

ミン B およびクロラミン T であった。クロラミン B および T を真菌培地に最高濃度 100 $\mu$ g/mL まで添加し、5 日間の共培養を行なったが、いずれの真菌種において発育阻害が認められず、今回の実験条件では真菌類類に対する消毒効果は期待できないものと結論された(図 2)。

#### C. 考察

クロラミン類のカビに対する不活化試験を行い、結果としてクロラミン B および T での最高濃度 100 $\mu$ g/ml において不活化が得られず、カビに対しては期待できないものであった。今回用いたカビ類は 8 種であり、水系に多いとされる好湿性の *Cladosporium*、*Exiophiala*、*Phoma*、*Trichoderma*、*Aureobasidium*、などであり、今回の浴場での主要カビとしても見ることができる。また水系として時折検出される、藻類の *Prototheca* についても検討したが、カビ同様に効果が期待できなかった。それではどのような剤が効果あるかは次年度以降になるが、少なくとも今まではカビ類についてほとんど検討されていなかっただけに剤の開発が望まれるところである。

#### D. 結論

クロラミン類のカビに対する不活化試験を行った。用いたカビを含めた 8 種では、好湿性の *Cladosporium*、*Exiophiala*、*Phoma*、*Trichoderma*、*Aureobasidium*、*Candida*、藻類の *Prototheca* であった。用いたクロラミン類は、クロラミン B およびクロラミン T であった。クロラミン B および T での最高濃度 100 $\mu$ g/mL において不活化が得られず真菌類では効果が期待できないものと結論された。

#### E. 研究発表

- (1) 論文発表  
なし
- (2) 学会発表  
なし

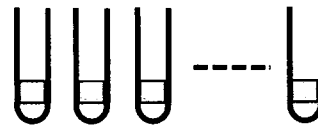
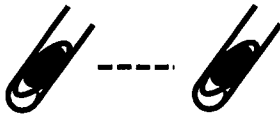
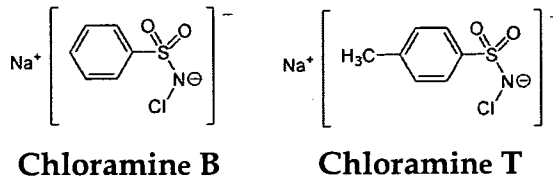
#### F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

図1. Chloramine 類のカビに対する不活化試験

試験法 & 手順

PDA培地に25□、7□14日間  
前培養

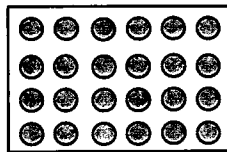


菌液  
( $1 \times 10^6/\text{ml}$ )



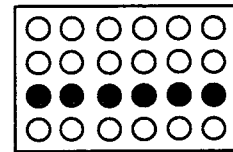
菌液接種

薬剤接種



25°Cで  
5日間培養

判定



試験菌:

- 1) *Aspergillus niger* TSY-0579(IFO-6661)
- 2) *Cladosporium cladosporioides* TSY-0376
- 3) *Exophiala* TSY-0177
- 4) *Phoma* TSY-0437
- 5) *Trichoderma* TSY-0248
- 6) *Aureobasidium pullulans* TSY-0080
- 7) *Candida albicans* TSY-1097
- 8) *Prototheca* TSY-1125

2. 試験濃度:

- 1) Chloramine B: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 0ug/ml
- 2) Chloramine T: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 0ug/ml

菌名	Chloramine B & T の濃度 (µg/mL)					
	100	50	25	12.5	6.25	対照
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Cladosporium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Exophiala</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Phoma</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Trichoderma</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Aureobasidium pullulans</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Prototheca</i>	+	+	+	+	+	+

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

公衆浴場における消毒副生成物の暴露評価に関する研究

分担研究者 神野 透人 国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部・室長  
研究協力者 高橋 淳子 (財)食品薬品安全センター秦野研究所・水質検査室長  
香川 聡子 国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部・主任研究官

研究要旨：神奈川県内の公衆浴場 6 施設を対象に、施設内空気中及び浴槽水中のトリハロメタン類 (THMs) 濃度及び浴槽水中のハロ酢酸類 (HAAs) 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。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 12.9  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  の 3 - 32% (0.36 - 4.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、ブロモジクロロメタンでは TDI 6.1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  の 1 - 7% (0.06 - 0.44  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 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 1.43  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  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これらの消毒副生成物については、何らか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言えよう。

A. 研究目的

公衆浴場等の浴用施設ではレジオネラ属菌等による汚染防止策として一般に塩素による消毒が実施されている。しかしながら、浴槽水の水質によっては塩素では十分な消毒効果が期待できない場合もあり、塩素に代わるあるいは塩素を補完する消毒剤の必要性が高まっている。このような塩素代替消毒剤の浴槽水への適用可能性を評価・検証する際には、消毒効果はもとより、消毒剤自体の健康影響や浴槽水中の有機物と消毒剤との反応によって生じる副生成物の健康影響も考慮する必要があると考えられる。

そこで、本研究では現行の塩素消毒で生成する主要な消毒副生成物について、施設内空気中及び浴槽水中の濃度を測定し、公衆浴場

での入浴時における暴露量の推計を行った。

B. 研究方法

B-1 試料採取

平成 19 年 2 月、平成 19 年 6 月及び 10 月に神奈川県内の公衆浴場 6 施設において、脱衣場及び浴室 (洗い場並びに浴槽近辺) 並びに屋外の空気を採取した。携帯型ポンプ (柴田化学製 MP-Σ30) を床上約 1.2 m の位置に設置し、脱衣場及び浴室内の空気を 75 ml/min の流速で 10 分間吸引し、直列に接続した 2 本の Tenax TA 管 (Supelco, 1/4" × 3.5") でトリハロメタン類 (THMs) を捕集した。空気のサンプリングと並行して、水中の THMs 及びハロ酢酸類 (HAAs) 測定用に浴槽水及びシャワー水を採水した。

