衛生管理の進行状況を検証するシステムであると認識していなければならない。

入浴施設の一般的衛生管理は厚生労働省から種々の要領が示されているので、衛生管理の一般的な内容はそれらを参照して、現場で活用することが重要である。要領の一覧を資料1に示した。

(1) 施設における構成要素

本研究では、掛け流し式温泉施設への HACCP システムの導入を検討しているが、その前提となる衛生管理の徹底を行うことも議論した。掛け流し式温泉施設を設備ごとに分けて、それぞれを構成要素として検討した。具体的には、「源泉」、「冷却塔」、「配管」、「貯湯槽」、「吐出口」、「浴槽」、「その他」とした。

(2) 各設備におけるポイントの設定

衛生管理を行う上で、特に留意すべき箇所を設備ごとに細かく検討して重要ポイントを選定し、それぞれに存在する「危害」の性状と「対策」をまとめた。HACCP システムの導入時に重要管理点（CCP）となる可能性のある項目も含まれており、それを□（四角）で囲って示した。各設備の最後に管理上留意すべきコメントを付した。まとめた結果を資料2に示した。

(3) ケーススタディ情報の収集

衛生管理を進める上で、種々のケースに関する

る情報を共有することは、直面するレジオネラ問題の解決に役立つという観点から、ケーススタディとして「事例集」を作成した。内容は資料3に示した。この「事例集」は研究班を構成する研究者および研究協力者に協力を求め、それぞれが有するケースを持ち寄って作成した。

2) HACCP システム導入の検討

HACCP システムは、まず管理の対象物とそこに発生する危害を明確にしておき、さらに対象物の製造過程においてその危害の発生を防ぐための事項と管理方法を定め、システムとして管理を行っていくという特徴を有している。この管理手法を浴槽の管理に導入することで、安全性の高い浴槽環境を提供することが可能となるものと期待される。掛け流し式温泉施設への HACCP システム導入において想定される具体的な内容を資料4に示した。

浴槽の管理をシステムとして進めるためには多くの文書が必要となる。これらの文書を作成し、活用することで、だれでも決められた手順と方法で管理を行い、それを記録しておくことが可能となる。作成・保存される文書の例を資料5に示した。

D. 考察

今年度の研究では、掛け流し式温泉施設におけるレジオネラの発生を予防するために、HACCP の導入の検討を行い、さらに導入のための前提である衛生管理の充実のために、管理上の重要ポイントの洗い出しを行った。HACCP システムは、一般的衛生管理が確実に行われたうえで、その有効性が発揮される。そこで、衛生管理上の重要ポイントを選定して、それぞれの性状を分析し、具体的な対策を掲げることで、現場での管理に役立つ情報の提供を試みた。

レジオネラ属菌は自然界に広く分布し、掛け流し式温泉施設においても、条件さえ整えば種々の設備において増殖する。そのため、レジオネラ属菌の発生を抑制するための衛生管理を行うには、温泉の設備のあらゆる地点を対象としなければならない。今年度は研究班の研究者および研究協力者が一体となって情報の提供を行い、各設備におけるポイントを挙げ、それぞれにおけるレジオネラ属菌等の微生物の増殖の可能性や対策を検討した。この検討結果が実際の温泉施設の衛生管理に役立つことが望まれる。

HACCP における重要管理点の選定においては、①その管理点以降では危害を防げないこと、②継続的に計測可能なパラメータがあること、③自ら管理が可能であることが挙げられる。掛け流し式温泉設備では、源泉や貯湯槽、配管中の温泉水の温度を連続的に測定することができ、温度管理によりレジオネラ属菌を始めとする微生物の増殖を抑えることが可能であることから、重要管理点とした。温泉施設によっては温泉水の温度が 55℃以上に達しないところがあり、加温がされていない場合では微生物の増殖を管理することはできない。そのような場合は温度は重要管理点とはなりえない。

温泉水の pH は連続的に測定が可能であるが、pH の調整による管理が困難であることから重要管理点とはなりえないと判断した。ただし、低 pH を維持することでレジオネラ属菌の増殖を抑えることは可能である。

レジオネラの発生を防ぐことを目的としているため、微生物検査をモニタリングの対象として HACCP を実施することは、微生物検査の結果を得るには通常数日を要し、したがって連続的に計測することにはならないため、HACCP において微生物検査をモニタリングの対象とすることはできない。

塩素注入が行われている温泉では残留塩素濃度をパラメータとして連続的に計測することから、塩素を注入する段階を重要管理点として HACCP を実施することができる。しかし、多