

200738037A

厚生労働科学研究費補助金

地域健康危機管理研究事業

公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究

平成 19 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 遠藤 卓郎

平成 20 (2008) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

- 公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究 1
遠藤 卓郎

II. 分担研究報告書

1. 浴槽水を対象としたクロラミン消毒 11
遠藤 卓郎・泉山 信司
2. レジオネラ宿主アメーバに対するモノクロラミンの不活化効果の検討 17
泉山 信司・小村 麻子
3. クロラミン B のレジオネラに対する殺菌作用 31
倉 文明・泉山 信司
4. 一般細菌等へのクロラミン B の消毒効果の評価 39
縣 邦雄・神澤 啓
5. 民間検査機関に依頼されるレジオネラ検査資料の汚染実態 50
泉山 信司
6. クロラミン類のカビに対する不活化試験 76
高島 浩介・朴 奉 柱
7. 公衆浴場における消毒副生成物の曝露評価に関する研究 80
神野 透人・高橋 淳子・香川 聡子
8. 消毒剤の効果判定と使用方法の検討 90
秋山 茂・坂上 吉一
9. 消毒剤の種類と浴槽への適用について 96
坂上 吉一・秋山 茂

III. 研究成果の刊行（別刷）

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）
平成 19 年度総括研究報告書

公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究

主任研究者	遠藤 卓郎	国立感染症研究所 寄生動物部
分担研究者	倉 文明	国立感染症研究所 細菌第一部
	泉山 信司	国立感染症研究所 寄生動物部
	縣 邦雄	アクアス㈱ つくば総合研究所
	神野 透人	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部
	秋山 茂	北里大学・医療衛生学部
	坂上 吉一	近畿大学 農学部
	高鳥 浩介	帯広畜産大学 獣医学部

研究要旨： レジオネラ属菌汚染防止等の目的で温泉を含む浴用水の消毒は必須となっているが、その一方で消毒剤等の使用方法は泉質や設備構造などにより様ではない。厚生労働省の通知等では第一選択として塩素剤による消毒が勧奨されている。現在、市販されている消毒剤はアルコール系、アルコール配合剤、アルデヒド系、ハロゲン化合物（塩素系、ヨウ素系）、界面活性剤系（陽イオン、両性）、ビグアニド系、フェノール類および過酸化物質等に分類される。このうち、浴槽水に添加使用が可能なものはハロゲン化合物にほぼ限られるが、塩素消毒に関しても多くの問題を抱えている。例えば、塩素消費のある泉質、高 pH、多量の活性汚泥を蓄積させたる過漕を持つ構造、長い配管系に繁殖するバイオフィルム、あるいは入浴者自体による塩素消費など、いずれも塩素管消毒にとって大きな障害となっている。

塩素消毒による負の効果の 1 例として公衆浴場 6 施設を対象に消毒副生成物の検討を行ない、施設内空気中及び浴槽水中のトリハロメタン類および浴槽水中のハロ酢酸類の濃度調査から暴露評価を実施した。公衆浴場での 1 日あたりの THM 暴露量は、クロロホルムは TDI 値(=12.9 µg/kg/day)の 3 - 32%、プロモジクロロメタンでは TDI 値(=6.1 µg/kg/day)の 1 - 7%に相当する量であった。一方、HAAsの経皮暴露では、ジクロロ酢酸への暴露が VSD 値(=1.43 µg/kg/day)の 3.7%に相当する施設が 1 施設存在した。公衆浴場において TDI 値、あるいは VSD 値の 2%を超える暴露が想定される施設の存在が明らかとなり、これらの施設においては消毒副生成物の低減化策を講じる、若しくは少なくとも継続的なモニタリングを実施するレベルにあると判断された。

当該研究事業では、消毒剤の検討の末、塩素系の消毒剤であるクロラミン（結合型塩素）に着目し、浴槽水での使用の是非を検討した。モノクロラミンは化学的に安定で（残留性に優れ）、遊離残留塩素にくらべ効果は低いものの消毒作用を持つ。また、モノクロラミンではトリハロメタン等の消毒副生成物が産生されにくいことや、微香性などの特徴を有しており、適用の可否を検討すべきものとする。

当該年度においては、基礎的データの収集に努め、レジオネラ、宿主アメーバ、一般細菌

／従属栄養細菌等に対するクロラミン-Bの消毒効果、あるいはバイオフィーム形成に対する阻止効果を検討した。その結果、3.5 mg/Lでは3時間以内で、5.5 mg/Lでは、30分以内で不検出(4.5- \log_{10} 不活化)となった。クロラミンが低濃度の場合、pHの影響が大きく見られ、1.1 mg/Lの塩素濃度であってもpH 7.7では、6時間以内に不検出となったが、pH 8.9付近では6時間の処理時間では1.86 \log_{10} 程度の不活化に留まった。アメーバに対しては $Ct_{0.99} \approx 2,000$ であった。以上のことから、クロラミン-Bの消毒効果は遊離残留塩素に比べ遅効性であるが、残留性が強く維持管理が容易と考えられることから、浴槽等における宿主アメーバを含めたバイオフィーム対策についてはレジオネラ対策に十分な効果が望めるものと判断された。なお、好湿性の真菌類8種に対しては培地への添加実験では消毒効果は得られなかった。

あわせて、これまで各方面で用いられてきた消毒剤の殺菌効力評価法に関する文献的調査を実施し、浴槽および配管の消毒に適用する消毒剤の選定について考察した。また、浴槽施設の洗浄・消毒に際し、効果判法に関する基礎資料を整理し、浴槽水の消毒効果判定のための新たな指標生物の開発が必要である。

1. 研究目的

レジオネラ属菌類は20℃から45℃付近の温度環境で生育する細菌で、人体内ではマクロファージなど貪食細胞に寄生して増殖する。レジオネラ属菌は寄生性の細菌で、浴槽水などの温水環境ではアメーバなどの原虫類を宿主として増殖する。中でも、入浴施設はレジオネラに最も汚染されやすい施設と言える。『浴槽水の有機物 → 細菌繁殖 → 細菌捕食性微生物(アメーバ等)の繁殖 → レジオネラ汚染』という汚染の構図が成立している。このように原因が明らかとなれば対策は容易のはずであるが、現在使用されている入浴施設を対象とした場合、その対策は困難を極める。今後、実態調査を含めながら、入浴施設の設備や構造、管理方法、あるいは風呂の利用方法そのものの変更、換言すれば規制の変更を含めた消毒ならびに洗浄方法の検討が必要と考える。