B - 2 Thermal Desorption - GC/MS 及び Headspace - GC/MS による THMs の定量  
Tenax TA 管で捕集した THMs の TD-GC/MS 分析には島津製作所製加熱脱着装置 TDTS-2010 及び GC/MS QP-2010 を用い、Headspace - GC/MS による浴槽水及びシャワー水中の THMs 分析には PerkinElmer 製 HS-40 及び QO-2010 を使用した。

### B - 3 浴槽水中 HAAs の定量

検水 50 ml に硫酸 (1+1) を加えて pH を 0.5 以下に調整し、NaCl 20 g を加えて混和した後に *tert*-ブチルメチルエーテル 4 ml で HAAs を抽出した。*tert*-ブチルメチルエーテル層 2 ml にジアゾメタン溶液 0.2 ml を加えて誘導體化し、得られた HAAs のメチルエステルを GC/MS で定量した。GC/MS は Shimadzu QP-5000 を使用し、分離はキャピラリーカラム Rtx-5MS (0.25 mm×30 m, 膜厚 1 µm) を用いた。カラムオープン温度を 5°C (2 min) → 15°C/min → 140°C → 20°/min → 250°C (1 min) で昇温させて測定を行った。

### C. 研究結果

図 1 は浴室空気及び浴槽水中の総 THMs 濃度 (クロロホルム、ブromoジクロロメタン、ジブromoクロロメタン及びブromoホルム濃度の合計) の季節変動をまとめたものである。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 µg/m<sup>3</sup>; 施設 B, 207 µg/m<sup>3</sup>; 施設 C, 297 µg/m<sup>3</sup>; 施設 D, 65 µg/m<sup>3</sup>; 施設 E, 62 µg/m<sup>3</sup>; 施設 F, 37 µg/m<sup>3</sup> であり、調査時期ごとの 6 施設の平均値は 2007 年 2 月, 185 µg/m<sup>3</sup>; 2007 年 6 月, 78 µg/m<sup>3</sup>; 2007 年 10 月; 88 µg/m<sup>3</sup> であった。一方、浴槽水の総 THMs 濃度 (平均値) は、施

設 A, 23 µg/l; 施設 B, 22 µg/l; 施設 C, 225 µg/l; 施設 D, 100 µg/l; 施設 E, 46 µg/l; 施設 F, 22 µg/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良い相関を示し、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 2 は浴室空気及び浴槽水中の THMs について化合物ごとの年間平均濃度を示したものであり、B 以外の施設では何れも検出された THMs の大部分をクロロホルムが占めていた。これに対して、施設 B では臭素化 THMs の比率が比較的高く、浴槽水の THMs 濃度に比して浴室空気中の濃度が高い傾向にある (図 1) ことと併せて考えると、浴槽水の塩素消毒とは異なるプロセスでの THMs 生成 (例えば、浴室の漂白・洗浄等) を考慮する必要があるかもしれない。

図 3 は浴槽水中の HAAs 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) の季節変動をまとめたものである。浴槽水の HAAs 濃度 (3 回の調査の平均値) は、施設 A, 0.117 mg/l; 施設 B, 0.011 mg/l; 施設 C, 0.741 mg/l; 施設 D, 0.387 mg/l; 施設 E, 0.115 mg/l; 施設 F, 0.081 mg/l であった。また、図 4 に示したように、A 以外の施設ではジクロロ酢酸が主要な HAA 種であり、施設 A においても 3 回の調査のうちの 1 回 (2007 年 2 月) で高いトリクロロ酢酸濃度が観察された以外にはジクロロ酢酸の占める割合が最も高いという結果が得られた。平成 17 年度水道統計によれば、給水栓水中のジクロロ酢酸濃度 (平均値) の分布は 97.8% が 0.004 mg/l 以下、最高でも 0.028~0.032 mg/l (1 例) であり、公衆浴場浴槽水の HAAs 濃度は極めて高いと言えよう。

#### D. 考察

表 1 は、下記の暴露シナリオに基づいて公衆浴場における THMs の総暴露量を推計したものである。

- 1) 成人の 1 日あたりの呼吸量を  $15 \text{ m}^3$ 、体表面積を  $1.48 \text{ m}^2$  と仮定し、体表面積の 80% が浴槽水に浸かるものとした。
- 2) 経口暴露は無視できる程度であると推察されるが、ここでは取って浴槽水  $0.1 \text{ l}$  を誤飲するものと想定した。
- 3) 脱衣室で 15 分間、浴室で 30 分間を過ごし、その間に浴槽水に 15 分間浸かるものと仮定した。
- 4) 皮膚透過係数は Xu et al. (2002) の報告した値 (クロロホルム,  $0.16 \text{ cm/h}$ ; ブロモジクロロメタン,  $0.18 \text{ cm/h}$ ; ジブロモクロロメタン,  $0.20 \text{ cm/h}$ ; ブロモホルム,  $0.21 \text{ cm/h}$ ) を採用した。

