

表-2、調べたレジオネラ菌株の ID50 まとめ

菌種	菌株	血清型	ID50 (cfu/0.1ml)
<i>L. pneumophila</i>	80-045	SG1	2.5
	985	SG1	2.3
	998	SG1	4.4
	NIIB374	SG1	1.8
	NIIB378	SG1	2.3
	#2427	SG6	2.2
	#2428	SG8	3.8
	#2429	SG8	2.0
	#2430	SG8	1.1
	<i>L. dumoffii</i>	#2431	
#2432			3.2
<i>L. longbeachae</i>	NIIB56		4.3
<i>L. bozemanii</i>	WIGA		7.7
<i>L. londiniensis</i>	NIIB385		>1.2x10 ⁴

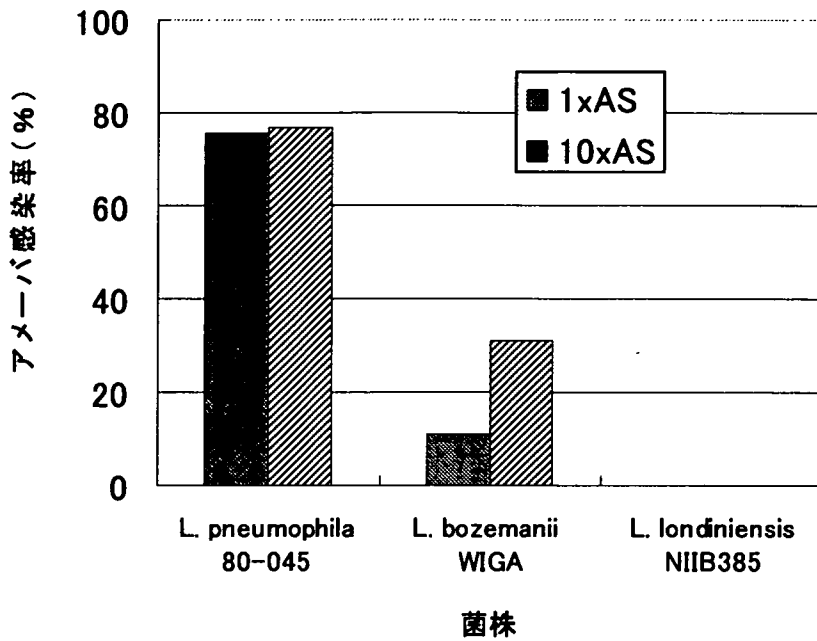


図-1、レジオネラ菌株による感染アメーバの割合の比較

宿主 *Acanthamoeba* と菌株を 24 時間共培養後、アメーバをギムザ染色し、任意に 1,000 アメーバを観察した。その中の菌感染アメーバの割合を感染率として求めた。

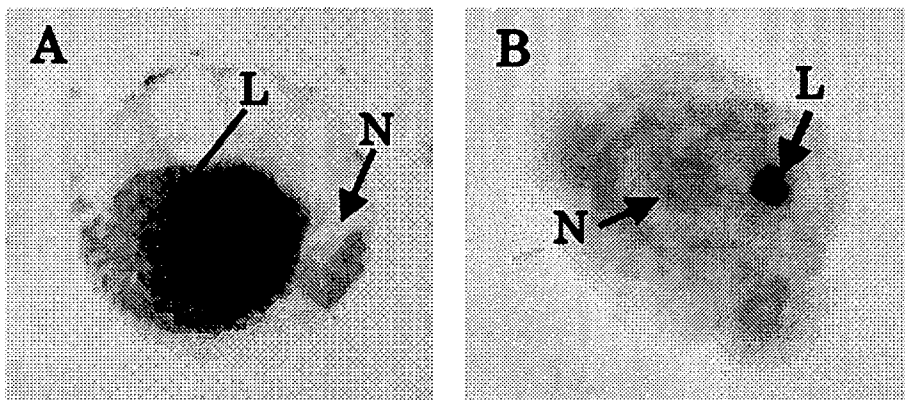


図-2、レジオネラ菌株によるアメーバ細胞内増殖性の違い

Acanthamoeba 細胞内で増殖するレジオネラのギムザ染色標本。

A: *L. pneumophila* 80-045、B: *L. bozemanii* WIGA の感染アメーバ。
10xAS で感染後、24 時間で固定。N はアメーバ核、L はレジオネラの増殖クラスター形成を示す。

表-3、宮崎レジオネラ集団感染事例(2002)におけるレジオネラ調査結果
と分離菌株の ID50

菌種、血清型	菌数 (cfu/100ml)	ID50 (cfu/0.1ml)	備考
<i>L. pneumophila</i> SG1	160,000	1.8~2.3	主要な起因菌
<i>L. dumoffii</i>	520,000	3.2~5.4	起因菌
<i>L. londiniensis</i>	1,500,000	>1.2x10 ⁴	抗体価上昇認めず
<i>L. pneumophila</i> SG8	6,500	1.1~3.8	抗体価不明

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金

地域健康危機管理研究事業

迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究
分担研究報告書

「ATP 測定による入浴施設の汚染度のモニタリングに関する研究」

分担研究者	神奈川県衛生研究所微生物部	黒木俊郎
主任研究者	国立感染症研究所寄生動物部	倉 文明

神奈川県内の温泉施設の浴槽水を対象にして、従属栄養細菌数、一般細菌数、レジオネラ属菌数および ATP 量を測定した。清掃直後は各菌とも非常に少ないか、検出限界以下であったが、2 日目にはそれぞれ増加し、3 日目にピークに達した。ATP 量は従属栄養細菌数および一般細菌数にほぼ並行していた。従属栄養細菌数計数用の R2A 寒天平板培地から複数の従属栄養細菌を分離し、10 倍希釈の菌濃度段階希釈浮遊液の ATP 量を測定したところ、どの菌株でも菌数と ATP 量は相関していた。これらの結果から、浴槽水の菌濃度あるいは汚れの度合いの指標として ATP 量を利用することの可能性が示唆された。

A. はじめに

レジオネラ症は *Legionella pneumophila* を代表とするレジオネラ属菌による呼吸器系感染症である。この菌を含んだエアロゾルの吸入あるいは浴槽での溺水等により感染し、ヒトからヒトへの感染はない。欧米に比べて日本では、入浴施設に関連したレジオネラ症の発生が多いと考えられている。

