

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17年度～平成18年度 総合研究報告書

主任研究者 井上 博雄

平成19(2007)年4月

目 次

I. 総合研究報告	
掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究 -----	1
井上博雄	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	45

I 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
総合研究報告書

掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究

主任研究者 井上 博雄 愛媛県立衛生環境研究所長

研究要旨

平成 17～18 年度にかけ、病原微生物汚染状況や衛生管理などの実態が不明な掛け流し式温泉の実態調査など、特にレジオネラ属菌汚染に関わる諸要因を分析し、その現状を把握するとともに衛生管理手法の改善に資するため、下記の検討を行った。

1. 温泉における微生物汚染ポテンシャルの評価

温泉の有機炭素量（AOC、TOC）に応じてバイオマス量(全細菌、ATP)が増加した。レジオネラ属菌が検出される温泉ではその増殖はバイオマス量と相関し、有機炭素量がレジオネラ属菌の増殖にも関与していることが示唆された。

2. 貯湯槽のバイオフィーム生成量調査

貯湯槽に浸漬したシリコンゴム板でのバイオフィーム形成を経時的に観察し、50℃未満の温泉ではレジオネラ属菌の定着は2～3ヶ月で確認された。モデル貯湯槽での実験では、50℃以上では微生物類の増殖程度は著しく低く、貯湯槽の温度を50℃以上に維持することが微生物類の増殖抑制に有効であると考えられた。ただし、50℃以上でもバイオフィーム中にレジオネラ属菌は生息するため、定期的な洗浄消毒が必須と考えられた。

3. PCR-DGGE 法による掛け流し式浴槽等環境中の細菌叢の解析

配管の前後で配管汚染の反映と考えられる優占種の交代が認められた。同一施設内では貯湯槽から湯口にかけての配管系に増殖する細菌叢と、浴槽中で増殖する細菌叢があり、双方での微生物汚染が確認された。浴槽の細菌叢は洗浄・消毒後短時間（1～3日）で復元されることが明らかとなり、毎日の完全換水と浴槽の徹底洗浄が必須であることが確認された。

4. 紫外線殺菌装置の有効性評価

貯湯槽でレジオネラ属菌が増殖する施設では、湯口間近の配管に紫外線殺菌装置を設置することで湯口水（吐出湯）のレジオネラ属菌を不検出にできた。しかし、消毒効果が残存しないため、浴槽内でのバイオフィーム対策を充分検討する必要がある。また、鉄濃度の高い泉質等では紫外線照射管の汚れを1週間1度以上の頻度で洗浄、メンテナンスする必要がある。

5. 掛け流し式温泉における病原微生物汚染の実態調査

全国 13 府県掛け流し式温泉 200 施設で病原微生物汚染及び施設状況を調査した結果、浴槽及び湯口でのレジオネラ属菌検出率はそれぞれ 41%、24%で双方でのバイオフィーム対策が必要であった。貯湯槽泉温 55℃以上、pH6.0 特に 3.0 未満(酸性泉)、硫黄泉ではレジオネラ属菌検出率が低く、一方アルカリ性単純温泉、塩化物泉では高率に検出された。洗浄方法ではブラシ主体の洗浄の有効性が確認された。この 2 年間の調査では塩素

消毒を24%の施設で行っていたが、レジオネラ属菌に対する有効性は確認できなかった。

6. 浴槽水から分離された黄色ブドウ球菌および緑膿菌の薬剤耐性調査

病原微生物汚染実態調査で得られた黄色ブドウ球菌 83 株及び緑膿菌 45 株の薬剤耐性を検査し、1 株がメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) と同定された。バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (VRSA)、多剤耐性緑膿菌に該当する菌株はなかった。

7. ATP ふき取り検査を指標とした浴槽の洗浄効果判定

レジオネラ属菌の検出率は ATP 値が 1,000 RLU を超えると急激に増加するため、洗浄前後の ATP ふき取り検査の清浄度基準値を、暫定的に 1,000 RLU と設定した。浴槽の ATP 値レベルは、洗浄前、洗浄後でそれぞれ 7,447 RLU、1,341 RLU であり、材質及び洗浄方法により除去率が異なった。ATP 値を指標として洗浄方法を最適化することは、浴用施設のレジオネラ属菌対策に有効と考えられた。

8. 掛け流し式温泉施設に対するアンケート調査

衛生管理の実態を把握するため、全国 120 施設の温泉旅館から得られた回答を解析した。消毒なし 65%、自前の貯湯槽あり 49%、毎日完全換水 72% など前記実態調査と概ね同じ管理状況の傾向を把握した。一方、浴槽容量 20m³ 以上が 45% と多く、温泉旅館の浴槽の大型傾向であることがわかった。満水に要する時間が 24 時間以上の施設が 21 施設あるなど、施設設計上の問題点を明らかにした。

9. 微生物汚染に対する重要管理点の整理と対策事例収集

HACCP システムの概念を導入する前提として、源泉、配管、貯湯槽、湯口及び浴槽の各地点において温泉の性状、構造、管理など衛生管理の重要ポイントを特定し、その危害、対策を整理するとともに対策改善事例を収集した。

総合的な観点から掛け流し式温泉の衛生管理に資する有効な知見を得た。

分担研究者氏名・所属機関名・職名

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

その現状も不明な点も多く、また、泉質によっては塩素消毒が適用できない事もあり、安全性の確保に不確定な要素が残る。一般的には安全性が確保できる場合は塩素等無添加で利用することが望ましい。そこで、掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法を確立する事を目的として、平成 17~18 年度にかけて掛け流し式温泉の構造設備や衛生管理状況の現状分析、微生物学的汚染に係る諸要因の検討ならびに実態調査等を実施した。特に平成 18 年度は浴槽の洗浄効果判定の迅速な指標に資するため、簡易 ATP ふき取り検査を導入するとともに衛生管理手法の改善を目指して、HACCP システムに基づき重要管理点を選定し、その危害および対策を整理した。さらに対策、改善事例集を収集した。

A. 研究目的

循環式浴槽によるレジオネラ属菌集団感染の多発を契機に、レジオネラ属菌に対する規制や塩素消毒の徹底が図られてきた。一方、掛け流し式温泉では

B. 研究方法

1 「掛け流し式温泉」の定義

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

2 研究の方法

(1) 温泉における微生物汚染ポテンシャルの評価

全国13府県の温泉施設から82件の湯口水を採取し、同化性有機炭素(AOC)、全有機炭素(TOC)、アデノシン三リン酸(ATP)、全細菌、レジオネラ属菌等について解析を行った。

(2) 貯湯槽のバイオフィーム生成量調査

5施設の貯湯槽にシリコンゴム板を浸漬し、貯湯槽水および試験片上の微生物量を経時的に調査した。モデル貯湯槽を用い、水温と水質を変化させた場合の水中及び付着微生物量を経時的に測定した。

(3) PCR-DGGE法による細菌叢の解析

5施設の掛け流し式温泉において、源泉、貯湯槽、湯口、浴槽の各ポイントで温泉水を採取し、PCR-DGGE法(Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動)を用いた浮遊微生物叢の解析を行った。

(4) 紫外線殺菌装置の有効性評価

泉質の異なる3施設の温泉供給配管に流水式紫外線殺菌装置(岩崎電気株式会社)を設置し、湯口、浴槽等のレジオネラ属菌等の挙動を調査した。

(5) 微生物汚染及び衛生管理等の実態調査

全国13府県の掛け流し式温泉200施設を対象に施設設備、衛生管理及び微生物汚染の実態調査を実施した。施設状況については、地方衛生研究所あるいは保健所職員による現地確認を基本とした。浴槽、湯口、貯湯槽、源泉から433件の試料を採取し、レジオネラ属菌をはじめとする各種病原性細菌の汚染実態を調査した。

(6) 浴槽水から分離された黄色ブドウ球菌および緑膿菌の薬剤耐性調査

病原微生物汚染実態調査で分離された黄色ブドウ球菌83株と緑膿菌45株について、薬剤耐性を調査した。

(7) ATPふき取り検査を指標とした浴槽の洗浄効果判定

全国10府県、13施設の掛け流し式温泉を対象に、清掃の各段階で浴槽内壁のATP値を測定し、一部の検体はレジオネラ属菌等の微生物検査を行った。

(8) 掛け流し式温泉施設に対するアンケート調査

全国旅館生活衛生同業組合連合会の協力のもと、掛け流し式温泉を標榜する全国190ヶ所の温泉旅館施設に対して、施設の状況及び温泉管理の方法等についてのアンケート調査を実施した。