公衆浴場における 1 日あたりのクロロホルム総暴露量は  $18 - 209 \mu\text{g}$  ( $0.36 - 4.2 \mu\text{g/kg}$ ) であり、これは水道水基準の根拠である TDI (Tolerable Daily Intake: 耐容一日摂取)  $12.9 \text{ mg/kg/day}$  の 3 - 32% に相当する。同様に、公衆浴場での入浴によって、ブロモジクロロメタンでは  $2.9 - 22 \mu\text{g}$  ( $0.06 - 0.44 \mu\text{g/kg}$ ) で TDI  $6.1 \mu\text{g/kg/day}$  の 1 - 7%、ジブロモクロロメタンでは  $0.8 - 17 \mu\text{g}$  ( $0.02 - 0.34 \mu\text{g/kg}$ ) で TDI =  $21 \mu\text{g/kg/day}$  の最大で 2% に相当する量の暴露を受けることになる。

図 5 は公衆浴場での THMs 暴露における各暴露経路の寄与率を示したものである。浴槽水に比して浴室空気中の THMs 濃度が高い施設 B では経気道暴露の占める割合が高い (全体の約 80%) 傾向が認められるものの、全施設の平均では何れの THM についても経気道及び経皮からの暴露がほぼ同等の寄与をすることが明らかになった。

表 2 は HAAs の経皮及び(誤飲を想定した)経口からの暴露量を推計したものである。暴露シナリオは THMs の場合と同様とし、皮膚透過係数はクロロ酢酸,  $1.1 \times 10^{-3} \text{ cm/h}$ ; ジクロロ酢酸,  $1.9 \times 10^{-3} \text{ cm/h}$ ; トリクロロ酢酸,  $1.9 \times 10^{-3} \text{ cm/h}$  (Xu et al., 2002) を採用した。前述したように、浴槽水中の HAAs 濃度は水道水と比較して極めて高いものの、皮膚透過係数が小さい (THMs の 1/100 程度) ため、クロロ酢酸及びトリクロロ酢酸では経皮暴露量は TDI (それぞれ  $3.5, 32.5 \mu\text{g/kg/day}$ ) の 0.1% 未満であった。しかし、ジクロロ酢酸については施設 C で VSD<sup>註</sup> ( $1.43 \mu\text{g/kg/day}$ ) の 3.7%、施設 D で 1.6% に相当する量の経皮暴露を受けることとなり、何らかの軽減策・対応策が必要なレベルにあると考えられる。

注: 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は、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上記の TDI に相当する値、virtually safe dose、VSD とする。

#### E. 結論

神奈川県内 6 施設の公衆浴場で施設内空気中及び浴槽水中の THMs 濃度、浴槽水中の HAAs 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であることが明らかになった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

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 (2007) 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.

## 2. 学会発表

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

## G. 知的所有権の取得状況

なし

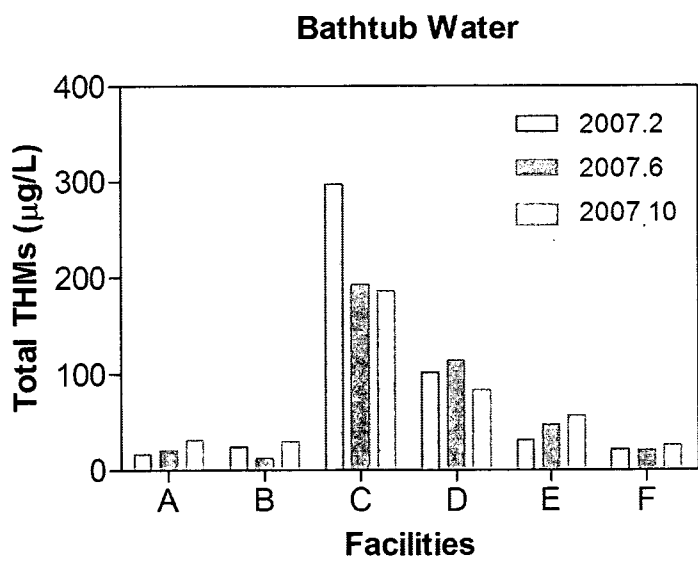
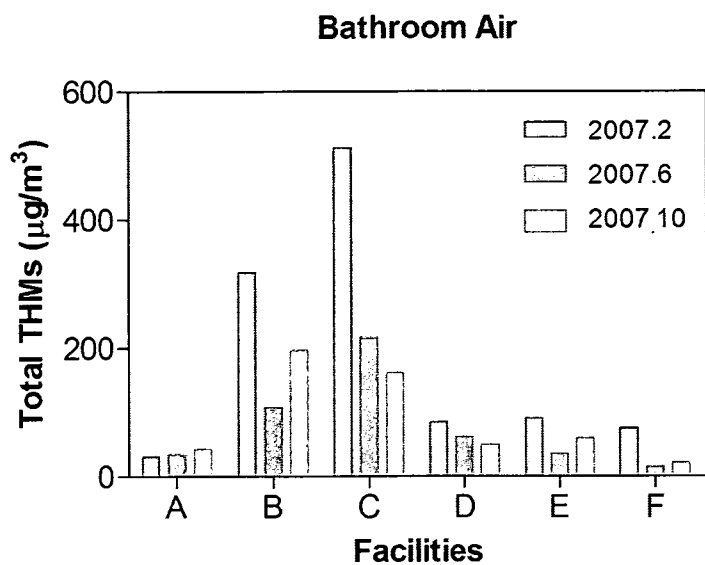