2. 研究方法

1. 既刊の微生物制御法に関する成書の中からレジオネラ属菌、消毒剤(殺菌消毒剤)、バイオフィーム形成菌、殺菌効果、殺菌効力試験法に関する記述を精査し、図書館等の文献検索システム等を利用し、種々の研究報告を得、ま

た、試験方法の特徴をまとめた。

2. クロラミン消毒に着目し、レジオネラ属菌、宿主アメーバ、一般細菌／従属栄養細菌、真菌類、ならびにバイオフィーム着生阻止に係る消毒効果を実験室レベル、あるいは小規模モデル浴槽を用いて検討した。本年度は主に有機モノクロラミンであるクロラミン-Bを用いて各種微生物に対する消毒効果(Ct 値)を求めた。

3. 神奈川県内の公衆浴場6施設を対象に、施設内空气中及び浴槽水中のトリハロメタン類濃度及び浴槽水中のハロ酢酸類濃度について3回の調査を行い、その結果を基に暴露評価を実施した。

4. 浴槽施設あるいは管理会社から民間検査会社に検査委託された環境水試料の一部、172件を検討対象とした。これらは浴槽施設あるいは管理会社が自発的に検査を依頼したもので、洗浄等の前後に採水した試料と考えられる。したがって、採水前に検査に影響するような操作が加えられていない、実態に即した試料と考えられる。今回の試験では培養法とLAMP法との比較のため、培養陽性試料を優先的に

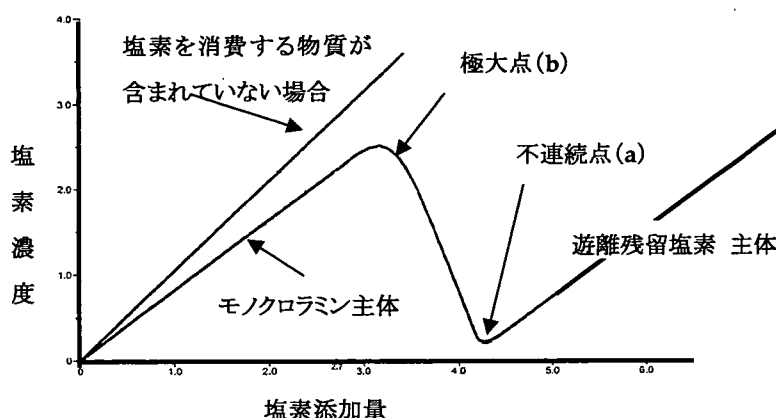
抜粋し、両試験結果を比較した。

3. 研究結果

クロロミン消毒の選択

塩素消毒は臭気、消毒副生成物の蓄積(後述)、高 pH、塩素消費物質を含む泉質、特定菌種に対する選択圧、バイオフィームへの浸透性に欠ける点など多様な問題を抱えている。その一方で、塩素消毒に代わる安全で効果的な消毒方法については良案がない(添付資料)。浴槽水の塩素消毒はいわば緊急避難的な処置に他ならず、物理的洗浄と換水による管理(溜め水をしない)が基本である。

遊離残留塩素による消毒に関しては、不連続点処理を理解する必要がある(図1)。すなわち、アンモニア性窒素(アンモニア性-N)等が存在する場合、ある局面で塩素の注入量と残留塩素濃度の間が乖離する現象が見られる。



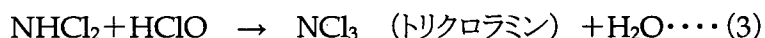
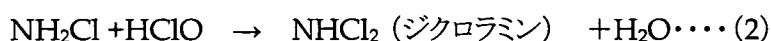
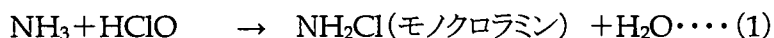
水道水で不連続点管理が可能なのは浄水処理による不純物の除去が徹底され、水質の安定した原水を対象としているからである。これに対して浴槽水では、塩素消費のある泉質、多量の活性汚泥を蓄積させたる過漕を持つ構造、長い配管系に繁殖するバイオフィーム、あるいは入浴者自身が塩素を消費することから、不連続点処理は事実上不可能である。ゆえに、現在のシステムを前提とする限り、「浴槽水の塩素

当初、塩素の添加量が増すにつれて遊離残留塩素が増加するが、ある濃度(極大値 (b))に達すると逆に残留塩素が減少し、極小点(a)に達する。極小点(a)以降は添加塩素量に比例して遊離残留塩素量は増加する。この極小点を不連続点(break point)と呼ぶ。この現象は水中のアンモニア性-Nと塩素が反応してクロラミン(結合塩素)が生成されるからで、当初はモノクロラミンが主に生成され、その後、ジクロラミン、さらにトリクロラミン(三塩化窒素)に移行し、やがて過剰の塩素により窒素にまで分解が進みアンモニア性-Nは完全に消費される。この時点を極小点(不連続点)と呼び、これ以降は添加量に応じて遊離残留塩素が増加する。厳密に言えば、不連続点以降ではじめて安定した遊離残留塩素による消毒が可能となる。水道水の塩素管理では必要に応じて不連続点処理が行われている。

消毒は緊急避難的な処置」で、塩素消毒はいわば換水後の洗浄の工程の一つとして理解すべきものとする。

翻って、浴槽水の消毒に際しては、入浴者にとって安全で、化学的に安定で(残留性に優れ)、高 pH 域での消毒効果が期待できる消毒剤が望まれる。さらに、現場で濃度測定が可能でなければならない。そこで、同じく塩素系の薬剤でモノクロラミン消毒について検討した。

クロラミンは水中のアンモニアと塩素の反応により、次式にしたがって生成される。



このうち、モノクロラミンは化学的に安定で(残留性に優れ)、遊離残留塩素にくらべ効果は低いものの消毒作用を持つ。また、モノクロラミンではトリハロメタン等の消毒副生成物が産生されにくいことや、微香性などの特徴を有している。そのため、米国や一部ヨーロッパの水道で配管系の微生物汚染対策に塩素に替わってモノクロラミンの使用が検討されている。これまでの報告によると、塩素はバイオフィーム表面で消費されるのに対し、クロラミンは表面で消費されずにバイオフィームへの浸透が起こる (LeChevallier and McFeters, 1988)。塩素消毒に比べ、モノクロラミン消毒がなされている配管系の大腸菌群数は1/35程度にまで抑えられ (LeChevallier et al., 1996)、病院の使用実績ではモノクロラミン/塩素消毒の比較でレジオネラの院内感染数は10倍以上の差があった (Kool et al., 1999)。また、給湯水中の菌数の減少にも効果が示されている(クロラミン消毒導入の前後でレジオネラは97.9cfu/mLから0.13cfu/mLに減少) (WHO, 2003)。大腸菌にくらべ、レジオネラはモノクロラミンに対する感受