レジオネラ属菌は本来環境中、特に 25～40℃程度の温環境に生息する細菌であり、常時 40℃前後に保たれている浴槽はレジオネラ属菌が増殖しやすい環境を提供している。レジオネラ属菌が増殖した状態では当然感染が起こりやすく、そこで、できるだけレジオ

ネラ属菌が増えないように衛生管理を行わなければならない。これまでの厚生労働省の研究班において、浴槽の衛生管理に HACCP システムを導入する検討を継続的に行っており、この HACCP システムがレジオネラ感染症の予防に役立つことが期待されている。HACCP システムでは危害を防ぐために重要管理点を設けてモニタリングにより常に管理状況を監視する必要がある。塩素消毒を実施している施設では残留塩素濃度を、貯湯槽や配管中の水温が 55℃以上になる施設では水温をモニタリングの対象とすることができる。しかし、塩素消毒を実施していない施設や水温を 55℃以上にできない施設もあり、モニタリング項

目の選定に苦慮する場合が想定された。そこで、浴槽水の ATP 量をモニタリング項目として利用することについて検討することとした。

B. 材料と方法

1) レジオネラ属菌の測定

神奈川県内の温泉施設の浴槽を対象にレジオネラ属菌の菌数測定を行った。対象とした浴槽は清掃を実施した日を 1 日目とし、次の清掃が行われる 5 日目まで、毎日午前 10 時前後に採水した。浴槽水 500ml を採取し、冷蔵にて輸送した。

浴槽水 500ml を滅菌メンブランフィルター（直径 49mm、孔径 0.45 μm ）で吸引ろ過した。フィルターを 10ml の滅菌 MQ 水が入った 50ml 遠沈管に入れ、激しく振り、フィルターから菌をはがした。菌浮遊液を熱処理し、滅菌 MQ 水で 10 倍段階希釈し、原液と各段階の 0.1ml を WYO 寒天培地 2 枚に塗抹し、36°C で 5 日間培養した。レジオネラ属菌と推定される平板上の集落を計数し、試料中の 100ml あたりのレジオネラ属菌数を算定した。

レジオネラ属菌が疑われる集落は、レジオネラ属の確認には 16S rRNA をターゲットとした PCR 法、*L. pneumophila* の確認には mip 遺伝子をターゲットとした PCR 法を用いて鑑別を行った。レジオネラ属菌あるいは *L. pneumophila* であることが確認された菌株は血清により菌種あるいは血清型を決定した。

2) 従属栄養細菌数と一般細菌数の測定

浴槽水の試料を滅菌 MQ 水で 10 倍段階

希釈し、原液と各段階の 0.1ml を従属栄養細菌数の測定には R2A 寒天平板培地 2 枚へ、一般細菌数の測定には標準寒天培地 2 枚へそれぞれ接種した。R2A 寒天平板は 42°C で 7 日間、標準寒天平板は 36°C で 3 日間培養した。培養後、集落数を計数し、試料 1ml 中の従属栄養細菌数と一般細菌数を決定した。

3) 従属栄養細菌の同定

従属栄養細菌数計数に用いた高希釈段階の R2A 寒天平板上に集落を形成した菌を分離し、同定を試みた。分離菌は MicroSeq 500 16S rRNA Bacterial Sequencing Kit (Applied Biosystems) を使用して菌の同定を行った。新鮮培養菌を滅菌 MQ 水に懸濁し、100°C で 5 分間加熱して DNA を抽出した。この 1 μL と滅菌 MQ 水 24 μL と PCR マスターミックス 25 μL を混合し、GeneAmp PCR system 2400 にて 95°C、10 分の初期解離反応の後、95°C 30 秒、60°C 30 秒および 72°C 45 秒を 1 サイクルとし、30 サイクル反応させ、72°C 10 分の最終伸長反応の後 4°C で保存した。PCR 産物は 2% アガロースで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、PCR 産物を確認した。

PCR 産物は精製後、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer を用いて塩基配列を決定した。得られた塩基配列は BLAST サーチにより既存の塩基配列と比較し、菌株の属の推定を行った。

4) ATP の測定

ATP の測定は簡易測定キット（ルシパックワイド（キッコーマン））により行った。キットの綿棒ホルダーを抜き、綿棒にて浴

槽水を採取した。綿棒ホルダーをキットの本体に戻し、本体に押し込んだ。キット本体を振り下ろして採取した浴槽水を本体下部に落とし、内部の試薬を溶解した。説明書に従って専用の測定器（ルミテスター PD-10N）にキット本体をセットし、測定器に表示された数値を読み、ATP を測定した。

5) 菌浮遊液の ATP 測定

R2A 寒天平板から分離した従属栄養細菌株を R2A 寒天平板に接種し、42°C で 7 日間培養し、平板上の集落を掻き取って 10ml の滅菌 MQ 水に浮遊させた。各菌浮遊液から 10 倍段階希釈液を作製し、各菌浮遊液の 100 μ L を取り、ATP 用簡易測定キットを用いて ATP 量を測定した。

C. 結果

1) 浴槽水のレジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、一般細菌数および ATP 量

神奈川県内の温泉施設の対象とした 1 浴槽の浴槽水のレジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、一般細菌数および ATP 量の結果を図 1 に示した。調査を開始した 1 日目は清掃直後であったため、従属栄養細菌数は 150CFU/ml であり、一般細菌数は検出限界以下であった。2 日目には従属栄養細菌数は 3,900,000CFU/ml になり、3 日目には 15,500,000CFU/ml に達したが、4 日目には 3,600,000CFU/ml に減少した。一般細菌数は 3,100CFU/ml になり、3 日目には 350,000CFU/ml に達したが、4 日目には 1,030CFU/ml に減少した。レジオネラ属菌は 1 日目と 2 日目は検出されなかったが、

3 日目から検出された。

浴槽水の ATP 量は、清掃後では 7RLU と非常に低く、2 日目には 156RLU、3 日目には 1855RLU に達したが、4 日目には 156RLU に減少した。この ATP 量の変化は従属栄養細菌数あるいは一般細菌数とほぼ並行していた。

なお、今回の調査でレジオネラ属菌が検出された浴槽は清掃を直ちに行い、衛生管理を徹底した。

2) 従属栄養細菌の同定

従属栄養細菌数を計数した R2A 寒天平板上に優勢に増殖した集落 10 株を選び、16S rRNA の塩基配列から属の推定を行った。結果を表 1 に示した。浴槽 1 に由来する 6 菌株は *Caldimonas* sp.、*Tepidimonas* sp.、*Alpha bacterium clone* および *Schlegelella* sp./*Leptothrix* sp. に属していることが推定された。浴槽 2 に由来する 4 菌株は *Tepidimonas* sp. に属していると推定された。