(9) 掛け流し式温泉施設の衛生管理

研究班の分担研究者および研究協力者から、衛生管理の重要ポイント及びレジオネラ対策事例を収集した。

(倫理面への配慮)

実態調査でレジオネラ属菌が検出された場合、守秘の原則で施設責任者に対して通知し、自主的な改善を求め、継続的な指導を行う事により、研究対象者に対する不利益、危険性の排除に努めた。

C. 研究結果及び考察

I 温泉における微生物汚染ポテンシャルの評価

源泉に含まれる微生物が利用可能な有機炭素量(AOC、TOC)は源泉ごとに異なると推測され、平成17年度の予備的な調査では源泉のAOC濃度が高い施設にレジオネラ汚染が見られた。平成18年度は調査施設数を拡大し、さらにバイオマス指標として全細菌数、ATP量を測定し、微生物汚染ポテンシャルとレジオネラ汚染との関係を解析した。酸性泉や一部の硫黄泉では明らかに測定阻害が認められたため、検水をpH6~7に調整し10倍希釈液を用いてAOC値(Dilution-AOC)を算出し、評価した。

バイオマス量の指標となる全細菌とATPの間には高い相関が認められ、ATPは全細菌の指標である事が明らかになった(図1)。全細菌及びATP値は従属栄養細菌数(HPC)の間には明瞭な相関は

認められず、全細菌に占める HPC の割合は温泉毎に多様と考えられた。AOC と TOC との間に相関は見られなかったが、両有機炭素とも全細菌及び ATP と有意な相関を示し、温泉中に含まれる有機炭素量に応じて微生物が増殖する結果と考えられた (図 2)。有機炭素量とレジオネラ属菌検出には直接的な相関は見られないが、レジオネラ属菌検出は泉質によって大きく異なり、レジオネラ属菌が検出される場合はバイオマス量に応じてその菌数が増加した (図 3)。結論として、有機炭素量の多い温泉ではバイオマスが増加し、レジオネラ属菌はその増殖に好適な泉質や温度、pH などの性状の温泉ではバイオマスと相関して増殖すると考えられた (図 4)。ATP 量は現場で簡便・迅速に測定することが可能であり、湯口水の ATP を測定することで、レジオネラ属菌数の増加を未然に探知できる可能性を示した。

なお、酸性泉は中性～アルカリ性に比し有機炭素量(AOC、TOC)とバイオマス量(全細菌、ATP 値)とも有意に高く、酸性泉はレジオネラ属菌の生息に適さないものの、酸性を好む微生物が増殖しやすい環境であると推察された。

II 貯湯槽のバイオフィーム生成量調査

貯湯槽内でのバイオフィーム生成及びレジオネラ属菌定着増殖の評価についての基礎データを得るため、貯湯槽内に図 5 に示すシリコンゴム板を空気に露出しない深さに浸漬し、定期的に取り出し、レジオネラ属菌数など付着したバイオフィームの微生物量を測定した。5 施設で実施し、全ての施設で経時的にバイオフィームの生成が確認された。18℃と低水温の施設では、一般細菌、HPC、アメーバ類とも貯湯槽、シリコンゴム板の両方で高く、3 ヶ月目からシリコンゴム板にレジオネラ属菌が定着した。水温 48～53℃の 4 施設のうち、50℃以上の 2 施設では貯湯水の微生物は少なく、シリコンゴム板の一般細菌、HPC は経時的に増加したが、ともにレジオネラ属菌の定着は認められなかった。水温 48℃とやや低い 1 施設では他と比較して一般細菌、HPC

は多くないがシリコンゴム板へのレジオネラ属菌の定着が 2 ヶ月目に認められた。50℃未満の貯湯槽では、清掃後 2～3 ヶ月でレジオネラ属菌が定着すると考えられた。

貯湯槽のモデル水槽(ポリプロピレン製 10L 角型水槽)を用いて、水温と水質を変化させ、水中及びシリコンゴム板付着の微生物類を経時的に測定した。汚染を受けた浴槽水(レジオネラ属菌 10 CFU/100ml 未満、HPC 等多数) 使用時のレジオネラ属菌増殖経過を図 6 に示す。40℃では水中及びシリコン板ともに 2 日目から急激に増殖し、14 日では水中で 10^5 CFU/100ml 検出された。一方、50℃以上では水中での濃度は低く、55℃では全く検出されなかったが、シリコン板上では 50℃、55℃とも 100 CFU/ml 程度検出された。以上の結果から、水温が 45℃以下では水中及び付着性の微生物類が増殖しやすいが、50℃以上では微生物類の増殖程度が著しく低いことがわかった。このため、貯湯槽の水温を 50℃以上に維持する事は微生物類の増殖抑制に有効であると考えられた。ただし、50℃以上であってもバイオフィーム中にレジオネラ属菌は生息している可能性があり、定期的な洗浄消毒は必須と考えられた。

III PCR-DGGE 法による掛け流し式浴槽等環境中の細菌叢の解析

掛け流し式施設の貯湯槽、配管、湯口、浴槽より試料を得て PCR-DGGE 法を用いた細菌叢の解析を実施した。配管前後でパターンを比較すると、配管汚染の反映と考えられる優占種の交代が認められ、汚染の存在を明らかにする方法として有効であった (図 7、レーン 1、2)。バンドパターンの比較から、配管を通過する間に配管の汚染を受けて優占微生物種が変化する場合と、源泉の増殖ポテンシャルが高く貯湯槽から配管まで同じ微生物叢で占められる場合が認められた。一方、湯口と浴槽の DGGE パターンを比較すると、1 施設では湯口と浴槽水のバンドパターンに変化が認められなかったものの (レー

ン 3、4)、他の 3 施設では浴槽水において新たに強いバンドが出現しており (レーン 8、12、16)、浴槽中で細菌の相転移が確認された。前者は浴槽水の換水・洗浄が徹底されている施設と考えられ、後者は浴槽水に固有の DGGE パターンが出現していることから浴槽の清掃不備が指摘される。なお、施設間の比較では、湯口、浴槽水を問わずバンドに共通性が低く、それぞれの施設で固有の細菌叢が増殖しているものと考えられた。

浴槽に固有の細菌叢が発達することが確認された H 温泉に集中して、質的な検討を行なった (図 8)。湯口より上流の貯湯槽、配管では共通のパターンが得られたが (レーン 1、2、4、5、6、9、12)、浴槽の細菌叢は湯口とは異なっていた (レーン 3、7、8、10、11)。当該施設はレジオネラ属菌の発生に苦慮していたことから、物理洗浄と高濃度塩素による徹底的な浄化を行った。洗浄直後の浴槽では湯口と同じパターンが得られたが (レーン 14、15)、1 日経過後には最も強いバンドが回復し (レーン 16)、3 日経過後には洗浄前とほぼ同じパターンとなり (レーン 20)、レジオネラ属菌も検出された。この結果から、毎日の完全換水と浴槽の徹底洗浄が必須であることが改めて確認された。

DGGE 法並びにコロニー PCR 法から得られた配列のアライメントを図 9 に示した。浴槽では *Tepidimonas* と *Sphingomonas* が高い割合で分離されるが、湯口からはほとんど分離されないなど、浴槽から分離される細菌叢は湯口より上流から分離されるグループと系統的に異なる傾向があると考えられた。また、DGGE 法で同定された細菌類には *Tepidimonas*、*Luteococcus*、*Pseudomonas*、*Mycobacterium*、*Staphylococcus* など病原種を含む属も含まれていた。多くは環境分離株の配列と一致していたが、ヒトとの関連性については今後とも注意していく必要があると考えられる。