性が高いとの報告もある()。一方、モノクロラミンは亜硝酸塩の生成や配管のパッキンに用いられる合成ゴム類を変性するなどの欠点も指摘されている (Wolfe et al., 1990)。加えて、飲用によるヒトへの毒性や魚類への毒性 (Bull and Kopfler, 1991) が知られており、飲料水への添加量の制限や排水時の注意が必要となる。

各種微生物に対するクロラミン消毒効果

アメーバ類に対する消毒効果: *Naegleria* 属アメーバに対してpH 7.5付近では、Ct値≒675 (モノクロラミン3mg/Lで4時間未満の処理に相当)で2~3-log₁₀のアメーバの不活化にはで達成された。また、pH 9.2で35℃の時、*Naegleria* 属アメーバに対してはCt値≒4,000 (モノクロラミン3mg/Lで22時間強の処理に相当)程度で4-log₁₀以上の不活化効果を示した。一方、*Acanthamoeba* に対してはCt値≒3,570 (モノクロラミン3mg/Lで20時間程度の処理に相当、pH中性域)で4-log₁₀以上の不活化が期待された。

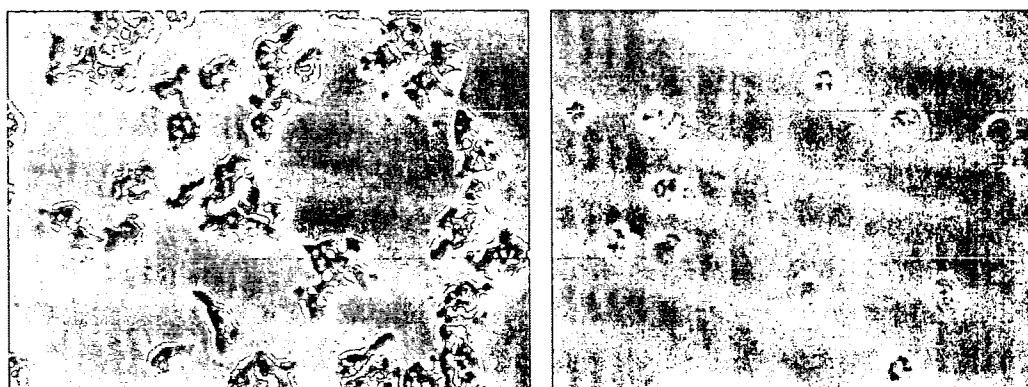


図 クロラミン消毒に用いられた *Naegleria lovaniensis*

クロラミン B によるアメーバ殺滅効果が確認された(右)

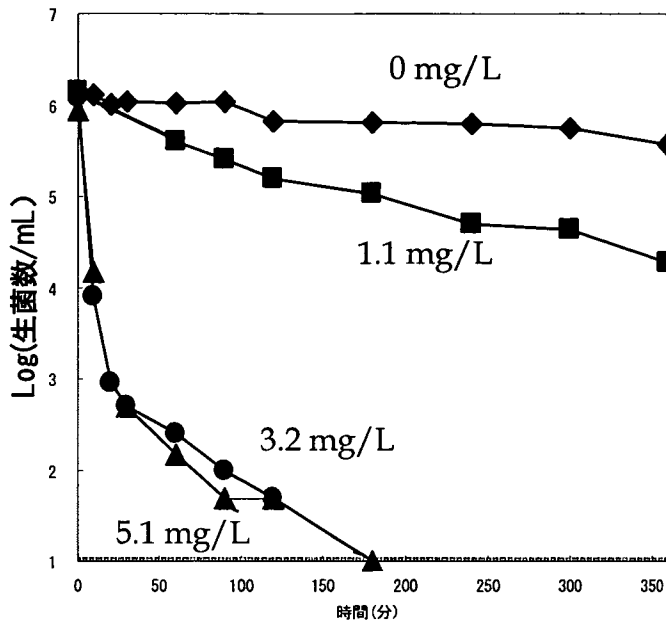
レジオネラ属菌に対する消毒効果

Legionella pneumophila Nagasaki 80-045 (血

清群1、臨床分離株)を用い、クロラミンBによる消毒効果を測定(40°C、pH ≒ 8~9)したところ、3.5 mg/Lでは3時間以内で、5.5 mg/Lでは、30分以内で不検出(4.5-log₁₀不活化)となった。クロラミンが低濃度の場合、pHの影響が大

きく見られ、1.1 mg/Lの塩素濃度であってもpH 7.7では、6時間以内に不検出となったが、pH8.9付近では6時間の処理時間では1.86log₁₀程度の不活化に留まった。

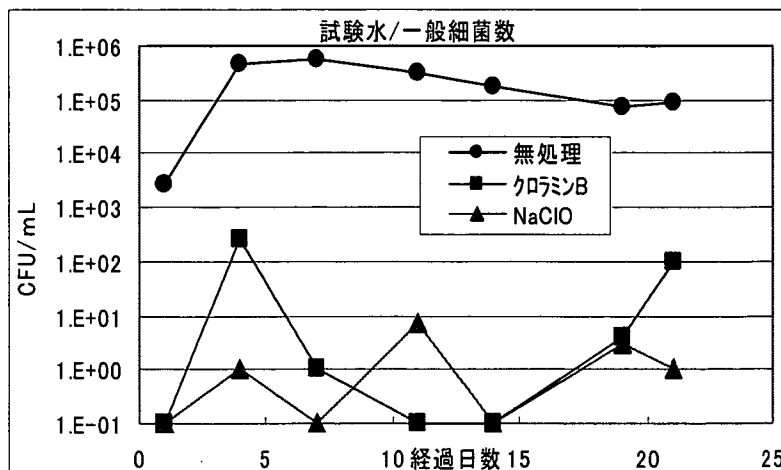
クロラミンBの*Legionella pneumophila*殺菌作用
(40°C、pH8.9)



一般細菌/従属栄養細菌に対する消毒効果
小規模モデル浴槽においてクロラミン-Bによる一般細菌/従属栄養細菌の増殖阻害効果を検討したところ、無処理群で水中の一般細菌数は10⁵cfu/mLにまで増殖したが、次亜塩素酸添加群およびクロラミンB添加群においてともに

ほぼ10cfu/mL以下に制御されていた(4-log₁₀程度の抑制効果)。従属栄養細菌に対しては消毒効果がやや低い傾向があるが、クロラミンBにより2~3log₁₀程度の抑制効果が認められた。