3) 従属栄養細菌の浮遊液の ATP 測定結果

各菌浮遊液の ATP 測定結果を図 2 に示した。ATP 測定を行ったいずれの菌株でも菌数と ATP 量は非常によく相関していた。

D. 考察

本年度の調査において、温泉施設の浴槽水の従属栄養細菌数、一般細菌数、レジオネラ属菌数および ATP 量を経日的に測定したところ、細菌数と ATP 量は並行して変化することが観察された。測定試料が少ないために、さらに検討が必要であるが、

浴槽水の細菌増殖度や汚れの度合いをモニタリング項目とすることが可能であると思われる。

HACCP システムにおいて重要管理点を選定する場合には、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条件となる。微生物検査の結果を得るには通常数日を要し、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。そこで、浴槽施設の衛生管理において、リアルタイムに管理の状況をモニタリングするための項目には残留塩素濃度あるいは水温が挙げられる。しかし、浴槽水の残留塩素濃度を一定に保つことにより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。このような施設では残留塩素濃度あるいは水温をモニタリングの対象とすることはできない。そこでこれらの項目に代わる項目を設定する必要がある。平成 18 年度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長）の報告書において、浴槽水の ATP 量をモニタリング項目とする検討の必要性を提言した。

浴槽水の状態をリアルタイムのモニタリング項目とすることができるかどうかを検討するにあたり、従属栄養細菌として計数される菌の菌株を用いて、菌数と ATP 量の相関を調べた。調査の結果、両者は非常

によく相関していた。ATP 量と菌数の相関について、大腸菌を用いたデータは散見されるが、従属栄養細菌ではデータはなかった。本研究において、相関があることを示すことができた。これにより、浴槽水の状態を把握するために、ATP 量を従属栄養細菌の増殖の状態を知るための指標としてモニタリングすることが可能であることを示すことができた。

ATP ふき取り検査は既に清浄度検査として活用されている。従来、ATP の測定は煩雑で、時間を要する検査であった。しかし、測定用簡易キットと測定装置が開発され、手軽に ATP 測定を行うことが可能となった。食品製造関連施設においては、製造従業員の手指や食品製造機器・器具の清浄度が十分保たれているかをリアルタイムに確認するために利用されている。本研究で使用した簡易測定キットは検査対象の表面をふき取り、ATP とキットに含まれるルシフェラーゼの化学反応により発光させ、発光量を測定器で測定して ATP 量を測定する。測定された数値は ATP の存在を示し、そこから汚れや細菌類が存在することを推測することができる。

E. 結論

ATP 量の測定を浴槽水の菌数の指標あるいは汚染度の指標としての利用の可能性を検討したところ、菌数と ATP 量はほぼ並行して変化した。さらに、従属栄養細菌株の菌数と ATP 量も相関した。これらのことから ATP 量を指標として利用することの可能性が示された。調査の対象とした試料数が限られているため、さらに種々の泉

質の場所を設定し、試料数を増やして検討
することが必要であると思われる。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