図 1 公衆浴場の浴室空気及び浴槽水中の総 THMs 濃度



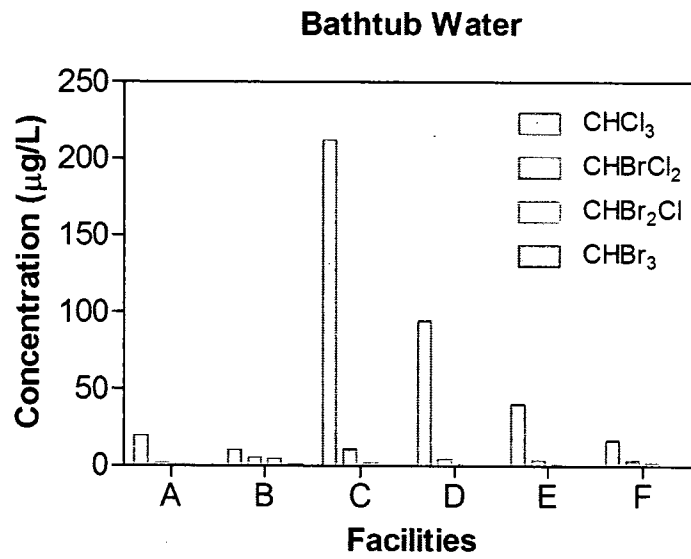
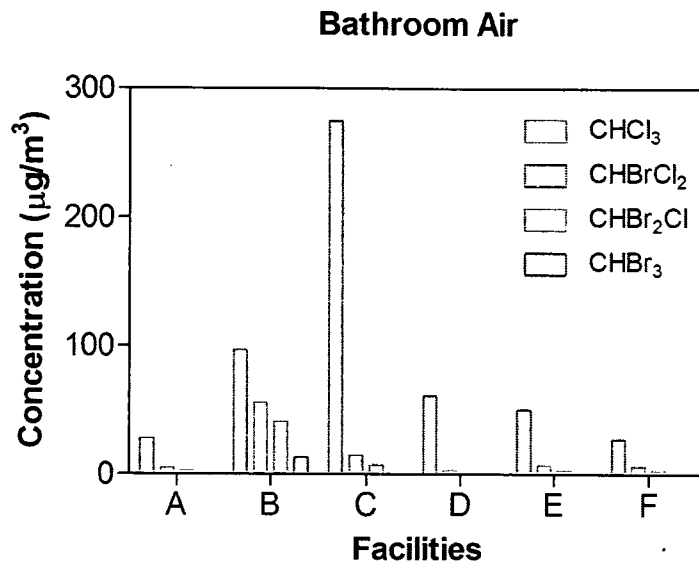