IV 紫外線殺菌装置の有効性評価

掛け流し式温泉の浴槽水中のレジオネラ属菌抑制

対策として、紫外線殺菌装置の有効性を確認するため、3 温泉施設の協力を得て供給湯配管に流水式紫外線殺菌装置を設置し、浴槽水のレジオネラ属菌等の挙動を調査した。湯温が 50°C 未満で貯留し、貯湯槽及び以降の系統でレジオネラ属菌が定着する可能性がある施設において、紫外線処理は湯口水 (吐出湯) のレジオネラ属菌を不検出にすることができ、有効であることが確認された (表 1)。

紫外線殺菌装置を設置する際の問題点としては、殺菌作用に塩素消毒のような残存効果がないため、殺菌後の配管や浴槽でのバイオフィルムの定着及びレジオネラ属菌の増殖が懸念される。装置はできるだけ湯口 (吐出口) に近い場所に設置し、湯口までの配管を極力短くすること、及び、紫外線照射後の配管を容易に取替え可能な構造にするなどの配慮が必要である。また、浴槽の内壁にレジオネラ属菌が定着している場合は、湯口のレジオネラ属菌数が不検出であっても浴槽水から 100 CFU/100ml 以上の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が、清掃・消毒の効果を最大限に発揮するためには、浴槽壁の材質や構造にも配慮すべきである。微生物が浸透しないような材質を採用した上で、目地等に隙間を作らないように施工・管理し、できるだけ平滑な浴槽内壁とすることが重要である。また、温泉の泉質によっては、紫外線ランプの石英ジャケット管に汚れが付着し、紫外線の照射線量を低下させ、殺菌効果を低下させる場合があるので、こまめに (1 週間に 1 度以上) 清掃を行なう必要がある。

紫外線処理は、温泉の泉質を変化させることなく装置出口のレジオネラ属菌を陰性にすることが可能であるが、浴槽でのレジオネラ属菌不検出を保障するものではない。設置の際には、配管、浴槽の構造、洗浄方法等を含めたレジオネラ属菌汚染対策を総合的に検討するなかで、湯口水の陰性化を確実にするための一つの手段として考慮すべきである。

V 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—

1 施設状況調査結果

全国 13 府県、200 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 206 件、湯口 164 件、貯湯槽 26 件、源泉 37 件の計 433 件の温泉水を採取し、微生物汚染状況を調査した (表 2)。

(1) 源泉の状況

鉱泉分析法指針の療養泉の分類に従った泉質では、塩化物泉及び単純温泉が比較的多く、硫黄泉、硫酸塩泉が次いだ (表 3)。泉温は 50°C 以上が 63% で、60°C 以上は 30% であった。微生物汚染との影響を評価する際には、200 施設から得られた 46 種の泉質を本研究班独自の基準で 8 グループに再分類した (表 4、図 10)。

(2) 衛生管理状況

浴槽水を消毒している施設は 26% で、消毒方法は塩素によるものが 90% を占めた (図 11、表 5)。消毒剤の注入方法は浴槽への投げ込みが 45% (22/49) と最も多く、貯湯槽や配管等の湯口よりも上流側での消毒は 43% (21/49) であった (図 12)。貯湯槽を有する施設は 58% で (図 13)、貯湯槽の推定温度は 50°C 以上が 55%、60°C 以上が 31% であった (図 14)。定期的に清掃している施設は 57% で (表 6)、その清掃頻度は月 1 回以上が 39% を占める一方、半年以上の間隔で清掃する施設が 47% を占めた (表 7)。源泉から施設に至る配湯管本管及び施設内配湯管を清掃していない施設はそれぞれ 69%、65% と高率であった (表 8、9)。

浴槽の容積は 5m³ 未満の小規模なものが 54% を占め、材質は約半数の施設がタイルあるいは石を使用していた。218 浴槽のうち 12 浴槽 (5.5%) で循環配管の存在が明らかとなったため、検査結果の解析からは除外した (表 10)。浴槽水の完全換水頻度は毎日が 74% を占める一方、2 日に 1 回が 11%、3 日以上も 14% にみられた (図 15)。浴槽容量と補給湯量から算出した浴槽水の換水率 (1 時間あたりで浴槽水が入り替わる回数) は 0.2 回/h 未満の施設が

45% で最も多かった (図 16)。浴槽の洗浄方法は 162 施設 (88%) でブラシを使用しており、63 施設 (34%) はブラシと洗剤を併用、41 施設 (22%) はブラシと毎日消毒を併用していた。一方、高圧あるいは消毒を主体としてブラシを使用していない施設が 23 施設 (12%) あった。

泉質別に管理状況の違いを比較した (図 17)。酸性泉を利用する施設では、それ以外の泉質と比較すると消毒を実施している施設が稀であり (消毒有: 酸性泉 5%、その他 31%)、貯湯槽を有する施設が少なく (貯湯槽有: 酸性泉 21%、その他 68%)、浴槽水を毎日換水せず 2 日以上利用する施設が多かった (毎日換水: 酸性泉 42%、その他 81%)。

2 検査結果

(1) 調査地点別 病原微生物等検出状況 (表 11)

(a) レジオネラ属菌

全試料 433 件中 132 件 (30.5%) からレジオネラ属菌が検出された。その内訳は浴槽 40.8%、湯口 23.8%、貯湯槽 23.1%、源泉 8.1% で、浴槽から高率に検出された。貯湯槽及び湯口は同程度の検出率であり、温泉水が源泉から浴槽に至る経路に従って源泉<貯湯槽=湯口<浴槽の順に検出率が増加した。検出されたレジオネラ属菌の平均値は源泉で 77 CFU/100ml と低く、貯湯槽及び湯口では 200 CFU/100ml 前後、浴槽で 463 CFU/100ml と浴槽に近づくに従い菌数が増加する傾向が見られた。同一施設で浴槽とその上流にあたる湯口等をペアで調査した 150 施設中 62 施設からレジオネラ属菌が検出され、36/62 施設 (58%) は湯口等が陰性で浴槽のみからの検出であった (図 18)。

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 132 件中 112 件 (84.8%) から分離同定され、その血清群別の検出数は、血清群 1、3、5、6 が同程度の検出数であった (図 19)。遊離残留塩素が 0.2 mg/L 以上検出される試料から *L. pneumophila* 血清群 1 は分離されず、塩素消毒によって血清群 1 が選択的に増加するという傾向は特に認められなかった。

(b) アメーバ

アメーバは 407 件中 70 件 (17.2%) から検出された。レジオネラ属菌と同様に浴槽から高率 (29.1%) 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 26 件中 5 件 (19.2%) から検出された。

(c) 抗酸菌の検出状況

抗酸菌の分離培養を行った 401 件中 10 件 (2.5%) から抗酸菌が検出された。試料種別は浴槽 9 件 (4.6%)、貯湯槽 1 件 (4.0%) であった。

(d) 大腸菌、大腸菌群

大腸菌は 396 件中 88 件 (22.2%) から検出された。浴槽では 206 件中 80 件 (38.8%) と高頻度に検出されるのに対し、貯湯槽は 22 件中 2 件 (9.1%)、湯口は 137 件中 6 件 (4.4%) であった。また、大腸菌群は 394 件中 110 件 (27.9%) から検出された。大腸菌と同様、浴槽から 47.1% と高頻度に検出された。

(e) 緑膿菌、黄色ブドウ球菌

緑膿菌及び黄色ブドウ球菌ともに浴槽から高頻度に検出され、検出率はいずれも 29.6% であった。浴槽における緑膿菌の平均検出菌数は 229 MPN/100 ml、最大値 2,400 MPN/100ml であり、WHO ガイドラインに示された管理基準値 (残留消毒剤を使用しない天然温泉 (natural spa) : 10/100ml 未満) を超える試料は 203 件中 32 件 (15.8%) であった。また、黄色ブドウ球菌の浴槽水における平均検出菌数は 150 MPN/100ml、最大値は 2,400 MPN/100 ml であり、WHO ガイドラインに示された目標値 (プールで健康被害が疑われた場合 : 100 /100ml 未満) を超える試料は 203 件中 13 件 (6.4%) であった。

(f) 従属栄養細菌数 (HPC)

清浄度の指標となる従属栄養細菌数は、浴槽での平均値が 3.5 log CFU/ml で、湯口及びその上流域と比較して有意に高かった。浴槽では 4~5 log CFU/ml の階級での頻度が高く、最大値は 6.9 log CFU/ml であった。