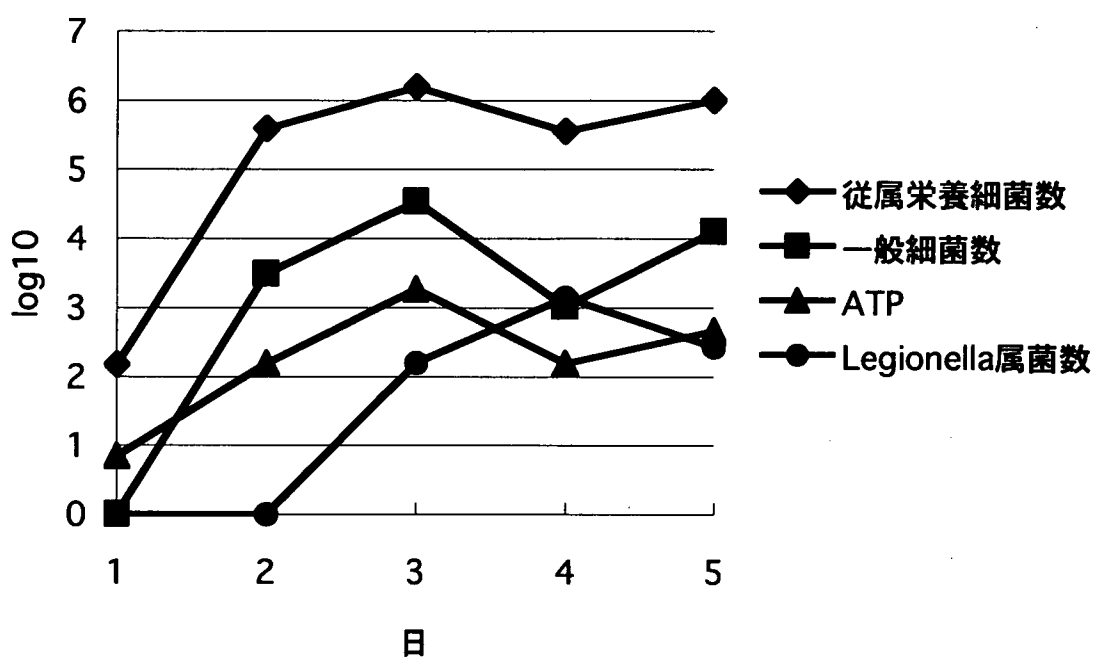


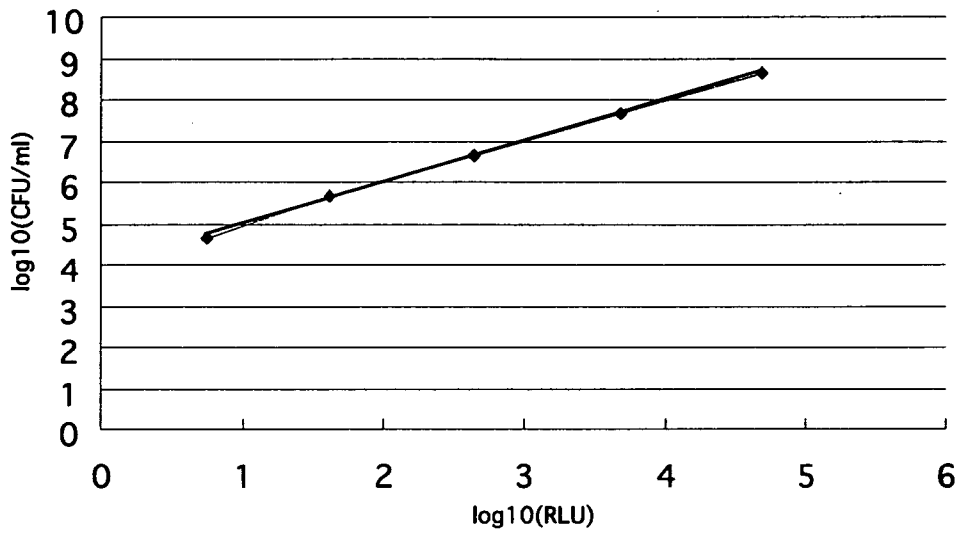
図1 温泉施設の浴槽水の細菌数およびATP量の経日変化

従属栄養細菌数、一般細菌数 : CFU/ml

ATP量 : RLU

Legionella属菌数 : CFU/100ml

A.



B.

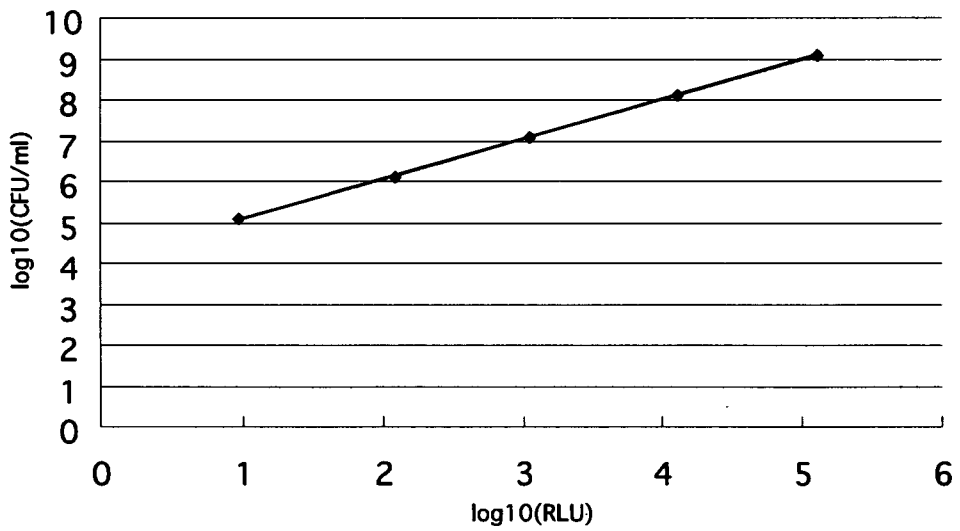
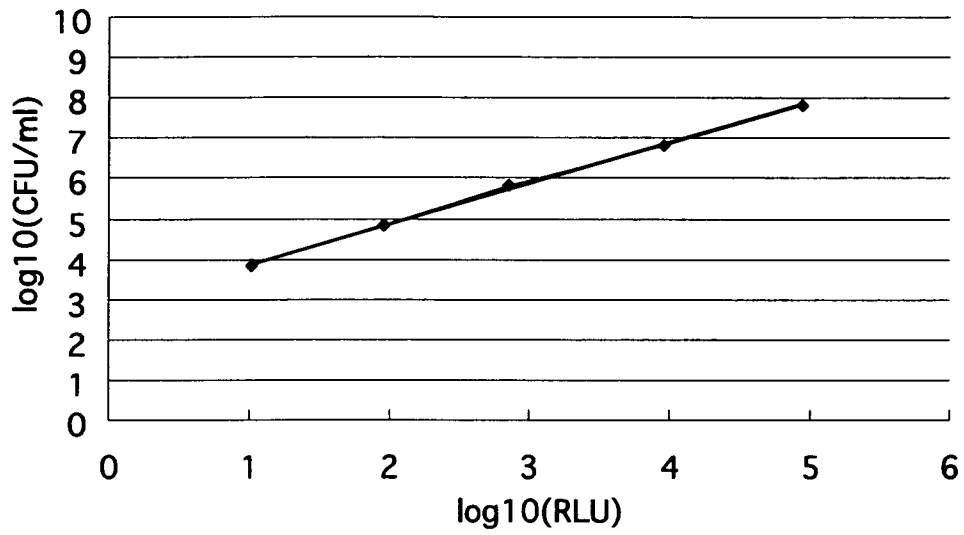


図 2 従属栄養細菌株の菌数と ATP 量の相関

A : *Caldimonas* sp.

B : *Schlegelella* sp. or *Leptothrix* sp.

C.



D.

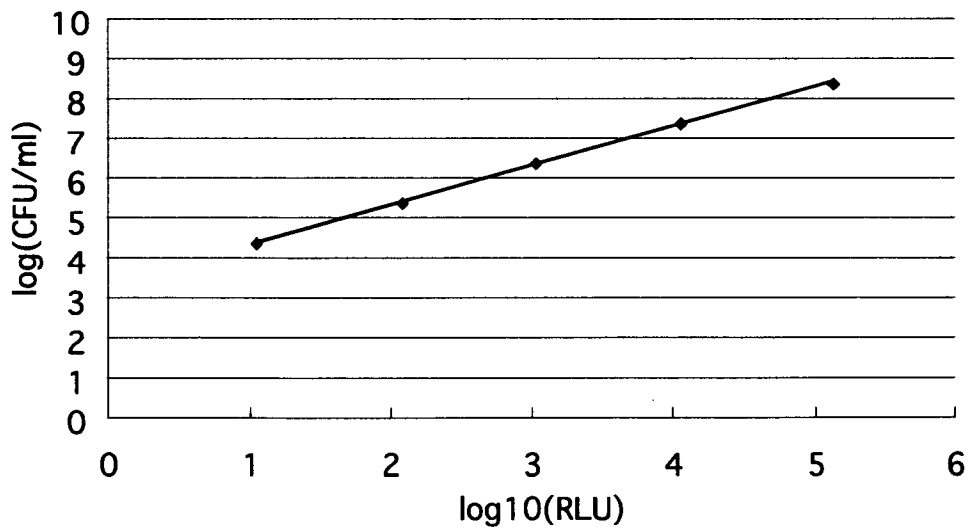


図2 続き

C : *Tepidimonas* sp.