図2 公衆浴場の浴室空気及び浴槽水中の THMs 年平均濃度

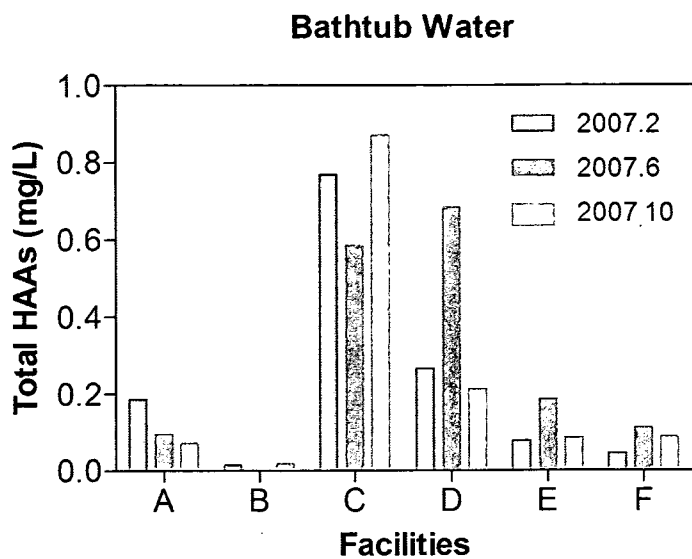


図3 公衆浴場浴槽水中の総 HAAs 濃度

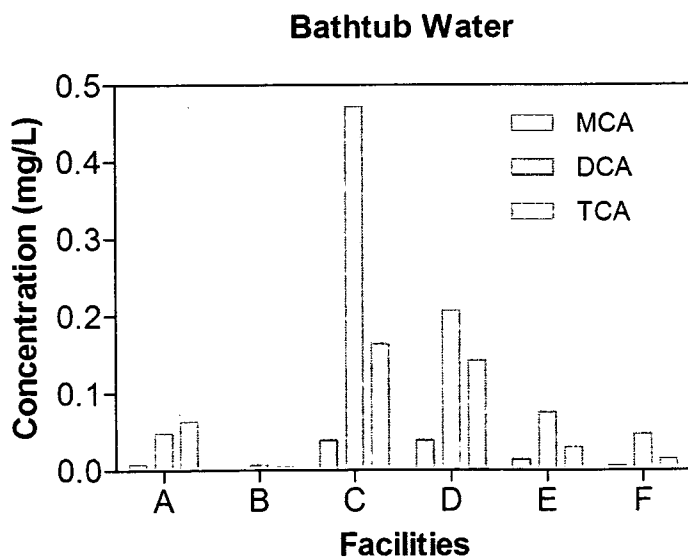


図4 公衆浴場浴槽水中の HAAs 年平均濃度

表 1 公衆浴場における THMs の暴露評価

施設	THMs	経口暴露量 (µg)	経皮暴露量 (µg)	吸入暴露量 (µg)	総暴露量 (µg)
A	CHCl <sub>3</sub>	8.7	9.2	1.9	19.9
	CHBrCl <sub>2</sub>	1.5	1.1	0.2	2.9
	CHBr <sub>2</sub> Cl	0.9	0.5	0.1	1.5
B	CHBr <sub>3</sub>	0.2	0.1	0	0.3
	CHCl <sub>3</sub>	32.2	4.9	1.0	38.2
	CHBrCl <sub>2</sub>	18.7	2.9	0.6	22.2
	CHBr <sub>2</sub> Cl	13.8	2.8	0.5	17.1
	CHBr <sub>3</sub>	4.3	0.7	0.1	5.0
C	CHCl <sub>3</sub>	87.1	100.5	21.2	208.8
	CHBrCl <sub>2</sub>	4.6	5.7	1.1	11.4
	CHBr <sub>2</sub> Cl	2.3	1.3	0.2	3.8
	CHBr <sub>3</sub>	0	0.1	0	0.1
D	CHCl <sub>3</sub>	19.6	44.6	9.4	73.7
	CHBrCl <sub>2</sub>	1.1	2.5	0.5	4.1
	CHBr <sub>2</sub> Cl	0.2	0.5	0.1	0.8
E	CHBr <sub>3</sub>	0	0	0	0
	CHCl <sub>3</sub>	15.7	19.0	4.0	38.8
	CHBrCl <sub>2</sub>	2.3	2.0	0.4	4.7
F	CHBr <sub>2</sub> Cl	1.0	0.8	0.1	2.0
	CHBr <sub>3</sub>	0.2	0.1	0	0.4
	CHCl <sub>3</sub>	8.6	7.8	1.7	18.1
	CHBrCl <sub>2</sub>	2.0	1.8	0.3	4.1
	CHBr <sub>2</sub> Cl	1.0	1.2	0.2	2.4
	CHBr <sub>3</sub>	0.2	0.3	0	0.5

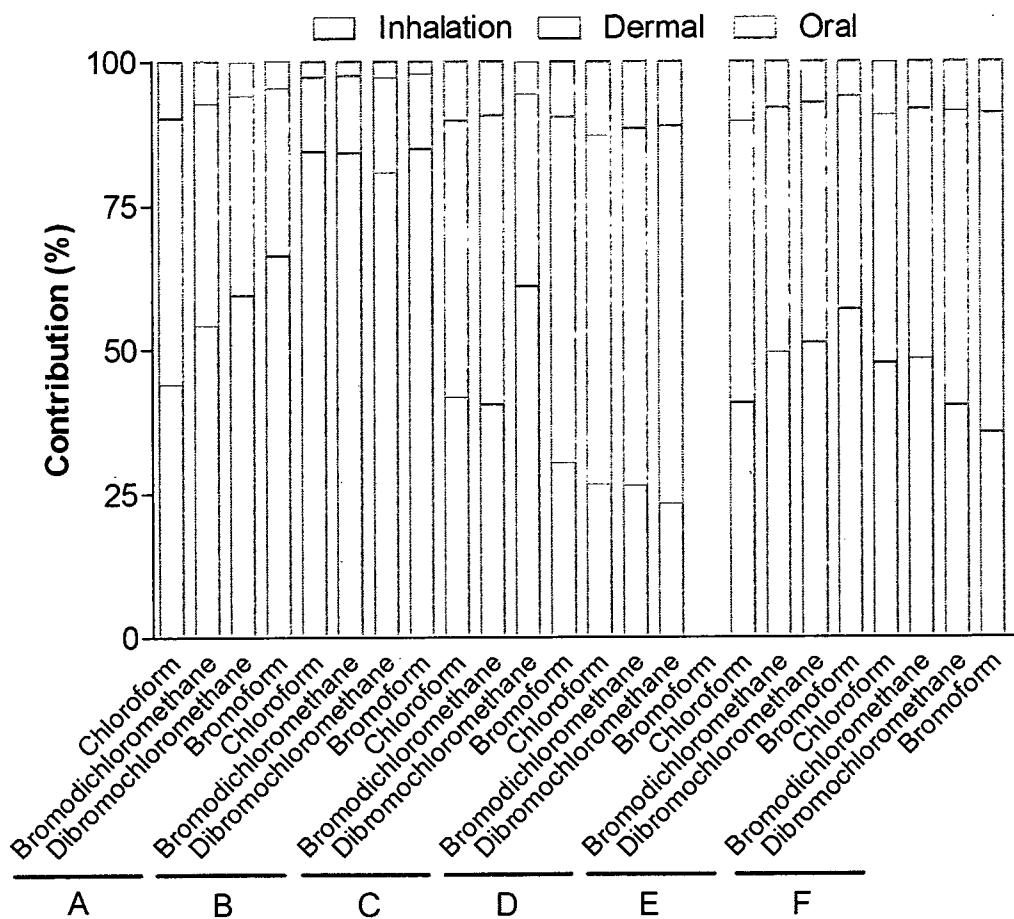


図5 公衆浴場での THMs 暴露における暴露経路毎の寄与率

表2 公衆浴場におけるHAAsの暴露評価

施設名	HAAs	暴露量 (μg)	暴露量 (μg)
A	Chloroacetic Acid	0.02	0.72
	Dichloroacetic Acid	0.27	4.73
	Trichloroacetic Acid	0.35	6.28
B	Chloroacetic Acid	0	0.02
	Dichloroacetic Acid	0.04	0.67
	Trichloroacetic Acid	0.02	0.39
C	Chloroacetic Acid	0.12	3.80
	Dichloroacetic Acid	2.66	47.22
	Trichloroacetic Acid	0.92	16.40
D	Chloroacetic Acid	0.13	3.85
	Dichloroacetic Acid	1.16	20.66
	Trichloroacetic Acid	0.80	14.23
E	Chloroacetic Acid	0.04	1.34
	Dichloroacetic Acid	0.43	7.58
	Trichloroacetic Acid	0.17	3.03
F	Chloroacetic Acid	0.02	0.55
	Dichloroacetic Acid	0.26	4.70
	Trichloroacetic Acid	0.08	1.45