(2) レジオネラ属菌と関連する検査項目

従属栄養細菌、一般細菌、アメーバ、全有機炭素

(TOC) について、レジオネラ属菌陽性試料と陰性試料の平均値を比較した。従属栄養細菌数、一般細菌数及びアメーバ数は、レジオネラ属菌陽性試料の平均値が陰性試料と比較して有意に高かったが

(Mann - Whitney U test、 $P < 0.001$)、TOC に有意差は見られなかった (表 12)。特に、従属栄養細菌数については、菌数が高い場合にレジオネラ属菌数も高くなる傾向がみられたが、一般細菌数及びアメーバ数には同様な傾向は認められなかった。

(3) 温泉の性状と病原微生物検出率

(a) pH (表 13、図 20)

レジオネラ属菌の検出率は、pH 6.0 以上で 40% 程度と高率に検出され、一方、pH 3.0-5.9 の弱酸性泉では検出率が 15.0% に低下し、pH 3.0 未満の酸性泉では 78 件すべて陰性であった。レジオネラ属菌の増殖に関与するアメーバは、レジオネラ属菌と同様に pH 6.0 以上の中性~アルカリ性領域で 20.1~26.4% と高率に検出されるものの、pH 6.0 未満では 96 件すべて陰性であり、pH 6.0 を境に検出率に有意な差がみられた。従属栄養細菌数の平均値でも同様の傾向が認められ、酸性泉、弱酸性泉では菌数が有意に低下した。他の病原微生物についてもすべて pH 6.0 未満では検出率が有意に低下した。

(b) 温度 (表 14、図 21)

レジオネラ属菌は 50°C 以上で検出率が有意に低下した。50°C 未満の検出率は 31.6~40.4% で、50°C 以上 55°C 未満の階級では 11.1% に低下し、55°C 以上では 3.4% で 29 件中 1 件のみの検出であった。アメーバは 40°C 未満で 34.1% と最も高い検出率を示し、40°C 以上 45°C 未満で 20.2%、45°C 以上 50°C 未満で 9.1% と温度の上昇に伴って検出率が低下し、50°C 以上の 60 件はすべて陰性であった。

(c) 遊離残留塩素濃度 (表 15、図 22)

塩素消毒を実施している施設が少ないため 0.2mg/L 未満の試料が 90.5% (392/433) 占め、遊離残留塩素が検出された試料は 33 件 (7.6%) にとどまった。

レジオネラ属菌の検出率は 0.2 mg/L 未満で 32.1% (126/392)、0.2-0.4 mg/L で 23.5% (4/17)、0.5-0.9 mg/L で 20.0% (2/10) と塩素濃度の上昇に

伴ってわずかながら検出率の低下がみられ、1.0 mg/L 以上では 6 件すべて陰性であったが、件数が少ないことから有意差は認められなかった。

浴槽水での消毒効果を確認するため、遊離残留塩素が 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 23)。アメーバ及び大腸菌群については 0.2 mg/L 以上検出された試料で検出率が有意に低下し、従属栄養細菌においても有意な菌数の低下が認められた。レジオネラ属菌、大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌では有意差はなかったものの、0.2 mg/L 以上の試料で検出率の低下がみられた。

(d) 泉質 (表 17、図 24)

レジオネラ属菌の検出率は、アルカリ性単純温泉が 55.0%と有意に高く、塩化物/炭酸水素塩泉、塩化物泉がそれぞれ 43.9%、43.4%と同程度の検出率であり、次いで硫酸塩泉、単純温泉がそれぞれ 32.6%、30.0%で全体の平均検出率と同程度であった。一方、硫黄泉、酸性泉はそれぞれ 19.6%、3.3%と有意に低く、特に酸性泉は 92 件中 3 件と極めて低い検出率を示した。酸性泉については、アメーバ、抗酸菌、大腸菌、大腸菌群、緑膿菌のいずれも全く検出されず、従属栄養細菌数も有意に低下したが、黄色ブドウ球菌では 91 件中 7 件 (7.7%) 検出された。

(4) 施設・設備の衛生管理と微生物汚染

(a) 貯湯槽 (表 18、図 25)

レジオネラ属菌がほとんど検出されない酸性泉では貯湯槽を使用しない施設が多いことから、酸性泉を除外した 346 件の検出率で比較した。その結果、貯湯槽の有無でレジオネラ属菌の検出率に差はみられなかった。

(b) 浴槽の材質

レジオネラ属菌が検出されないことが明らかな pH 3.0 未満及び遊離残留塩素が 1mg/L 以上検出された施設を除外して、浴槽の材質別にレジオネラ属菌検出率を比較した。石を使用した浴槽の検出率が 56.5%と最も高く、タイル及び木を使用した浴槽の検出率がそれぞれ 47.1%及び 44.4%と続き、コンクリートでは 33.3%と最も低い検出率を示したが、有意差は認められなかった。

(c) 浴槽の洗浄方法 (表 19、図 26)

レジオネラ属菌が検出されないことが明らかな pH 3.0 未満及び遊離残留塩素が 1mg/L 以上検出された施設を除外して、浴槽の洗浄方法別にレジオネラ属菌検出率を比較した。ブラシを使用せず高压水や消毒のみで洗浄を行っている施設の 68.4%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 62.1%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 50.0%と低下し、ブラシ洗浄のみあるいは高压水洗浄や週 1 回の消毒を補助的に使用している施設では 29.4%と低い検出率を示した。「ブラシ主体」と「ブラシなし」あるいは「ブラシ+消毒」との間には検出率に有意差が認められた。

(5) 温泉の利用状況と微生物汚染

(a) 浴槽水の換水率

レジオネラ属菌については換水率が 0.9 未満 (約 1 時間に 1 回の入れ替わり) であれば 52~66%と高い検出率を示したが、0.9 以上では 10%に低下し、0.1 未満と比較して有意差が認められた。アメーバでは有意差は認められなかったが、レジオネラ属菌と概ね同様の傾向を示した。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う傾向はみられなかった。

(b) 入浴者数及び採取時刻 (図 27、28)

ヒト由来と考えられる大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌については入浴者数が多い浴槽ほど、また、採取時刻が遅いほど検出率が有意に高くなった。一方、レジオネラ属菌は、入浴者数及び採取時刻ともに検出率と有意な相関は認められなかった。

(5) 多重ロジスティック回帰分析

(a) 温泉成分とレジオネラ属菌の検出要因

温泉分析書の入手が可能であった 142 施設から得た 365 件 (浴槽 169 件、湯口上流 196 件) を対象に、レジオネラ属菌汚染に影響を及ぼす温泉成分について多重ロジスティック回帰分析により検討した(表 20)。pH が 6.0 未満であれば全試料及び湯口上流でレジオネラ属菌の汚染リスクを有意に減少させた。浴槽では pH 6.0 未満の試料がすべてレジオネラ属菌陰性であったため、代わりに水素イオンがリ

スク低下因子として選択された。また、温度については 50℃以上で湯口上流及び全試料でのレジオネラ属菌汚染リスクを有意に減少させた。温泉成分としては、硫酸イオン ($\geq 600\text{mg/kg}$) 及び総硫黄 ($\geq 5.0\text{mg/kg}$) の濃度が高い場合は汚染リスクを低下させ、逆に塩化物イオン ($\geq 1000\text{mg/kg}$) の濃度が高い場合は汚染リスクを増加させた。

(b) 掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌の汚染リスク要因

レジオネラ属菌の検出に影響を及ぼす要因について、単変量解析で有意となった因子を説明変数として多重ロジスティック回帰モデルを作成し、レジオネラ属菌汚染のリスク因子を評価した(表 21)。55℃以上の温度は汚染リスクを低下させるほか、泉質では酸性泉が低下因子、アルカリ性単純温泉が増加因子と考えられた。また、有意ではないが塩化物泉、塩化物/炭酸水素塩泉は増加側に、硫黄泉は減少側に作用する傾向がみられた。浴槽でのリスク因子としてはブラシ主体による洗浄が汚染リスクを低下させ、逆にブラシを使用しない場合はリスク増加因子と考えられた。また、貯湯槽の存在は、湯口上流の汚染リスクを増加する傾向がみられたが、有意ではなかった。