D : Alpha bacterium clone

表 1 浴槽水から分離した従属栄養細菌の 16S rRNA 塩基配列の解析による菌の鑑別

	由来	菌数 (CFU/ml)	推定される属名
1	浴槽 1	9,000	<i>Caldimonas</i> sp.
2	浴槽 1	2,000	<i>Schlegelella</i> sp. or <i>Leptothrix</i> sp.
3	浴槽 1	3,000	<i>Tepidimonas</i> sp.
4	浴槽 1	2,000	<i>Tepidimonas</i> sp.
5	浴槽 1	4,000	<i>Caldimonas</i> sp.
6	浴槽 1	8,000	Alpha bacterium clone
7	浴槽 2	30,000	<i>Tepidimonas</i> sp.
8	浴槽 2	40,000	<i>Tepidimonas</i> sp.
9	浴槽 2	700,000	<i>Tepidimonas</i> sp.
10	浴槽 2	400,000	<i>Tepidimonas</i> sp.

厚生労働科学研究費補助金(地域健康危機管理研究事業)
迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の
衛生管理手法の開発に関する研究

酸性泉由来レジオネラ株に対する温泉水の作用

主任研究者 倉 文明(国立感染症研究所)
研究協力者 藤田雅弘(群馬県衛生環境研究所)
小畑 敏(群馬県衛生環境研究所)
見城信子(群馬県中之条保健福祉事務所)
住谷敬太(株式会社ヤマト 大和環境技術研究所)

概要

温泉施設でのレジオネラ症の発生が増加していることから、温泉施設の衛生確保のため、浴槽水の水質基準として *Legionella pneumophila*(以下、Lp)が浴槽水 100ml 中に検出されないことが管理目標数値と規定されている。温泉の泉質によっては、酸性泉では、浴槽水の消毒に次亜塩素酸ナトリウム等の薬品を用いると塩素ガスが発生し、このような消毒方法は適当でないと考えられる。平成17年度・18年度の「か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」総合研究報告書の中では、pH6未満の酸性泉及び泉温 55℃以上では、ほとんどレジオネラが検出されないことが報告されている。しかしながら、酸性泉から Lp 以外のレジオネラ属菌が、ごくまれに検出されることがある。今回、酸性泉の温泉水から分離された3株の *Legionella saintelensis*(以下、Ls)を用いて、掛け流し式温泉として利用されている代表的な酸性泉の温泉水の Ls に対する作用について調べた。酸性泉を利用する施設の浴槽水及び源泉水に、Lp(基準株)及び Ls の培養菌を添加し、菌を温泉水に接触させたところ、1-6時間経過後には菌数が減少した。このことから、酸性泉では、源泉水及び浴槽水のいずれにおいても、Ls に対しても殺菌効果を有することが分かった。さらに、pH2.0の希硫酸溶液を用いた酸性条件下において、これらの菌株に対するマンガンイオン及びヨウ素イオンの影響を検討した。Lp はマンガンイオン濃度とヨウ素イオン濃度の相互の作用により60分間経過後の菌数の減少がみられたが、Ls はマンガンイオン濃度の影響を受けにくく、ヨウ素イオン濃度が 0.3mg/L 以上にならないと菌数の減少は認められなかった。酸性泉由来の Ls は、菌を単独で酸性泉に接触させた場合、ヨウ素イオン等の存在が殺菌に重要であると考えられた。

A. 研究目的

入浴施設のレジオネラ症集団感染事例が続発し、平成 15 年に公衆浴場における衛生管理要領等が改正された。循環式浴槽では、浴槽水の消毒方法が明記され Lp の規制が徹底されたが、掛け流し式温泉では、泉質により塩素消毒が行えない場合があり、安全性の確保がはかられているか不確定な要因がある。

平成 18 年度「温泉の泉質などに対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究」では、pH6 未満、ナトリウムイオン 250mg/L 未満、カリウムイオン 30mg/L 未満、炭酸イオン 1mg/L 未満、酸消費量 400mg/L 未満、全硬度 650mg/L 未満及び電気伝導率 225mg/L 未満の温泉でレジオネラの検出率が有意に低いことが報告されている。一方で、温泉施設の細菌学的な実態調査からは、酸性泉からは、Lp は検出されなかったが、Ls がわずかながら検出された。また、日本では感染報告例はないが、Ls はヒトにレジオネラ症を引き起こすことが知られている。これらのことから、掛け流し式温泉で利用されている代表的な酸性泉を用いて、Lp を比較対照として Ls に対する酸性泉の作用について調べた。

B. 方法

(1) 温泉水の殺菌効果

微生物の添加試験に使用した温泉水は、本県内の代表的な酸性泉を利用している 3 施設の浴槽水及びその源泉水を採水した。冷蔵保存し、使用毎に 0.22µm のミリポアフィルターで濾過滅菌し使用した。使用した温泉水はいずれも pH1.7~2.1 の酸性一硫酸塩・塩化物温泉であった。また、ナトリウムイオン濃度は 55~99mg/L、ヨウ素イオン濃度は 1.4~2.6mg/L、マンガンイオン濃度は 1.8~2.8mg/L であった。これらのイオン濃度は、浴槽水もほぼ同様の濃度であった。

使用した菌は、*Legionella pneumophila* SG1(ATCC33153) (以下、Lp) 及び国内の酸性泉から分離された *L. saithelensi* 3 株 (NIIB2132、2134、2320) (以下、Ls) を使用した。これらの株は、酸性・含硫黄・アルミニウム硫酸塩泉、単純酸性泉、酸性・含

硫黄・鉄・アルミニウム・カルシウム硫酸塩泉から、それぞれから分離された。Lp 及び Ls は GVPC 培地 (ビオリュー) で 37°C 3 日間培養後、発育した集落を掻き取り滅菌蒸留水に浮遊させ菌液を作成した。適宜、段階希釈し、温泉水に $10^5 \sim 10^6$ CFU/ml となるように加えた。42°C で静置培養後し、経時的に採取し、GVPC 培地を用いて平板希釈法を実施した。これらの平板培地を 37°C 3 日間培養し、生じるコロニー数を測定した。

(2) ヨウ素イオン及びマンガンイオンのレジオネラへの影響

Lp 及び Ls へのヨウ素イオンの影響をみるため、ヨウ化ナトリウムを pH2.2 の希硫酸水溶液に溶解し、ヨウ化物イオン濃度を 0mg/L、0.3mg/L、1mg/L 及び 3mg/L に調整した水溶液を作製した。また、マンガンイオン濃度は、硫酸マンガンを加え、マンガンイオン濃度が 0mg/L、0.3mg/L、1mg/L、3mg/L 及び 10mg/L となるよう調整した溶液を作製した。これらの溶液に菌液を加え、42°C で静置培養後に、60 分間経過後に採取し、PBS (pH7.4) で段階希釈して GVPC 培地に塗抹した。37°C 3 日間培養し、生じるコロニー数を測定した。