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

消毒剤の効果判定と使用方法の検討

分担研究者 秋山 茂 北里大学医療衛生学部  
坂上 吉一 近畿大学農学部

研究要旨： 浴場水を介したレジオネラ症の発生が散見され、公衆衛生上の社会問題になっている。厚生労働省は浴場水の衛生管理の徹底を指示しているが、レジオネラ属菌の微生物生態の特殊性から効果的な消毒方法が確立されていないのが現状である。それを確立するためには、消毒剤の効果判定を適確に行うことが重要であることから、初年度はこれまで行われ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た。

A. 研究目的： 浴場水を介したレジオネラ症の発生を防止するためには、浴場水中のレジオネラ属菌を殺菌消毒する必要がある。そのためには殺菌消毒剤を用いたり、オゾンや電気分解水、銀や銅などの持つオリゴダイナミー、酸化チタンの光触媒作用、紫外線などの利用が提案されている。しかし、いずれにしてもそれらの殺菌効力の評価方法は一様ではなく、直接その効力を比較することが出来ない。殊に殺菌消毒剤の効力の評価方法は種々考案され、諸外国では公定法として定められているものもあるが、我が国では公定法を定めていない。レジオネラの消毒法を提案するに当たって、消毒剤の殺菌効力を適確に比較できる評価法が必要であることから、現在までに提案された殺菌効力評価法を整理することを目的とした。

B. 研究方法： 既刊の微生物制御法に関する成書の中から殺菌効力試験法

に関する記述を精査し、試験方法の特徴をまとめた。一方、各種の微生物制御用語をキーワードにしてインターネットで文献検索をした。

C. 研究結果：

1. 殺菌力の評価に用いられている指標  
1) 石炭酸係数

*Salmonella Typhi*(チフス菌)あるいは *Staphylococcus aureus*(黄色ブドウ球菌)を指標微生物として、5分間の作用では殺菌し得ないが 10分間の作用で殺菌しうる石炭酸の最大希釈倍数と被検薬剤の最大希釈倍数の比で表したものの。単に石炭酸係数という場合は、*Salmonella Typhi*を指標菌にしたもので、*Staphylococcus aureus*を指標菌にした場合には、菌名を記載して *Staphylococcus aureus* 石炭酸係数という。

殺菌力を数値化したことで薬剤(製剤)間の殺菌力を比較できるが、希釈しないで使用する製剤の評価には適さない。

## 2) モル石炭酸係数

石炭酸係数に被検薬剤の分子量を石炭酸の分子量で割った値を掛けたものである。分子構造の似通った薬剤間では比較出来るが、分子量の大きな薬剤で係数が大きくなり、必ずしも薬剤間の殺菌力を正しく比較できない。

## 3) 最小発育阻止濃度 (MIC)

抗生物質の抗菌力を表すのに用いられるが、消毒剤の微生物に対する発育抑制力を比較するためにも用いられる。発育を阻止するための最小濃度であって殺菌力を示すものではないが、薬物の抗菌スペクトルの検討や共存物(有機体:汚れ)の影響を見るに適している。

## 4) 最小殺菌濃度 (MBC)

MICを求めた際に微生物の発育を阻止した薬剤濃度について、さらに薬効を中和(不活化)して培養した時に微生物の発育が観察されない最小濃度である。一般にMICよりも高濃度である。

## 5) その他

薬物の殺菌作用経過が微生物の対数的死滅則に従う場合には、死滅速度恒数や90%死滅時間(D値)、あるいはD値を1/10にする条件の変化量(Z値)などを用いることがあるが、薬剤の効力比較よりも微生物の抵抗性の比較に利用されることが多い。

## 2. 殺菌力評価試験法

効力評価試験法は、固定菌法と浮遊菌法に大別される。専ら用いられているのは浮遊菌法である。代表的な浮遊菌法による殺菌効力試験法には次の様な方法がある。

## 1) 石炭酸係数測定法

最も歴史のある試験法でAOAC(The Association of Official Analytical Chemists)に採用されている。試験温度は20℃である。操作法は簡便で特別な器材も必要としないが、安定した試験成績を得るには技術的な熟練と温度管理が必要である。試験操作法の模式図を図-1に示した。この手技に準じて種々の変法が考案されているので、単に石炭酸係数を比較する場合には注意が必要である。

石炭酸係数を求めるのではなく、同じ手技で温度の影響や短時間作用の効果を試験することが出来る。

## 2) 有機物共存下の試験法

使用濃度を定める際の参考にする試験法として考案されたものである。試験操作法の模式図を図-2に示した。石炭酸係数測定法が被検薬液の中に菌液を加えて菌の死滅を試験するのに対して、微生物を含む有機体液に被検薬液を加えて試験するところが異なる。

## 3) ハロゲン系消毒薬の試験法

AOACに採用されている Available Chlorine Germicidal Equivalent Concentration Method である。次亜塩素酸ナトリウムを対比消毒薬として、10mlの薬液に0.05mlの菌液を加えその1分後に1白金耳を後培養する。その30秒後に再び菌液を加え1分後に後培養する。この操作を10回繰り返して、何回目の菌液注加まで殺菌しうるかを試験するものである。

## 4) 改良 Kelsey-Sykes 法

消毒薬が使用上有効であるか否かを評価する試験法として1969年に考案されたKelsey-Sykes法に改良を加えて1974年に発表された試験法である。使用する場所