図 クロラミンBの濃度管理が行なわれている状況での一般細菌数の推移



真菌類に対する消毒効果

好湿性の真菌類 8 種 (*Cladosporium*、*Exiophiala*、*Aureobasidium*、*Trichoderma*、*Phoma*、*Candida*、藻類の *Prototheca*) に対してクロラミン B およびクロラミン T の消毒効果を検討した。クロラミン B および T を真菌培地に最高濃度 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう添加し、25 $^{\circ}\text{C}$ 、5 日間の共培養を行なったがいずれの種に対しても増殖抑制効果は認められ今後、環境水に類似の実験条件を設定し、再検討する予定である。

塩素消毒による副生成物の発生状況

塩素消毒の副生成物による汚染実態調査を行ったところ、公衆浴場の施設内空気中及び浴槽水中のトリハロメタン濃度(クロロホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン及びブロモホルム濃度の合計)、浴槽水中のハロ酢酸濃度(クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸濃度の合計)を調査した結果、クロロホルム、ブロモジクロロメタン及びジクロロ酢酸の推定暴露量がそれぞれの化合物の TDI (Tolerable Daily Intake: 耐容一日摂取) 値あるいは VSD 値 (毒性に関する閾値がないと考えられる化学物質について、原則として、その物質の摂取によって生涯を通じたリスクの増分が 10 となるリス

クレベルをもって TDI に相当する値、virtually safe dose (VSD) とする) の 2% を超過し、何らかの低減策を講じる必要のあるレベルに達していた施設が存在した。

塩素による消毒副生成物汚染の実態調査

浴室空気及び浴槽水中の総トリハロメタン濃度 (以下総 THMs 濃度、クロロホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン及びブロモホルム濃度の合計) の季節変動をまとめた。6 施設の浴室空気中総 THMs 濃度は、3 回の調査の平均値として、施設 A, 36 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; 施設 B, 207 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; 施設 C, 297 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; 施設 D, 65 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; 施設 E, 62 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; 施設 F, 37 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、調査時期ごとの 6 施設の平均値は 2007 年 2 月, 185 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; 2007 年 6 月, 78 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; 2007 年 10 月; 88 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。一方、浴槽水の総 THMs 濃度 (平均値) は、施設 A, 23 $\mu\text{g}/\text{l}$; 施設 B, 22 $\mu\text{g}/\text{l}$; 施設 C, 225 $\mu\text{g}/\text{l}$; 施設 D, 100 $\mu\text{g}/\text{l}$; 施設 E, 46 $\mu\text{g}/\text{l}$; 施設 F, 22 $\mu\text{g}/\text{l}$ であった。B 以外の施設では、浴槽水中及び浴室空気中総 THMs 濃度の平均値は概ね相関を示し、浴槽水から揮散した THMs が浴室空気の汚染源となっていることを裏付ける結果が得られた。

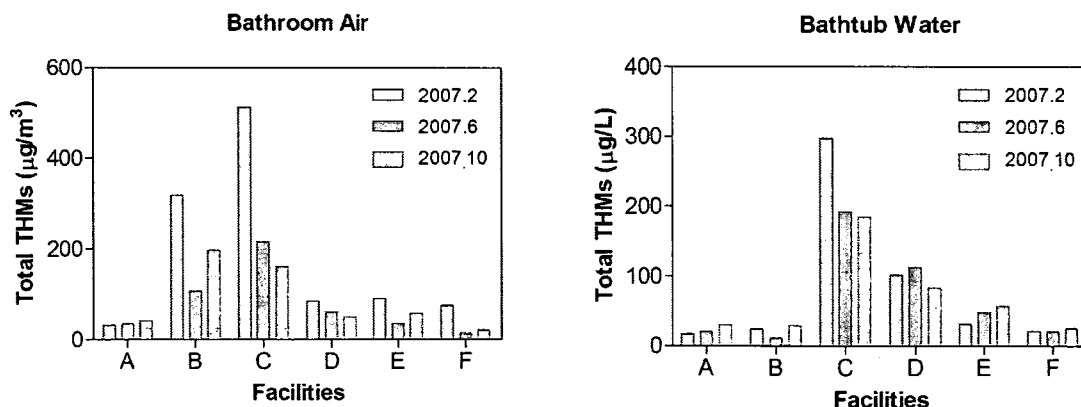


図 公衆浴場の浴室空気及び浴槽水中の総 THMs 濃度

レジオネラ属菌に関する薬剤感受性試験

現在、日本国内で市販されている消毒剤はアルコール系、アルコール配合剤、アルデヒド系、ハロゲン化合物(塩素系、ヨウ素系)、界面活性剤系(陽イオン、両性)、ピグアナイド系、フェノール類および過酸化剤等に分類される。このうち、浴槽水の消毒に使用可能な薬剤は使用実績も考慮すればハロゲン化合物のうちのごく限られた薬剤に絞られる。一方、浴槽システムの洗浄・消毒方法についてはほとんど整理されていない状態である。

民間検査機関に依頼された試料の測定結果に基づき、現在の浴槽の汚染状況について検討した。浴槽試料から培養で高濃度の検出が複数認められ、消毒の必要性を改めて確認した。ろ過機ドレーン等の培養試験では検討対象のほぼ全てから(29/30件)レジオネラ属菌が検出された。ろ過機内のバイオフィームは消毒では対処できず、定期的な洗浄が必要と考えられた。

4. 考察

浴槽水を対象とした塩素消毒では不連続点処理は成立し得ない。しかしながら、なおかつ塩素消毒に頼らざるを得ないとすれば、これまで通り過剰な塩素を入れ続けるか、本報告で提案する塩素消毒の派生物であるモノクロラミン消毒の選択ではないかと考える。当該年度の研究において、レジオネラ属菌、宿主アメーバ、あるいは一般細菌/従属栄養細菌に対して消毒効果が確認された。他の報告によれば、低分子量のモノクロラミンは、*L. pneumophila* に 1 mg/L(モノクロラミンとしての濃度)で15分の処理により 2-log_{10} (99%不活化)の不活化が認められ、平均 Ct_{99} 値=15 と計算されている(Cunliffe DA. Inactivation of *Legionella pneumophila* by monochloramine. J. Appl. Bacteriol.;68(5): 453-459, 1990.)。今回の実験に用いたモノクロラミンは有機クロラミンで、分子

量が多いことから他の報告に比べて消毒効果が低い傾向があった。1mg/L のクロラミン-B による99%の不活化には暫定的ながら pH 7.7 で約 240 と計算された。塩素濃度 3~5mg/L では 4.5-log_{10} の不活化に要する Ct 値はそれぞれ 630、165 と計算され、クロラミン-B によるレジオネラの殺菌は 3~5 mg/L の濃度が実用的と考えられた。