3 実態調査の考察

(1) レジオネラ属菌等汚染のリスク因子について

本調査により、掛け流し式温泉では浴槽水の 40.8%から 10 CFU/100ml を超えるレジオネラ属菌が検出されるという汚染の実態が明らかとなった。検出された試料の 64%は 100 CFU/ml 未満であり、菌数としては比較的濃度の施設が多いが、汚染の事実を認識した上で施設の実情に合わせた対策を講じる必要がある。汚染場所としては、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。

汚染のリスク因子としては、本研究によって初めて泉質の影響が明らかとなった。アルカリ性単純温

泉では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。アルカリ性単純温泉においてリスクが増加する原因はよくわかっていないが、同化性有機炭素 (AOC) 濃度が高く従属栄養細菌が増加しやすいとの結果も出ており(本報告書、温泉における微生物汚染ポテンシャルの評価)、今後さらに評価を行う必要がある。また、塩化物泉においては 0.1%-0.5%の NaCl 濃度がレジオネラ属菌の生存率を高めるとの報告があり、本調査でも 1g/kg 以上の塩化物イオン濃度でリスクが高いことが示されたことなどから、レジオネラ属菌汚染と泉質との関係については今後さらに検討すべき課題と考えられる。これらのハイリスク群では、貯湯槽や配管の洗浄頻度を多くすることでバイオフィルムの蓄積を防ぐ等の一層の注意が必要であろう。

pH 及び温度の影響については、従来から指摘されている通り pH 6 未満及び 50℃以上では検出率が低下し、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という結果が得られた。温度については、レジオネラ属菌の増殖に関与するアメーバが 50℃以上では全く検出されないことから、55℃以上の維持は対策として非常に有効な手段と考えられた。温泉の pH を施設側でコントロールすることはできないが、温度は貯湯槽などの貯留施設自体を加温することで汚染を防ぐ指標として活用することが可能であり、汚染のリスクが高い泉質などでは充分考慮する必要があると考えられる。

また、浴槽の汚染においては、洗浄方法が重要なリスク因子であることが明らかとなった。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という結果が得られた。浴槽でレジオネラ属菌が検出される場合の 58%が湯口陰性・浴槽陽性であり、浴槽内での汚染が高率であることが明らかとなっているが、循環配管や温度センサー等がない掛け流し式の浴槽では、浴槽内壁自体がバイオフィルム提供の場となっている場合が少なくないと考えられる。入浴客が自然の景観を意識した石造りの浴槽を好むこともあり、洗浄効率を考慮しない設計がなされることが多く、結

果的に洗浄効果の劣る高圧洗浄に頼ることが推察される。できるだけブラシを使用した洗浄と洗浄後の高濃度塩素噴霧を心がけるとともに、毎日のブラシ掛けが困難な場合においても、ブラシを使用した定期的（隔日等）な徹底洗浄を励行することが重要と考える。

本調査においては浴槽水の消毒を実施している施設が26%にとどまり、0.2mg/L以上の遊離残留塩素が検出された試料も全体の8%に満たなかったことから、塩素消毒の効果を論じるにはデータが不足しているが、1mg/L未満の濃度では22%（6/27）の試料からレジオネラ属菌が検出されており、消毒の有意な効果は確認できなかった。消毒効果を得るためには、泉質に応じた適切な濃度を維持して接触時間を充分にとることが重要であるが、掛け流し式では循環式に比較して消毒効果が得られにくいことを認識すべきである。また、浴槽水の消毒を行う場合であっても、管理の基本は施設・設備の徹底洗浄であること指摘したい。

(2) ヒト由来微生物汚染のリスク因子について

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ガイドラインに示された管理基準値10/100ml未満を超える菌数が15.8%の浴槽から、また、黄色ブドウ球菌についてはWHOに示された目標値30/100ml未満を超える菌数が6.4%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、大腸菌は入浴者による糞便汚染を示し、また、緑膿菌や黄色ブドウ球菌は毛囊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注意を払わなければならない病原体と考えられた。

これらのヒト由来病原体は浴槽内での汚染が問題となるため、温度による制御は困難であるが、レジオネラ属菌と同様にpH 6.0未満ではリスクが低下すると考えられた。泉質としては塩化物/炭酸水素塩泉で検出率が高くなる傾向がみられたが、有意ではなかった。浴槽内での汚染の動向をみると、いずれの病原体も入浴者数が多いほど、また、採取時刻が

遅いほど検出率が明らかに高くなることがわかった。採取時刻の影響は入浴者数の増加と同義と考えられることから、浴槽水の消毒を行わない施設においては、当然のことながら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。

VI 浴槽水から分離された黄色ブドウ球菌および緑膿菌の薬剤耐性調査

掛け流し式温泉の病原微生物汚染実態調査で、浴槽水等から分離された黄色ブドウ球菌および緑膿菌の薬剤耐性を検査し、感染症法の届出疾患（5類）の原因菌とされるバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌（VRSA）、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、多剤耐性緑膿菌の浴槽水への汚染の有無を調査した。

9 地方衛生研究所が34カ所の浴槽水や湯口水から分離した黄色ブドウ球菌83株のうち、1株がオキサシリンに対するMICが $>256 \mu\text{g/ml}$ （Eテスト）と高度耐性を示し、PCR法で*mecA*遺伝子の保有が確認され、MRSAと同定された。VRSAに該当する菌株はなかった。

7 地方衛生研究所が16カ所の浴槽水や湯口水から分離した緑膿菌45株に、多剤耐性緑膿菌に該当する菌株はなかった。

今回の掛け流し式浴槽水の調査において、MRSAは、黄色ブドウ球菌が分離された浴槽水や湯口水の2.9%（1/34）にみられた。浴槽水からのMRSAの分離は、ヒトの保菌を反映したものであるが、黄色ブドウ球菌がバイオフィームを形成しやすい菌であることから浴槽等の環境に定着している可能性もあり、今後、浴槽水を感染源とするMRSA感染症の発生に注意を払う必要がある。

Ⅶ ATP 拭き取り検査による浴槽の洗浄効果判定

浴槽からレジオネラ属菌が検出された掛け流し式温泉施設において、ATP 拭き取り検査が入浴施設のバイオフィルムのモニタリングに活用可能か、また、洗浄方法の最適化の指標となり得るかについて、実際の入浴施設で評価を行った。全試料の ATP 値は幾何平均値で洗浄前 7,447 RLU が洗浄後は 1,341 RLU と 82.0%低下し、消毒後ではさらに 44 RLU と最終的に 99.4%の低下を認めた (表 22)。洗浄方法別で比較すると、図 29 に示すように ATP 値は洗浄前 7,447 RLU からブラシのみで 946 RLU と低下するが、高压洗浄では 11,962 RLU と効果が認められず、実態調査の成績を裏付ける結果が得られた。一部、ATP 拭き取り検査と共に従属栄養細菌(HPC)及びレジオネラ属菌検査を実施した。ATP 値と HPC とには正の相関が認められ、1,000 RLU 以上で特に相関が高い傾向を示した (図 30)。レジオネラ属菌が陽性となる比率は、ATP 値 1,000 RLU 未満で 27.6%に対し 1,000 RLU 以上では 65.0%と高く、オッズ比は 4.9 であった (表 23)。ATP 値の累積相対度数分布を図 31 に示すが、レジオネラ属菌陰性検体の 70%は ATP 値 1,000 RLU 未満に分布するのに対し、陽性検体は 20%程度にとどまり、1,000 RLU を超えると急激に増加した。洗浄方法別拭き取り検査の累積相対度数分布を図 32 に示すが、洗浄前と高压洗浄は同程度の分布を示し、洗浄効果は認められない。一方、ブラシ洗浄を行った場合は 1 log (1/10) 低下し、塩素消毒を行うとさらに 2 log (1/100) 低下した。以上の結果から ATP 値 1,000 RLU を浴槽洗浄後の清浄度基準値と暫定的に設定した。この基準値で見ると、洗浄前の試料の約 85%が基準値を超え、ブラシ洗浄後 50~60%に減少し、消毒後では 7~8%にとどまった。