C. 結果および考察

(1) 温泉水の殺菌効果

Lp は、X 温泉、Y 温泉及び Z 温泉の源泉水に接触させた場合、直後にわずかに菌数の減少がみられた。30 分間経過後は、X 温泉水では 10^1 オーダーとなり、1 時間接触後には検出されなくなった。Y 温泉水も 1 時間経過後には 10^1 オーダーまで減少した。Z 温泉水は、X 及び Y に比較すると殺菌作用が弱く、6 時間経過後に培養により検出されなくなった。また、それぞれの浴槽水は、源泉水と同様の結果であった (図 1)。

酸性・含硫黄・アルミニウム硫酸塩泉由来の Ls (NIIB2132) は、X 温泉水では 1 時間経過後も 10^4 オーダーであり 6 時間経過後にようやく検出されなくなった。Y 温泉水では、1 時間後に 10^2 オーダーに減少し 3 時間後に検出されなくなったが、Z 温泉水では 6 時間経過後も 10^3 オーダーの生菌が検出された。ま

た、X 及び Y 温泉の浴槽水は、1 時間経過後に 10^2 オーダーに減少したが、Z 温泉の浴槽水では 3 時間経過後も 10^3 オーダーの Ls が生存していた(図 2)。

単純酸性泉由来の Ls(NIIB2134)は、X 温泉水では 1 時間経過後に検出されなくなったが、Y 温泉水では、1 時間後に 10^4 オーダーに減少し、6 時間経過後には検出されなくなった。しかしながら、Z 温泉水では 6 時間経過後も 10^3 オーダー検出された。また、X 温泉の浴槽水は、検出されなくなるまでに 3 時間を要した(図 3)。

酸性・含硫黄・鉄・アルミニウム・カルシウム硫酸塩泉由来の Ls(NIIB2320)は、希硫酸水溶液中でも、3 時間経過後に菌数の減少が見られた。X 及び Y 温泉水では、1 時間経過後に 10^1 オーダーであり、3 時間経過後に検出されなくなった。浴槽水でも同様の結果であった。Z 温泉水では、源泉水及び浴槽水とも徐々に菌数が減少し、6 時間後にほぼ検出されなくなった(図 4)。これらの 3 つの酸性泉は、Ls が単独で接触した場合に、Lp 同様に殺菌効果を示し、かけ流し式温泉の浴槽内でも同等の効果を発揮することが考えられた。

(2) ヨウ素イオン及びマンガンイオンのレジオネラに対する殺菌効果

溶液が酸性でありマンガンイオンが存在しない条件下では、ヨウ素イオンを含む希硫酸水溶液に Lp を加えると、 1.0mg/L のヨウ素イオンの存在により、1 時間経過後に菌数の減少がみられ、 10^5 オーダーの菌数(CFU/ml)が、 10^3 以下のオーダーになった。ヨウ素イオン濃度が 0mg/L では、マンガンイオン濃度が 1.0mg/L 存在すると菌数の減少がみられ、マンガンイオンが 0.3mg/L 存在すれば、ヨウ素イオンが 0.3mg/L でも菌数の減少がみられた。

酸性・含硫黄・アルミニウム・硫酸塩泉由来の Ls では、マンガンイオン濃度 0.3mg/L 、ヨウ素イオン濃度 3.0mg/L 以上で著しい菌数の減少が見られた。また、マンガンイオンが 3.0mg/L 存在下では、ヨウ素イオン濃度が 1.0mg/L でも菌数は著しく減少した。

単純酸性泉由来の Ls は、マンガンイオン濃度に関

わらず、ヨウ素イオン濃度 3.0mg/L 以上で菌数の減少が見られた。酸性・含硫黄・鉄・アルミニウム・カルシウム硫酸塩泉由来の Ls は、マンガンイオン濃度が 0.3mg/L 存在すると、ヨウ素イオン濃度 0.3mg/L 以上で菌数の減少が見られた。また、マンガンイオン濃度にかかわらず、ヨウ素イオン濃度が 1.0mg/L 以上存在した場合、著しい菌数の減少が見られた(表 1)。

これらの酸性泉の温泉水の黄色ブドウ球菌に対する殺菌効果については、ヨウ素イオンとマンガンイオンの効果により殺菌効果もたらされるとの報告がある。Lp は、マンガンイオンとヨウ素イオンの相乗効果により殺菌効果を示すが、Ls に対しては、ヨウ素イオンの存在により殺菌効果もたらされるものの、マンガンイオン濃度の影響はそれほどではないものと考えられた。また、Ls の 1 株は、 $\text{pH}2.0$ の硫酸水溶液では、菌数の減少が見られ、水素イオンの濃度も殺菌効果に影響を与えることが考えられた。

D. 結論

今回実験に供した 3 地域の酸性泉は、他県の酸性泉から分離されたレジオネラ属菌 *Legionella sainthelensi* (Ls) にも、殺菌効果を示すことが判明した。泉質の違いにより Ls に対する作用が Z 温泉水の場合には緩和であった(X 及び Y 温泉が酸性・硫酸塩塩化物温泉であり、Z 温泉は酸性・含硫黄・アルミニウム硫酸塩・塩化物温泉)。

利用源泉が $\text{pH}3$ 以下の酸性泉を利用する施設については、十分な湯量をもって従来の掛け流し式をとっていれば、レジオネラの危害が直にヒトに及ぶことは考えられないが、源泉の性質が著しく損なうような極端な加水や、循環式で連続利用した場合の水質低下は避けるべきであると考えられる。本県の酸性泉を利用する掛け流し式温泉施設では、浴槽水の消毒は必要ないと考えられたが、浴場及びその付帯設備の衛生管理及び維持管理について注意し、潜在的な危害の排除する努力は必要であると考えられた。

E. 参考文献

1. Takafumi I, Shitara I and Kazuo K.
Bactericidal Activity of Manganese and Iodide Ions against *Staphylococcus aureus*: A Possible Treatment for Acute Atopic Dermatitis. *Acta. Derm. Venerol.* 1999.79.3 60-362.
2. 井上博雄(2007). 掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発に関する研究. 地域健康危機管理研究事業. 平成 17 年度～平成 18 年度総合研究報告書. 9-10.
3. 倉 文明 (2007). 温泉の泉質等に対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究. 地域健康危機管理研究事業. 平成18年度総括・分担研究報告. 48-50.
4. 笹原武志、菊野理津子、曾我英久ほか. 水系汚染 *Legionella* 属菌に対する感染防止対策の確立. *感染症学雑誌*. 2004. 78 巻, p22-31