一方、モノクロラミン消毒を浴用水に用いた例はいまだ知られていない。したがって、後述の諸点につき検討する必要があるものと考え

1. 広範な pH 域での消毒効果の検討
2. 宿主アメーバに対する消毒効果判定
3. 一般細菌/従属栄養細菌の増殖抑制にかかる効果判定
4. レジオネラに対する消毒効果判定
5. 浴槽水システムでのモノクロラミン生成方法
浴槽水システムへの適用に際しては、比較的多量の有機物が含まれていることを前提に考えなければならず、したがって、水道水で用いられているような塩素にアンモニアを添加して浴槽水内でモノクロラミン(無機)を発生させる方式が可能なものか検討する必要がある。
6. 廃液処理の必要性の検討
モノクロラミンは魚類(恐らく水棲動物全般)に対する毒性が知られていることから、浴槽水の廃棄に際した注意点を検討する必要がある
7. その他

洗浄・消毒についてはバイオフィーム着生を抑える消毒管理(汚染防止)が基本的と考えるが、実際的にはバイオフィーム除去のための洗浄・消毒方法の提示も重要と考える。そのため、浴槽システムの洗浄・消毒の薬剤開発、あるいは方法論の確立に向けて評価方法の整備が次の課題となる。その際、病原性のない(P1 施設

対応) 指標細菌の選定が必要と考える。総毒効果の評価に必ずしも病原体を用いる必要はない。指標菌の条件として、レジオネラと同じ生態系に棲息し、培養等が容易であること、病原性が無く、レジオネラ属菌よりも薬剤耐性が強いこと、などの条件が求められよう。病原体を指標菌とした場合、バイオハザード対策の完備したP2施設が必須要件となることから、開発や評価に携わることのできる機関が限られてしまう。また、耐性菌の発生を抑える手段として、ローテーション殺菌法の構築、あるいは熱処理など物理的な消毒方法の評価もあわせて検討すべき課題と考える。

塩素消毒の副生成物による汚染実態調査を行ったところ、公衆浴場の施設内空気中及び浴槽水中のトリハロメタン濃度、浴槽水中のハロ酢酸濃度を調査した結果、クロロホルム、ブロモジクロロメタン及びジクロロ酢酸の推定暴露量がそれぞれの化合物のTDI値、あるいはVSD値の2%を超過し、何らかの低減策を講じる必要のあるレベルに達していた施設が存在していた。塩素消毒の低減、停止、代替消毒法への変更、あるいは換気等の対策によって解消することが必要と考えられた。

5. 結論

民間検査会社に搬入される浴槽水試料を対象にその汚染状況について検討した。浴槽試料から高濃度にレジオネラ属菌が培養で検出され、消毒の必要性を改めて確認した。浴槽以外の試料では、ほぼ全ての試料からレジオネラ属菌が検出され、徹底した洗浄が必要と考えられた。

一方、現行の塩素による消毒副生成物の濃度は施設により高い値のTDI値、あるいはVSD値が測定され、軽減措置、あるいは継続的なモニタリングの必要性が指摘された。今後、塩素消毒に係る注意事項として通知等で周知する必要があるものとする。

浴槽水の消毒方法として、塩素消毒の派生物質であるモノクロラミンに着目した。モノクロラミ

ンは化学的に安定で(残留性に優れ)、遊離残留塩素にくらべ効果は低いものの消毒作用を持つ。また、トリハロメタン等の消毒副生成物が産生されにくいことや、微香性などの特徴を有している。事実、米国や一部ヨーロッパの水道で配管系の微生物汚染対策に塩素に替わってモノクロラミンの使用実績がある。当該年度の検討において、レジオネラ属菌、宿主アメーバ、あるいは一般細菌/従属栄養細菌に対して一定の消毒効果が確認された。今後は実機レベルにおける消毒効果の検討、安全性の検討など検討を行う。

浴槽システムの洗浄・消毒方法の整備と評価方法の必要性が指摘された。あわせて、レジオネラ属菌の代替指標細菌の開発が必要である。

参考文献

1. LeChevallier MW, and McFeters GA. (1988) Microbiology of activated carbon. In *Drinking Water Microbiology, Progress and Recent Developments* (ed. McFeters), pp.104-119. Springer-Verlag. New York.
2. LeChevallier MW, Welch NJ, and Smith DB. (1996) Full-scale studies on factors related to coliform regrowth in drinking water. *Appl Environ Microbiol* 62:2201-2211.
3. Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety, eds. Bartram et al. 2003, WHO
4. Wolfe RL, Lieu NI, Izaguirre G and Means EG. (1990) Ammonia-oxidizing bacteria in a chloraminated distribution system: seasonal occurrence, distribution, and disinfection resistance. *Appl Environ Microbiol* 56:451-462.
5. Bull RJ and Kopfler FC. (1991) Health Effects of Disinfectants and Disinfection

Byproducts. American Water Work Association Research Foundation, Denver, CO.

6. 研究発表

論文発表

1. 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.
2. <特集:住環境と感染・アレルギー> 23(4), 65-68, 2007.
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. ビルと環境 117: 27-32, 2007.

学会発表

1. 高橋淳子, 久保田佳子, 大原直樹, 小島幸一, 香川(田中)聡子, 神野透人, 高鳥浩介: 公衆浴場および家庭内浴室における消毒副生成物の曝露評価. 第 28 回日本食品微生物学会, 2007. 9.
2. 遠藤卓郎: 温泉施設におけるレジオネラ感染予防のための適切な衛生管理手法、第 66 回日本公衆衛生学会、2007.10.
3. 蔵文明: レジオネラ属の管理基準、感染事例と菌濃度との関連、および分子疫学、第 66 回日本公衆衛生学会、2007.10.
4. Kura F, Amemura-Maekawa J, Suzuki-Hashimoto A, Chang B, Izumiyama S, Ichinose M, Endo T, Watanabe H: Surveillance of *Legionella* isolates from bathtub water in Japan:

An increase of the rate of *Legionella pneumophila* serogroup 1. 22nd Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Stockholm. June 2007.