で最も抵抗性を示す菌の選択試験、その菌に対する有効性試験、使用後のフォローアップ試験の三段階の試験から成り立っている。試験操作模式図を図-3に示した。更に有機体共存下の試験もある。石炭酸係数測定法とハロゲン系消毒薬の試験法の術式を組み合わせた様な試験法で、操作が煩雑なことから余り普及はしていない。

5)ヨーロッパ標準殺菌効力試験法

ECの標準化委員会が2000年にヨーロッパ標準殺菌効力試験法として定めたものである。作用させた微生物数の減少量から有効か無効かを評価するもので、細菌類では5Log、酵母では4Log、細菌芽胞では3Log以上の減少があれば有効と判断する。試験操作模式図を図-4に示した。菌数を測定しなければならない煩雑さがある。

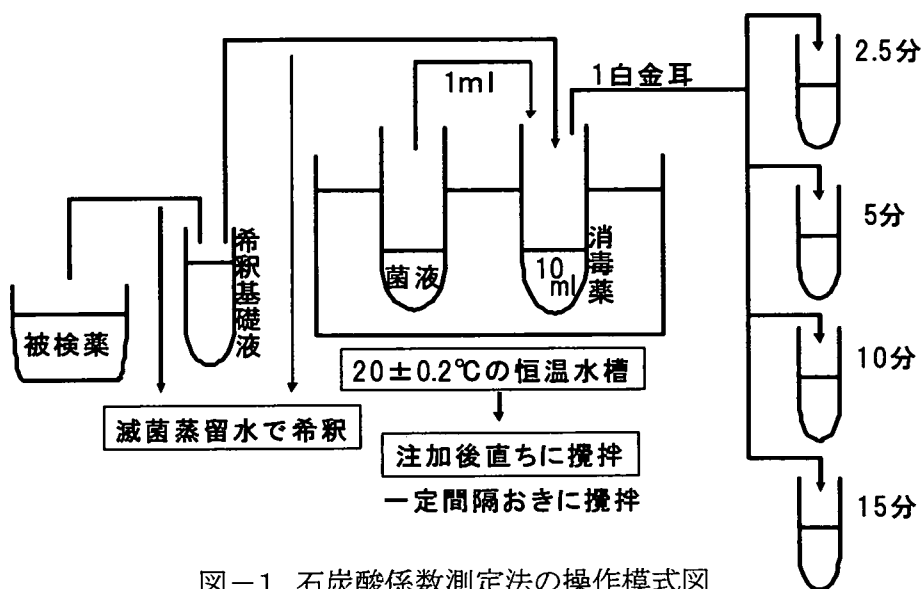


図-1 石炭酸係数測定法の操作模式図

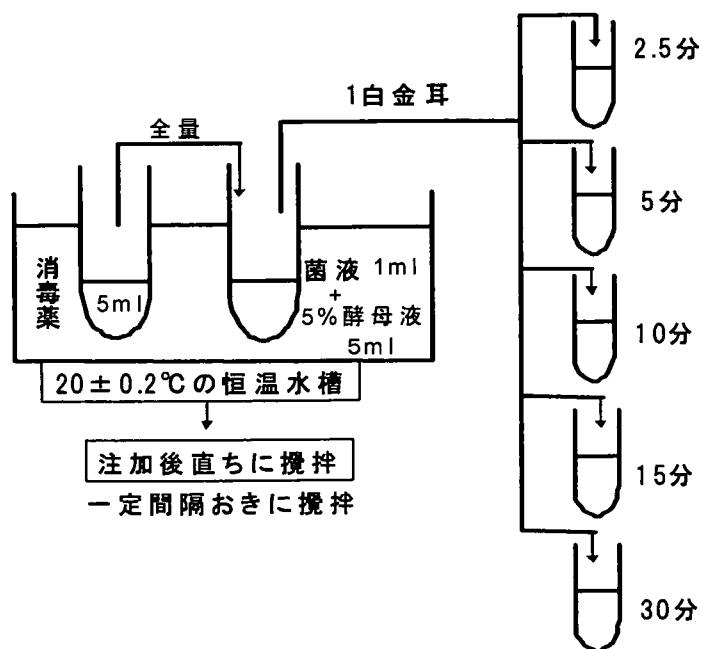


図-2 有機体共存下試験法の操作模式図



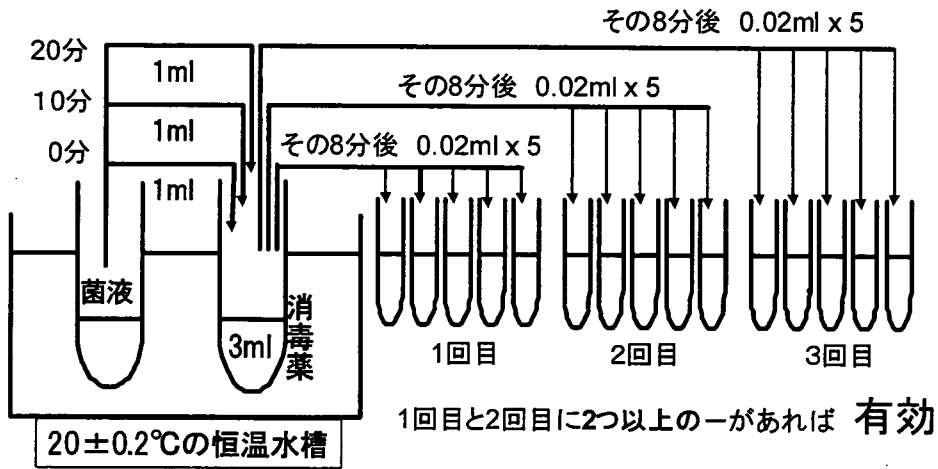


図-3 改良 Kelsey-Sykes 法の操作模式図

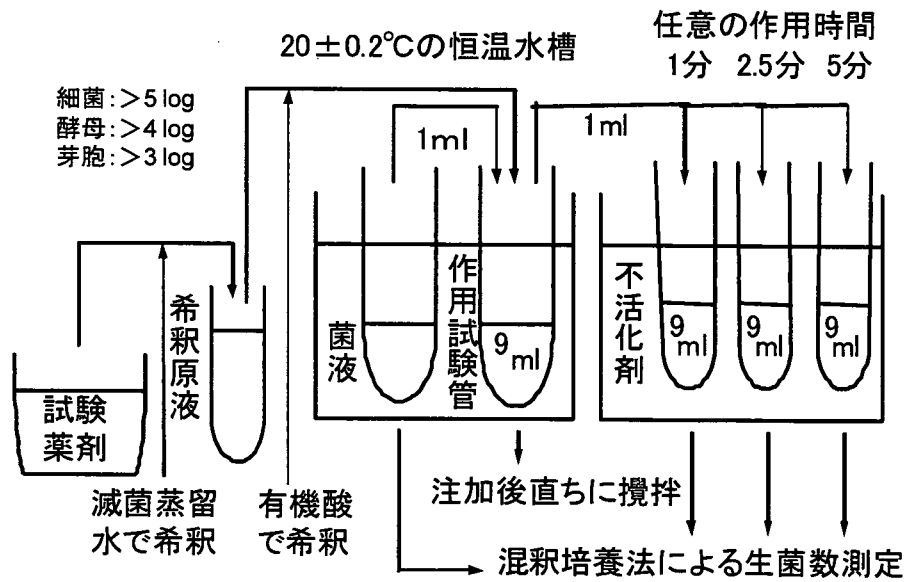


図-4 ヨーロッパ標準殺菌効力試験法の操作模式図

#### D. 考察:

浴場水中のレジオネラの消毒方法を考えるに当たって、どの様な指標でその有効性を評価すべきかを検討するために従来用いられてきた殺菌力を評価してきた指標について検討した。

石炭酸係数は、製剤間の殺菌力の比較に適しているとはいうものの、その係数の大きい製剤の方が殺菌力は強いとは言い切れない。例えば、石炭酸係数が 25 の製剤 A と 50 の製剤 B があつたとする。係数だけ見れば当然製剤 B の方が殺菌力は強いことになるが、それは主剤濃度が同じであることを前提とした判断である。A が 5% 製剤、B が 10% 製剤であつたら、係数を算出した希釈液中の主剤濃度は等しく、殺菌力に差はないことになる。従って、レジオネラ属菌に対してどちらの製剤が有効かを判断するには単に係数の比較であつてはならないことから石炭酸係数を評価の指標にしてはならないものと考えられる。製剤間の効力比較には主剤濃度を用いるべきで、その点では最小発育阻止濃度や最小殺菌濃度は主剤濃度で示されることから、薬剤間の効力比較に適している。しかし、最小発育阻止濃度は、発育を抑制している濃度であつて必ずしも殺菌しうる濃度ではない。浴場水中のレジオネラ対策は、確実に殺菌することが要求されることから殺菌濃度で薬剤間の効力を比較する必要がある。一方、殺菌作用の経過が微生物の対数的死滅則に従う場合に用いられている死滅速度恒数や D 値についても、その主剤濃度における値として求めたうえで比較する必要がある。