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図-1 *L. pneumophila* SG1に対する温泉水の効果

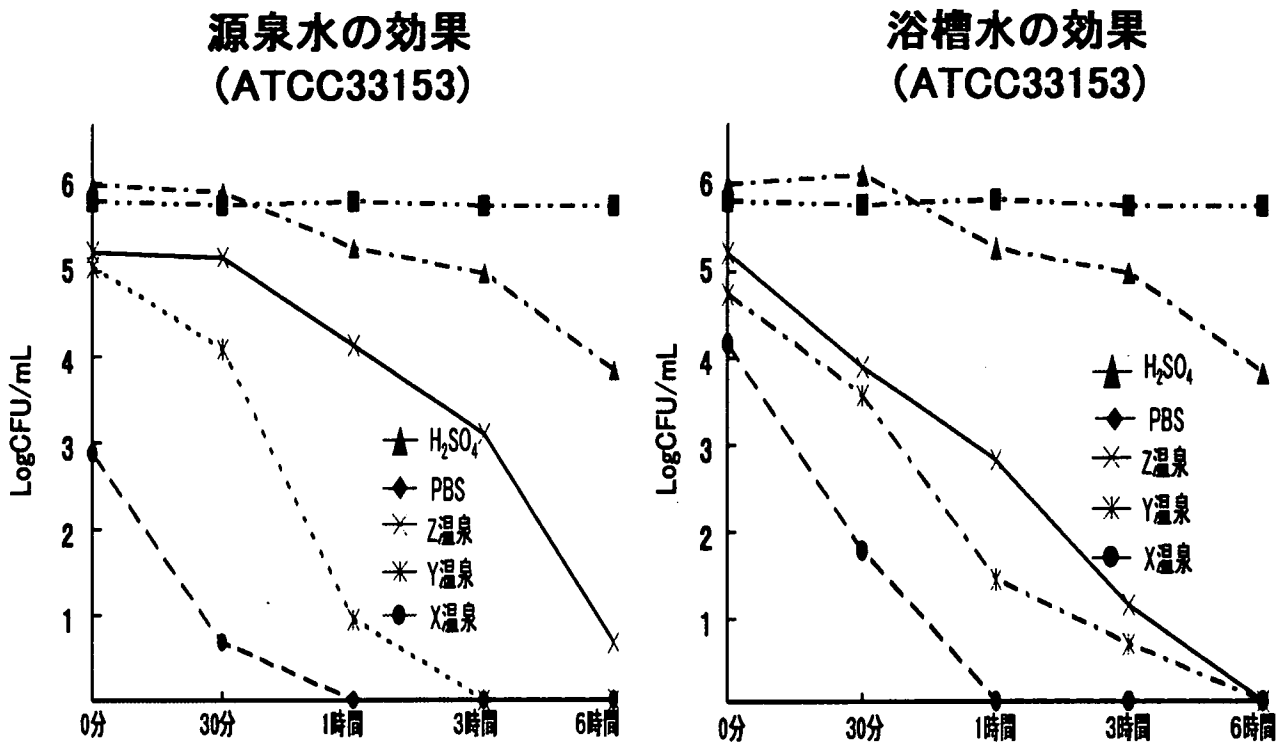


図-2 酸性・含硫黄-アルミニウム硫酸塩泉由来 *L. sainthelensii*に対する温泉水の効果

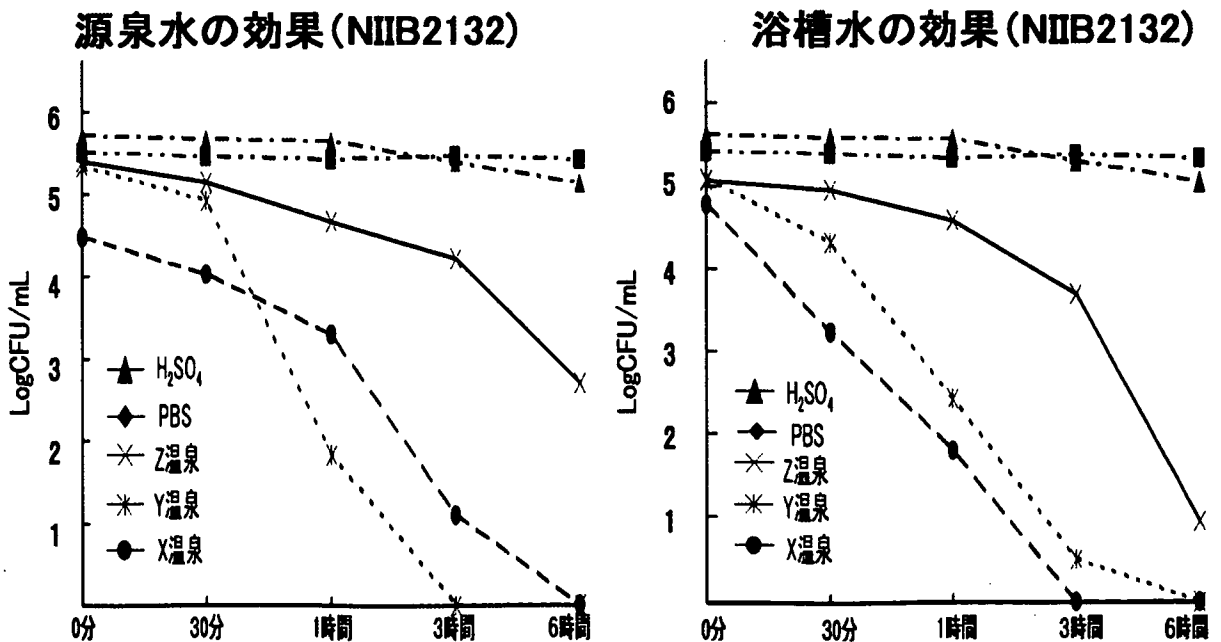


図-3 単純酸性泉由来 *L. sainthelensis* に対する
温泉水の効果

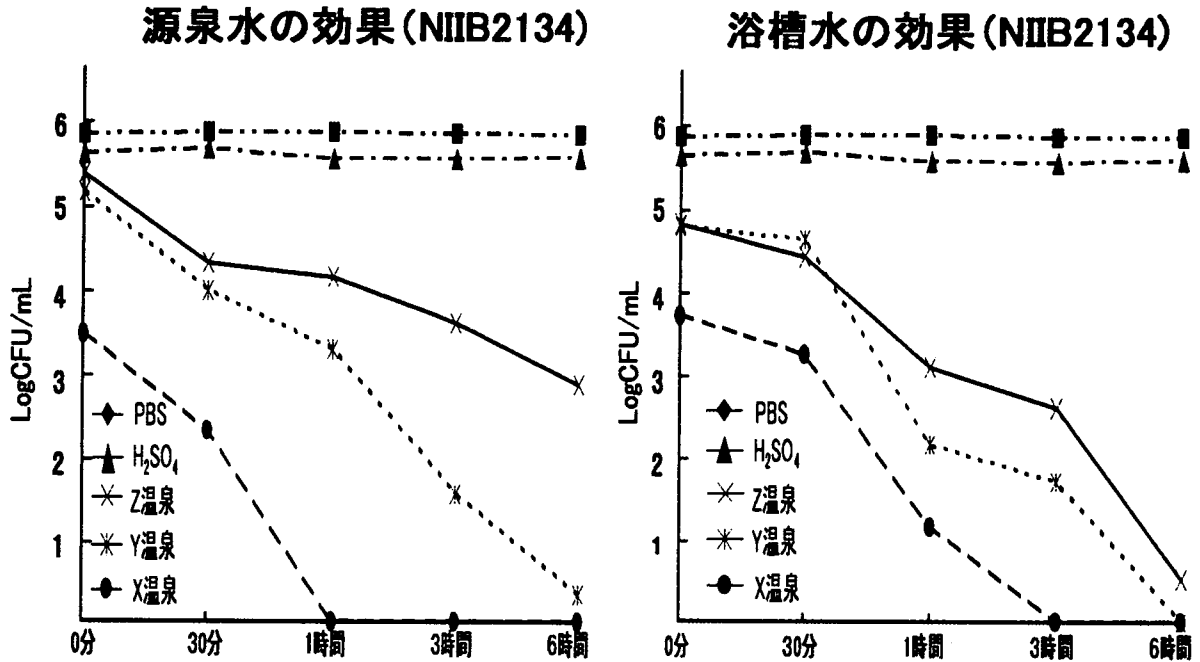


図-4 酸性含硫黄・鉄・アルミニウムカルシウム硫酸塩泉由来
L. sainthelensis に対する温泉水の効果

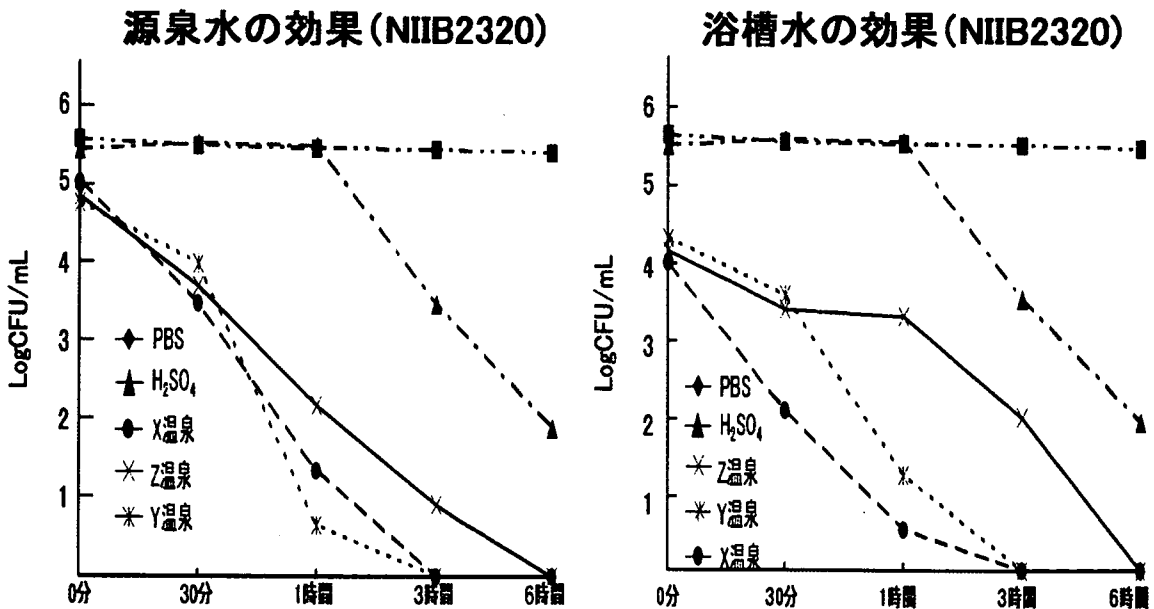


表-1 各試験液のレジオネラ殺菌効果

菌株	I Mn	1時間後			
		0mg/L	0.3mg/L	1.0mg/L	3.0mg/L
Lp SG1	0mg/L	—	—	++	++
	0.3mg/L	—	++	++	++
	1.0mg/L	+	++	++	++
	3.0mg/L	+	++	++	++
	10mg/L	+	++	++	++
NIIB2132	0mg/L	—	—	—	+
	0.3mg/L	—	—	—	++
	1.0mg/L	—	—	—	++
	3.0mg/L	—	—	++	++
	10mg/L	—	—	++	++
NIIB2134	0mg/L	—	—	—	++
	0.3mg/L	—	—	—	++
	1.0mg/L	—	—	—	++
	3.0mg/L	—	—	—	++
	10mg/L	—	—	—	++
NIIB2320	0mg/L	—	+	++	++
	0.3mg/L	—	+	++	++
	1.0mg/L	—	+	++	++
	3.0mg/L	—	+	++	++
	10mg/L	—	+	++	++

—:減少せず, +:1/10~1/100に減少, ++:1/1000以上に減少

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

1. 藤井 明、澤田恵美、河合自立、杉山寛治、松田和也、大畑克彦、小倉 徹、加藤宏：
循環式浴槽設備の清浄度維持に及ぼす高濃度塩素消毒の効果. 生活と環境. 52, 26-32,
2007.
2. 倉 文明：13. *Legionella pneumophila*, 最新細菌・カビ・酵母図鑑（高鳥浩介、五十君
静信監修）、71-74、技術情報協会、東京、2007.