5. Suzuki-Hashimoto A, Amemura-Maekawa J, Kura F, Chang B, Izumiyama S, Ichinose M, Watanabe H, Endo T: The surveillance of *Legionella* from cooling towers between 2001 and 2006 in Japan. 22nd Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Stockholm. June 2007.
6. 倉 文明、前川純子、鈴木敦子、常 彬、泉山信司、市瀬正之、遠藤卓郎、渡辺治雄: 浴槽水からのレジオネラ属菌の検出状況 -*Legionella pneumophila* 血清群 1 の増加-. 感染症学会、2007 年 4 月、京都.
7. 鈴木敦子、前川純子、倉 文明、常 彬、泉山信司、市瀬正之、渡辺治雄、遠藤卓郎: 冷却塔水からのレジオネラ属菌の検出状況 -2001 年度から 2006 年度まで-. 感染症学会、2007 年 4 月、京都.
8. 倉 文明: レジオネラ属菌の管理基準、感染事例と菌濃度との関連、および分子疫学、招請講演、行政研修フォーラム、公衆衛生学会、2007 年 10 月、松山.
9. 郡山洋一郎、中村由美子、青木眞里子、柴早苗、高橋朝子、鈴木龍雄、工藤寛子、前川純子、倉文明: 足立区における温泉水からのレジオネラ属菌検出事例について、第 20 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌部会、2 月.
7. 知的財産権の出願・登録状況、その他なし

(添付資料) 主要な消毒剤(殺菌消毒剤)とその特徴

分類	消毒剤名	使用濃度*	特徴等
アルコール系	消毒用エタノール	原液	速効性であるが、効果の持続性に若干の難点
	50%イソプロピルアルコール	原液	
	70%イソプロピルアルコール	原液	
アルコール配合剤	塩化ベンザルコニウム+エタノール**	原液	擦式消毒剤(水道設備のない環境で使用)
	グルコン酸クルルヘキシジン+エタノール***	原液	
アルデヒド系	グルタルアルデヒド	0.5~3%	器具(内視鏡など)の消毒に汎用(人体への使用は不可)
	ホルマリン	2%	
	オルトフタルアルデヒド	0.55%	
ハロゲン化合物	次亜塩素酸ナトリウム	0.02~0.05%	水道水消毒、器具消毒
	ポピドンヨード	原液(10%)	手術時の皮膚消毒、うがい等
界面活性剤系	塩化ベンザルコニウム	0.1%	器具消毒や皮膚消毒及び手指消毒にも使用
	塩化ベンゼトニウム	0.1%	
	塩酸アルキルジアミエチルグリシン	0.05~0.5%	
ビグアナイド系	グルコン酸クルルヘキシジン	0.1~0.5%	同上
フェノール類	フェノール	1~5%	使用頻度が減少
過酸化物	過酢酸	0.2~0.3%	内視鏡の消毒に適用
	過酸化水素	3%	傷口の消毒等に適用

*使用濃度については「殺菌・消毒マニュアル」(医歯薬出版株式会社、1998年)等を参考に記載した。

** 0.2%塩化ベンザルコニウムエタノール溶液、 *** 0.2%または0.5%グルコン酸クルルヘキシジンエタノール溶液

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
分担研究報告書

公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究

浴槽水を対象としたクロラミン消毒

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

1. はじめに

レジオネラ肺炎はレジオネラ属菌の感染に起因する疾病で、汚染された水から発生したエアロゾルの吸引、若しくは誤嚥により感染する。本症の潜伏期はおよそ2～10日とされ、典型的には多臓器障害を伴った肺炎を起こす。本症に罹患した患者は発熱、悪寒、および咳などの症状を示し、喀痰、筋肉痛、頭痛、食欲不振、希には下痢などの症状を伴うことがある。しかし、これらの症状は他の病原体に起因した肺炎でも見られるもので、症状のみによる鑑別診断は困難である。国立感染症研究所で集計されている感染症発生動向調査によると、本症の患者数は年々増加しており、2007年度はすでに630名を超えている。患者の年齢構成を見ると50～60歳代を中心として発生しており、明らかに老人に多い疾患と言える。また、患者の性比は概ね3～4:1で、男性に多い疾患としても有名である。原因が特定されなかった市中肺炎の5～15%がレジオネラ肺炎ではないかとも推測されている。また、旅行者に多い疾患でもあり、ヨーロッパ諸国では必ず肺炎患者の旅行歴を調査している。ちなみに、わが国におけるレジオネラによる死亡率は6.3%程度とされており、決して低い数値とは言えない。

レジオネラ属菌は基本的に寄生性の細菌

で、人体内では白血球の仲間（マクロファージなど）に寄生して増殖する。浴槽水などの温水環境ではアメーバなどの原虫類を宿主として増殖するもので、入浴施設はレジオネラに最も汚染されやすい施設と言える。その理由は、『浴槽水の有機物 → 細菌繁殖 → 細菌捕食性微生物（アメーバ等）の繁殖 → レジオネラ汚染』という汚染の構図が成立するからで、突き詰めればレジオネラ汚染は温水を滞留させることによって生じる問題と言える。このように原因が明らかとなれば対策は容易のはずであるが、現在使用されている入浴施設を対象とした場合にはその対策は困難を極める。今後、入浴施設の設備や構造、管理方法、あるいは風呂の利用方法そのものを変えない限り、消毒や洗浄をいかに工夫してもおのずから限界があると考えられる。

2. 浴槽水の水質基準と設備

ところで、公衆浴場法等における浴槽水質基準は濁度:5度以下、過マンガン酸カリ消費量(有機物汚染):25mg/L以下、大腸菌群:1個/ml以下、レジオネラ:不検出(10cfu/100ml未満)と定められおり、衛生上危害を生じる恐れがないことを条件に一部の例外規定も設けられている。これらの基準は、レジオネラに関する基準値を除いてはいずれ

も循環式浴槽が普及する以前の基準である。したがって、大型化した循環式入浴施設の安全管理に際して該基準が適当であるか否かは未だ検討されてはいない。

入浴施設は浴槽水の使用方法によって循環式と掛け流し式の2つに大別される。循環式浴槽におけるレジオネラ汚染はすでによく知られている。これまで、『浴槽水を循環使用する場合には、入浴者が持ち込む有機物(過マンガン酸カリ消費量)を取り除くことが必要で、そのためには生物浄化が必須である』かのように言われてきた。しかし、今日では溢水と新鮮な湯の補給の重要性が謳われ、浴槽は常に満水状態に保たれているものと承知する。このルールが守られる限り、浴槽水中の有機物量(過マンガン酸カリ消費量)が基準値を超えることはなく、『生物浄化』方式のろ過は不要である。生物浄化をやめることの利点は、最大のレジオネラの汚染源を絶つことにあり、洗浄・消毒の大幅な軽減につながる。

もう一方の方式である掛け流し式浴槽では湯水が一方向に流れることから、「安全」というイメージが定着している。しかしながら、掛け流し式浴槽にも源泉タンク、貯湯槽、給湯配管、浴槽などさまざまな装置で温水を滞留させていることから、循環式入浴施設と同様にレジオネラ汚染は免れない。