各研究者の別添「施設別 ATP 拭き取り検査報告書」から抜粋した ATP 拭き取り検査の効果及び問題点を略記すると、導入による効果としては、①汚染程度の数値化、②現場での迅速、簡便検査、③汚染場所の特定、④洗浄効果判定の指標等、問題点及び課題としては①サンプリングなどで時に再現性

の問題、②評価基準が未定(当研究班で設定)③阻害物質の影響の可能性等が指摘されている。しかし、若干の問題点があるが、掛け流し式温泉の浴槽の衛生管理に ATP 拭き取り検査の積極的導入を評価する意見が大勢を占めた。浴槽の清浄度基準を暫定的に 1,000RLU と設定した。今後、保健所の監視業務の指導材料及び現場従業員への習慣的作業の判断指標や衛生教育のツールとして、広く活用される事を期待する。

Ⅷ 掛け流し式温泉に対するアンケート調査

掛け流し式温泉の管理などの実態を把握するため、全国旅館生活衛生同業組合連合会の協力を得て、掛け流し式を標榜する全国 190 ヶ所の温泉旅館施設を対象として、平成 17 年度にアンケート調査を実施した。29 道県 120 施設から回答が寄せられ、回収率は 63%であった。アンケート結果の解析には数量化Ⅲ類を用い、質問項目間の関連性を加味しながら解析した。まずは当研究班で事前に定めた掛け流し式温泉の定義に照らして見ると、回答を寄せた 120 施設中循環配管なしは 86%、有りが 14%、設置の目的は温度調整が 53%と最も多かった。実態調査での 5.5%より高率で、一部循環式浴槽を用いている施設が混入していた。第 2 の定義、毎日完全換水は 72%で、実態調査の結果 74%とほぼ同一であった。週に一度が 18%であった。泉質は実態調査とほぼ同じで塩化物泉 26%、単純泉 23%、硫黄泉 16%と多かったが、異なる点はいずれ放射能泉が 12%と高かった事である。また実態調査とは浴槽容量が大きく異なり 5 m³ 以下が 54%に対し 11%と少なく、20 m³ 以上が 8%に対し 45%と多く、調査対象となった旅館の浴槽の大型傾向が伺えた。到着時の温泉温度は 60℃以上 24%、50~60℃が 28%、50℃未満が 48%であり、湯の供給形態としては貯湯槽有りが 49%、無しが 42%、集中の供給システムからの分散が 9%であった。消毒に関しては塩素消毒 25%、消毒無し 65%と実態調査とほぼ同じ傾向を示した。レジオネラ属菌検査を「行っている」80%、「行って

いない」20%の認識であるが、陽性になった場合の対応等が不明で更なる普及啓発が必要である。今回のアンケート調査対象には、一部循環式浴槽の施設が入っているが、掛け流し式では半数以上が毎日浴槽の水抜き清掃し、消毒無しが70%に昇るのに対し、循環式では浴槽の水抜き清掃の頻度が週1回程度と少なく、塩素消毒は65%の施設で実施していた。泉質が酸性の施設では浴槽の水抜き清掃の頻度は毎日と週1回程度が半数ずつで、消毒は全く行っていなかった。レジオネラ属菌等の微生物の発生や定着、残留を除くためには、浴槽の湯を抜いた状態での清掃と消毒は不可欠であり、浴槽容量が補給湯量にフィットしていないと推定されるケースもあり、妥当な施設設計が望まれる。実態調査とは若干異なる点も認められるが、旅館業での掛け流し式温泉の構造や衛生管理の実態が明らかになった。

IX 掛け流し式温泉施設の衛生管理

掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌の発生を予防するために、HACCPの導入の検討を行い、更に導入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を選定、整理した(表24)。HACCPシステムは、一般的衛生管理が確実に行われた上で、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事で、現場での管理に役立つ情報の提供を試みた。自然界に広く分布するレジオネラ属菌の増殖を抑制するための衛生管理を行うには、温泉設備のあらゆる地点を対象としなければならない。そこで、研究班の分担研究者及び協力研究者が一体となって情報の提供を行い、各設備における重要ポイントを挙げ、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(表25、例示)。更に、分担研究者及び協力研究者から、浴槽のレジオネラ対策で経験した種々の事例について情報を収集し、対策事例集としてまとめた(表26、例示)。この検討結果が実際の温泉施設の衛生管理に役立つ事を期待したい。

D. 結論

これまで記した検討課題の結果は重複を避けるためここでは触れないが、全ての検討課題の結果から演繹される掛け流し式温泉のリスク要因をピックアップし表27に示した。pHと泉温は大変重要な性状で、pH6以上がハイリスク、pH3未満がローリスクであり、温度は50℃未満がハイリスク、55℃以上はローリスクと考えられる。泉質によっても影響を受け、アルカリ性単純温泉、塩化物/炭酸水素塩泉、塩化物泉はハイリスクで、微生物増殖ポテンシャルやスケールのでき易さ、除きにくさ等が関与しているものと思われる。このような泉質では洗浄に先立ち塩酸等を用いて、スケールの除去が必要である。硫黄泉あるいは酸性泉(pH3未満)はローリスクである。表26の対策事例からも理解されるように、貯湯槽は構造上のバイオフィーム定着のチェックポイントである。浴槽の材質では平滑でない石、くぼみや目地、破損部位で水の滞留や洗浄不良を招くため、バイオフィーム定着増殖の好発部位となり、逆に平滑なコンクリートはローリスクの傾向にある。洗浄方法では高圧洗浄で洗浄効果が認めにくく、ブラシでの徹底洗浄と洗浄後の高濃度塩素噴霧による殺菌が有効である。また、掛け流し式温泉の定義に立ち返って、浴槽の循環系の配管は可能な限り取り去り、毎日完全換水と清掃に務めることが肝要である。これらの条件を考慮し施設状況に応じた洗浄、消毒、検査頻度等を確立する事が重要である。

2年間の研究事業を通じて、掛け流し式温泉の衛生管理に関して、分担研究者及び協力研究者から多くの指摘、意見が寄せられた。ここでその意見を集約した。

1 浴槽での衛生管理

浴槽の毎日完全換水は74%であり(図15)、可能な限り毎日換水に務める。浴槽の衛生状態を確認するため、湯口と浴槽水両方のレジオネラ属菌等の検査を行い、汚染部位を特定し、対策につなげる。浴槽の清掃方法として洗剤や塩素消毒の効果を過信せず、タイル、石組み、木組みの目地などバイオフィーム形成のハイリスク部位を物理的に徹底洗浄するとともに、欠損部位は速やかに補修する。毎日洗浄に際

しては、木などを除き可能な材質ならブラシ洗浄⇒水洗い(高圧)⇒塩素消毒の手順が大切である。ATP拭き取り検査など簡便で迅速な方法で洗浄効果をチェックする事も有用であろう。

2 浴槽水の衛生管理

遊離残留塩素が 0.2mg/L 以上検出された浴槽の 25%からレジオネラ属菌が検出されることから(図 23)、浴槽水の塩素消毒の効果を盲信せず、まずは温泉ごとに事前にその有効性を確認する必要がある。当然の事であるが、高 pH や有機物が多ければ消毒効果は減弱するか無くなる。掛け流し式温泉においては消毒なしが 72%を占め、当研究班としても盲目的に常時、塩素消毒を行う事を推奨するものではないが、洗浄時の高濃度塩素噴霧は必須と考える。更に、一般的に掛け流しは安全と考えられている事は今回の結果から見ても間違っていて、掛け流し式温泉も努力せずして安全を維持できない事を管理者や従業者に周知し、衛生管理の啓発を行う事が大切である。一方、入浴者が持ち込む病原体への衛生管理も必要で、管理者等への衛生教育や入浴前の洗い習慣など入浴者のマナー向上が求められる。これら病原体は多くの要因に左右され、温泉ごとに汚染の動向が異なるため、個別の検討が必要である。

3 貯湯槽、配管系の衛生管理

貯湯槽の清掃を定期的に行っているのは 57%、行

っていないのが 23%で(表 6)、定期的のうち半年以上が 50%弱である(表 7)。配管系に至っては清掃実施が 31%で、未実施が 65%に上り、清掃未実施の施設がまだ多く、定期的な清掃の必要性を普及啓発し、実施率の向上が求められている。