浴槽の管理は消毒および換水の励行に尽きるが、つまるところは管理者の意識に依存している。注意点を箇条書きにすると以下のようである。

- 1 ろ過装置に限らず貯湯槽を含む系全体のバイオフィルム対策(洗浄・消毒)
 - 1.1 掃除しやすいこと、
 - 1.2 単純な構造であること
 - 1.3 配管は短いこと
- 2 換水と清掃の励行

- 3 塩素剤等による消毒の必要性(残留効果)
- 4 塩素の消毒効果はpH依存性(アルカリ側では効果が激減)
- 5 紫外線照射等の殺菌は限定的(残留効果がない)
- 6 循環式浴槽に気泡発生装置などの併設はリスクの増加につながる
- 7 洗浄は管理者の熱意による

一方、レジオネラ問題に関しては利用者(消費者)側の問題も指摘されると考える。一般に大規模な浴槽やジェット噴流式の浴槽が好まれる傾向がある。浴槽の容量が大きくなれば循環装置の設置は必然である。消費者の直接・間接の要求が大規模浴槽施設やエアロゾルの発生につながる装置の普及を促している側面もある。

3. 消毒

レジオネラ属菌汚染防止等の目的で温泉を含む浴用施設の消毒は必須となっているが、その一方で消毒剤等の使用法は泉質や浴槽設備などにより一様ではない。厚生労働省の通知等では第一選択として塩素剤による消毒が推奨されている。しかし、塩素剤は高pHやある種の金属イオン、アンモニウムイオン、有機質等を多く含む泉質の湯などでは著しく効果を減ずることが指摘される。このような背景を基に、現場では十分な効果判定がなされないまま消毒剤が使用され、消毒の失敗、消毒副生成物による二次汚染、薬剤耐性菌等の出現など、混乱が危惧される。

あらためて各種の消毒剤・方法の洗い出しとそれらの作用機序の整理、浴槽水への適用性の評価・検証が必要と考える。また、適合する薬剤・方法については適正な使用方法を提示し、普及・啓発に努める必要がある。

当該研究では欧米の水道でバイオフィルム対策に用いられているモノクロラミン消毒に着目し、浴槽水への適用を試行している。基礎データを得るため、試験管内ならびにモデル浴槽における効果の検証を行なった。

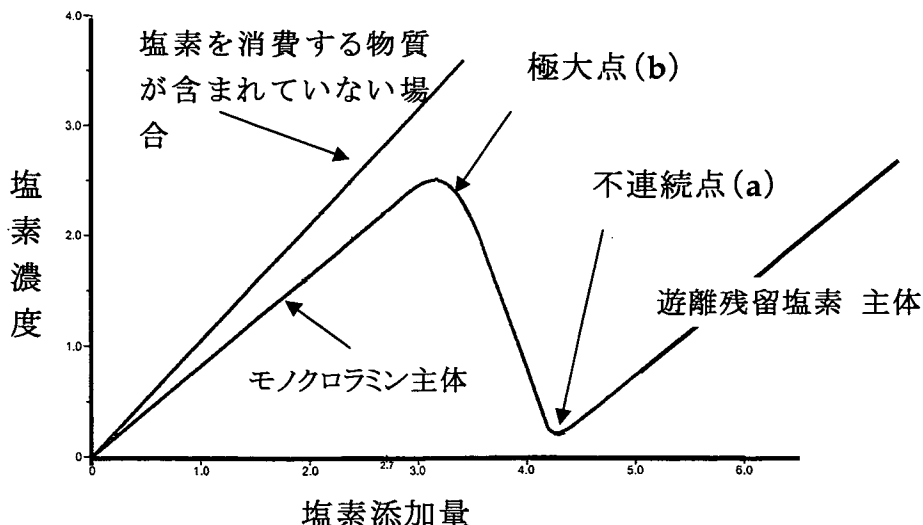
3.1. 塩素消毒と不連続点処理

現在、浴槽水の消毒にはもっぱら塩素剤が用いられているが、臭気、消毒副生成物の蓄積、高 pH など泉質との相性問題、最も病原性が強いとされるレジオネラ血清群1型 (*Legionella pneumophila* SG1) の選択的な増殖、バイオフィルム対策としては必ずしも効果的でないことなど多くの問題を抱えている。その一方で、塩素消毒に代わる安全で効果的な消毒方法については良案がない。浴槽水の塩素消毒はいわば緊急避難的な処置に他ならず、換水による管理(溜め水をしない)が基本である。

遊離残留塩素による消毒に関しては、不連続点処理を理解する必要がある(図)。すなわち、アンモニア性窒素(アンモニア性-N)等が存在する場合、ある局面で塩素の注入量と残留塩素濃度の間が乖離する現象が見られる。当初、塩素の添加量が増すにつれて遊離残留塩素が増加するが、ある濃度(極大値 (b))に達すると逆に残留塩素が減少し、極小点(a)に達する。極小点(a)以降は添加

塩素量に比例して遊離残留塩素量は増加する。この極小点を不連続点(break point)と呼ぶ。この現象は水中のアンモニア性-Nと塩素が反応してクロラミン(結合塩素)が生成されるからで、当初はモノクロラミンが主に生成され、その後、ジクロラミン、さらにトリクロラミン(三塩化窒素)に移行し、やがて過剰の塩素により窒素にまで分解が進みアンモニア性-Nは完全に消費される。この時点を極小点(不連続点)と呼び、これ以降は添加量に応じて遊離残留塩素が増加する。厳密に言えば、不連続点以降ではじめて安定した遊離残留塩素による消毒が可能となる。水道水の塩素管理では必要に応じて不連続点処理が行われている。

水道水で不連続点管理が可能なのは浄水処理による不純物の除去が徹底され、水質の安定した原水を対象としているからである。これに対して浴槽水では、塩素消費のある泉質、多量の活性汚泥を蓄積させたる過漕を持つ構造、長い配管系に繁殖するバイオフィルム、あるいは入浴者自身が塩素を消費することから、不連続点処理は事実上不可能である。ゆえに、上述したように「浴槽水の塩素消毒は緊急避難的な処置」で、塩素消毒はいわば換水後の洗浄の工程の一つと理解すべきものと考えられる。

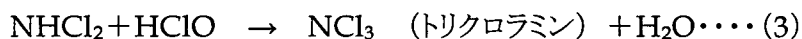
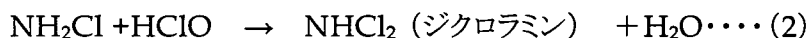
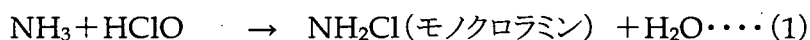


3.2. クロラミン消毒

翻って、浴槽水の消毒に際しては、入浴者にとって安全で、化学的に安定で(残留性に優れ)、高 pH 域での消毒効果が期待でき

る消毒剤が望まれる。さらに、現場で濃度測定が可能でなければならない。そこで、同じく塩素系の薬剤でモノクロラミン消毒について検討した。

クロラミンは水中のアンモニアと塩素の反応により、次式にしたがって生成される。



このうち、モノクロラミンは化学的に安定で(残留性に優れ)、遊離残留塩素にくらべ効果は低いものの消毒作用を持つ。また、モノクロラミンではトリハロメタン等の消毒副生成物が産生されにくいことや、微香性などの特徴を有している。そのため、米国や一部ヨーロッパの水道で配管系の微生物汚染対策に塩素に替わってモノクロラミンの使用が検討されている。モノクロラミンは塩素に比べバイオフィームへの浸透性が高く、より効果的であるとの報告がある。塩素の場合、反応性が非常に高いためにバイオフィーム内に浸透する前に表面で全て消費されてしまうものと考えられている。これに対してモノクロラミンの反応性は緩徐で、結果的にバイオフィーム内に浸透し内部の細菌類に消毒効果を発揮するものと考えられる。

モノクロラミン消毒がなされている配管系では大腸菌群の減少が認められ、塩素消毒がなされている配管系に比べて大腸菌群数は1/35(遊離残量塩素管理の水道水での大腸菌群数が0.6cfu/100mLであったのに対して、クロラミン処理の水道水では0.017cfu/100mL)であったとされる。さらに、このバイオフィームの増殖抑制効果から、レジオネラ汚染防止効果が示されている。それによると、病院内の配管系の消毒に塩素が用いられている場合とモノクロラミンが用いら

れている場合とでは、レジオネラの院内感染は10倍以上の差があったとされる。換言すると、クロラミンを用いていれば院内感染のレジオネラ症の90%は防げたものと試算した。クロラミン消毒導入の前後でレジオネラの菌数は97.9cfu/mL (n=72)から0.13cfu/mL (n=104)に減少したとの報告もある(Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety, eds. Bartram et al. 2003, WHO)。Legionella pneumophila はEscherichia coli(大腸菌)にくらべモノクロラミンに対する感受性が高く、2-log₁₀の不活化に要する時間は1mg/Lのモノクロラミンで15分間の処理で達成されるが、大腸菌ではその倍以上の37分間の処理が必要であったとされる。

一方、モノクロラミンは亜硝酸塩の生成や配管のパッキンに用いられる合成ゴム類を変性するなどの欠点も指摘されている。加えて、ヒトや魚類への毒性が知られており、飲料水ではその添加量が制限される。

3.3. 浴槽水のクロラミン消毒

浴槽水における塩素消毒を検討すると、多くの問題点が浮上してくる。遊離残留塩素による厳密な衛生管理を考えた場合、上述の不連続点処理が必須となる。ところが、ろ過槽をはじめとして配管系や浴槽に至るまで

多量の有機物(バイオフィームあるいは活性汚泥として)が存在している。加えて、入浴者によって系内に有機物が常に持ち込まれる構図となっており、また、入浴者の体表が塩素消費を行なう。これらのどの1つの条件をとっても不連続点処理には越えがたい障害であり、不連続点処理の可能性は考えられない。理論的な塩素消毒が不可能と判断される中でなおかつ塩素消毒に頼らざるを得ないとすれば、採るべき手段は2つに絞られる。1つはこれまで通りの方法で、プール水の管理と同様に過剰な塩素を入れ続けることである。2つ目の手段は塩素消毒の派生物であるモノクロラミン消毒の選択ではないかと考える。前者では、臭気、皮膚刺激、消毒副生成物の蓄積、pHを含め泉質との相性問題、選択圧によるレジオネラ血清群1型(*Legionella pneumophila* SG1)の増殖、バイオフィーム対策の放棄等々の解決策とはならず、現状の打開には程遠い。

他方、モノクロラミン消毒は水道水を対象に行なわれているが、浴用水に用いた例は

知られていない。したがって、以下の諸点につき検討する必要があるものとする。

1. 広範な pH 域での消毒効果の検討
2. 宿主アメーバに対する消毒効果判定
3. 一般細菌/従属栄養細菌の増殖抑制にかかる効果判定
4. レジオネラに対する消毒効果判定
5. 浴槽水システムでのモノクロラミン生成方法
浴槽水システムへの適用に際しては、比較的多量の有機物が含まれていることを前提に考えなければならず、したがって、水道水で用いられているような塩素にアンモニアを添加して浴槽水内でモノクロラミン(無機)を発生させる方式が可能なものか検討する必要がある。
6. 廃液処理の必要性の検討
モノクロラミンは魚類(恐らく水棲動物全般)に対する毒性が知られていることから、浴槽水の廃棄に際した注意点を検討する必要がある
7. その他

4. 参考資料

1. Bull RJ and Kopfler FC. (1991) Health Effects of Disinfectants and Disinfection Byproducts. American Water Work Association Research Foundation, Denver, CO.
2. Cunliffe DA. (1990) Inactivation of *Legionella pneumophila* by monochloramine. J Appl Bacteriol 68:453-459.
3. Kool JL, Carpenter JC, and Fields BS. (1999) Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial Legionnaires' diseases. Lancet 353(9149):272-277.
4. LeChevallier MW, and McFeters GA. (1988) Microbiology of activated carbon. In Drinking Water Microbiology, Progress and Recent Developments (ed. McFeters), pp.104-119. Springer-Verlag. New York.
5. LeChevallier MW, Lowry CD, and Lee RG. (1990) Disinfecting biofilms in a model distribution system. J Am Water Work Assoc 82:87-99.
6. LeChevallier MW. (1991) Biocides and the current status of biofouling control in water system. In Proceedings of an International Workshop on Industrial Biofouling and Biocorrosion, pp.113-132, Springer-Verlag, New York.
7. LeChevallier MW, Welch NJ, and Smith DB. (1996) Full-scale studies on factors related to coliform regrowth in drinking water. Appl Environ Microbiol 62:2201-2211.
8. Neden DG, Jones RJ, Smith JR, Kirmeyer GJ and Foust GW. (1992) Comparing chlorination and chloramination for controlling bacterial regrowth. J Am Water Work Assoc 84:80-88.
9. Skadsen J. (1993) Nitrification in distribution system. J Am Water Work Assoc 85:95-103.
10. Wolfe RL, Lieu NI, Izaguirre G and Means EG. (1990) Ammonia-oxidizing bacteria in a chloraminated distribution system: seasonal occurrence, distribution, and disinfection resistance. Appl Environ Microbiol 56:451-462.