4 貯湯槽、湯口の温度管理

レジオネラ属菌は 50℃以上で有意に検出率が低下し、60℃以上では全く検出されず、アメーバは 50℃以上で検出されていない。従って、貯湯槽などの温度管理は非常に大切であるが、貯湯槽を 60℃以上に保っている施設は 35%であった。温度管理の重要性を徹底し、その改善に努める事が大切である。

以上、2 年間の当研究事業で有用な知見を得た事を明記し、この報告書が掛け流し式温泉の衛生管理の一助となる事を期待して結語としたい。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

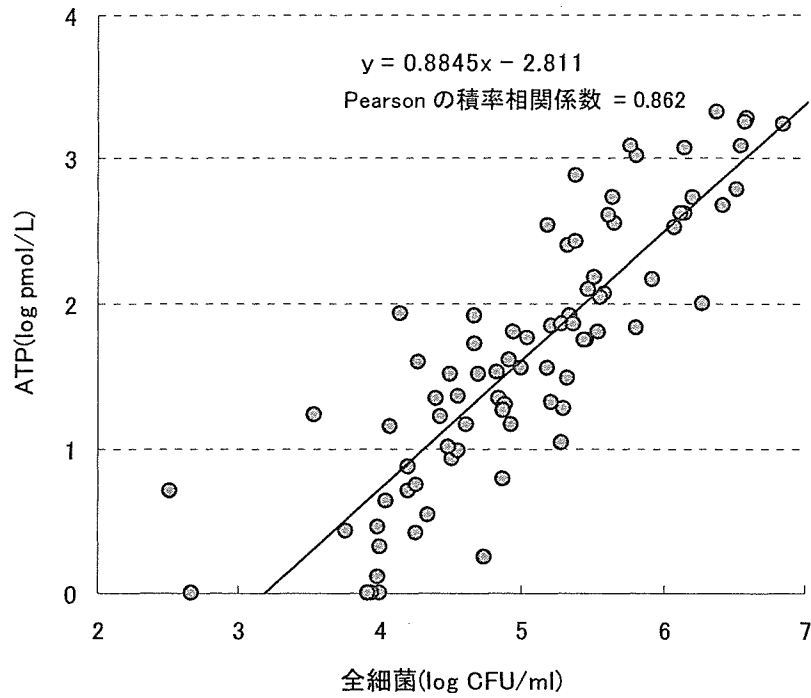


図1 全細菌とATPとの相関

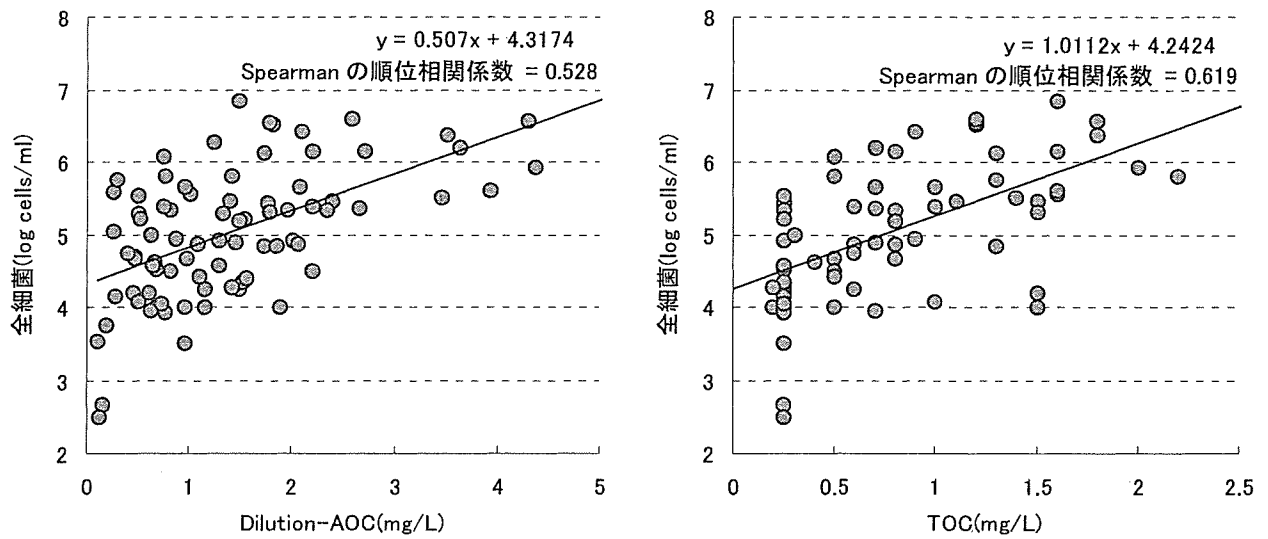


図2 有機炭素量と全細菌との相関

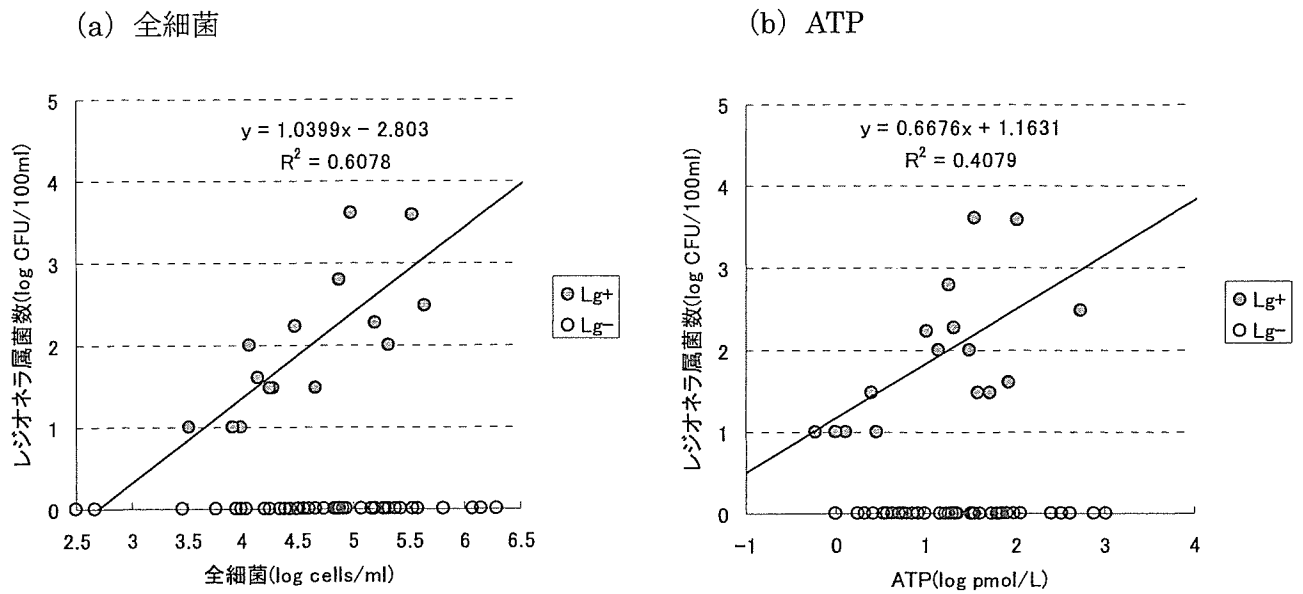


図3 バイオマス量とレジオネラ属菌数

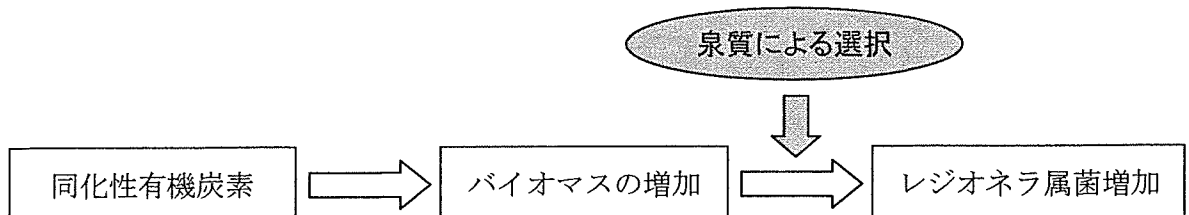


図4 レジオネラ属菌の増加要因

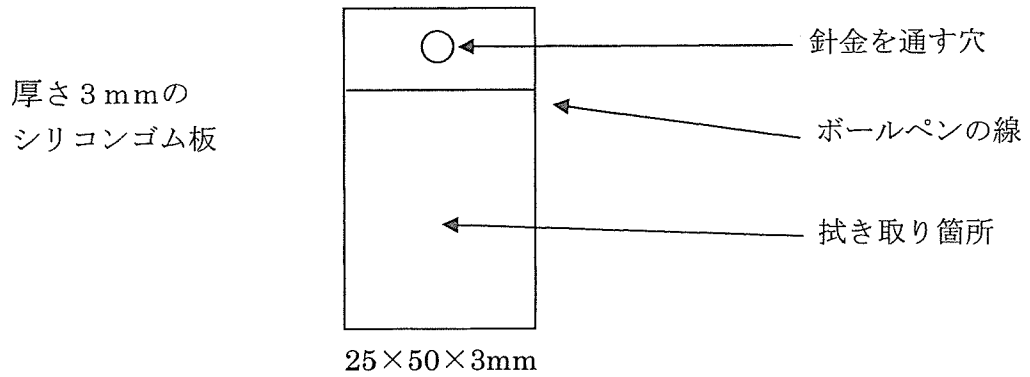


図 5 原泉貯槽のバイオフィルム調査 (シリコンゴム板)

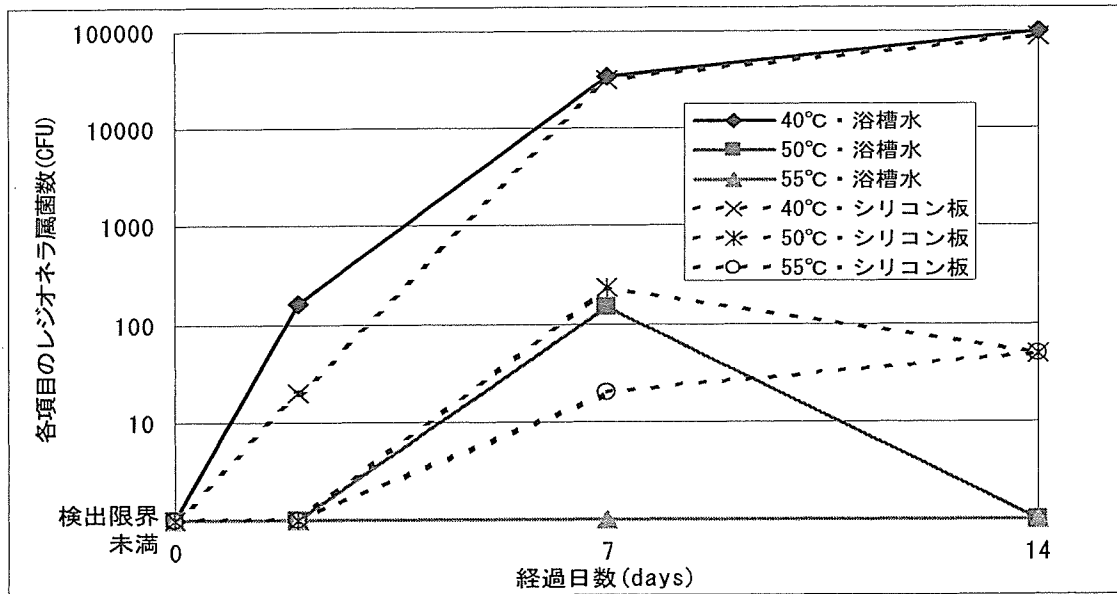
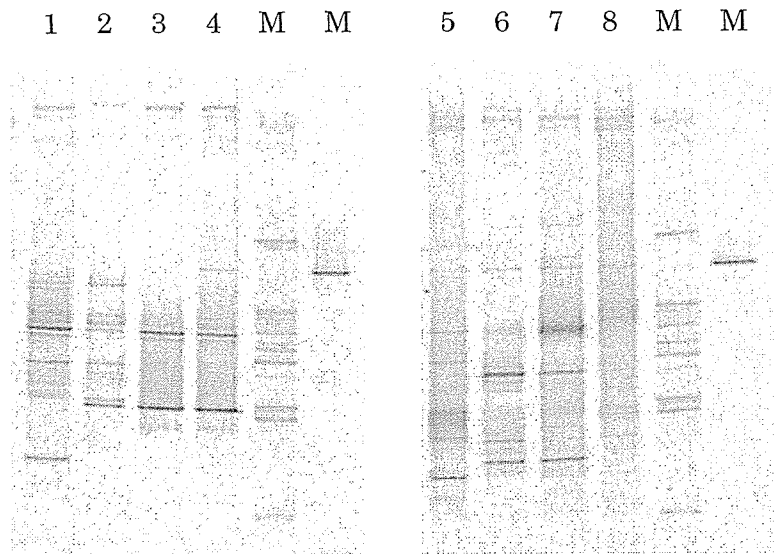


図 6 汚染を受けた浴槽水使用時の水及びシリコン板付着物のレジオネラ属菌数 (浴槽水は 100mL 当たり、シリコン板は試験液 1mL 当たりとする)

A) Y 温泉、I 温泉



B) M 温泉、K 温泉

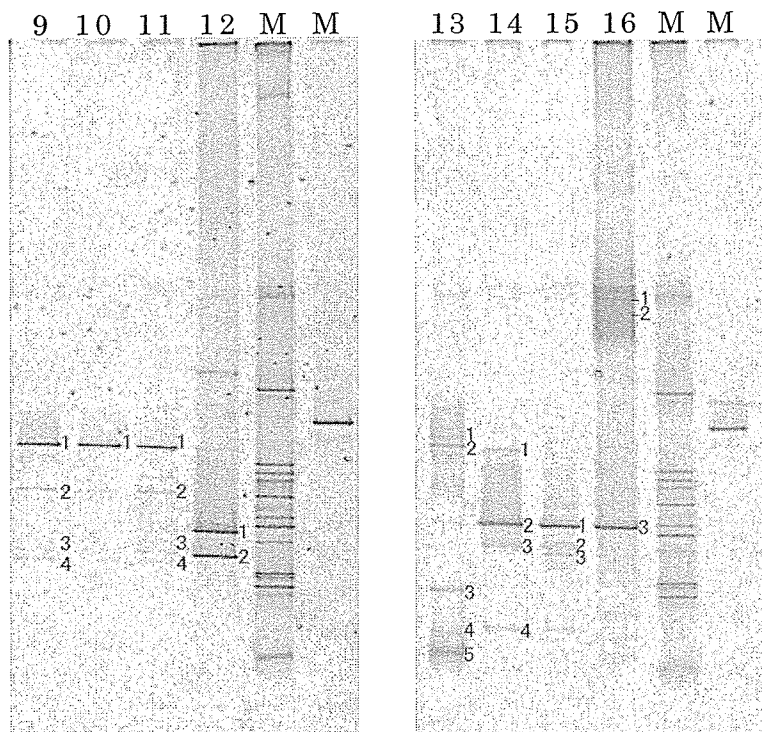


図7 4つの温泉における浴槽水の DGGE パターン

- A) レーン 1: Y 温泉貯湯槽 2005 年、2: 同湯口 2005、3: 湯口 2006、4: 浴槽水 2006、M: マーカー、
 レーン 5: I 温泉貯湯槽 2005 年、6: 湯口 2005、7: 湯口 2006、8: 浴槽水 2006
- B) レーン 9: M 温泉源泉 (数字は塩基配列を決定したバンド、配列の名称は eh11~eh14 に対応する)、
 10: 貯湯槽 (eh21)、11: 湯口 (eh3n、n は 1~4 の数字)、12: 浴槽水 (eh4n)、M: マーカー、
 レーン 13: K 温泉源泉 (ka1n)、14: 貯湯槽 (ka2n)、15: 湯口 (ka3n)、16: 浴槽水 (ka4n)、
 M: マーカー。