どの様な指標を用いるにせよ、試験する方法を統一しなければ研究者間のデータの比較が出来ない。汎用されている殺菌効力試験法の多くは浮遊菌法で、微生物の生死を判断する後培養に液体培地を用いている試験法が多い。しかし、レジオネラ

属菌は液体培地での発育が悪く、液体培地の混濁の有無で菌の生死を判別することは難しいこともあつて、多くの研究報告はレジオネラ属菌の生死を寒天平板培地上に集落を形成させる方法で確認している。しかも、薬剤の作用方法についても統一されておらず、研究者の発想のままに試験が行われ、結果だけが引用されている。厚生労働省の科学研究補助金を受けて取り組んでいる本研究を通してレジオネラ属菌に対する殺菌効力評価法を提案することも意義あることと思われる。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。その際には病原性のない (P1 施設対応) 指標細菌の選定も必要と考える。消毒効果の評価に必ずしも病原体を用いる必要は無く、下記のような条件を満たした非病原性の細菌を指標菌とするのが一般である。すなわち、指標菌には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。

E. 結論: レジオネラ属菌に対する消毒剤の効果判定と使用方法を検討するために実施した殺菌効力評価法に関する文献調査から次の結論を得た。

1. 殺菌力を比較する場合の薬剤濃度は、製剤の希釈倍数(濃度)ではなく主剤濃度で比較しなければならない。
2. 有効性の評価は、一つの指標だけで行わず、幾つかの指標を総合的に用いて評価する必要がある。
3. レジオネラ属菌のような特殊な培養方法を必要とする菌に対する薬剤の殺菌効力試験法を標準化する必要がある。

#### F. 研究発表

- (1) 論文発表:

当該研究に関するものはない。

(2) 学会発表：

当該研究に関するものはない。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：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）  
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

－消毒剤の種類と浴槽への適用について－

分担研究者 坂上 吉一 近畿大学農学部  
秋山 茂 北里大学医療衛生学部

研究要旨： 浴場水を介したレジオネラ症の発生が散見され、公衆衛生上の社会問題になっている。厚生労働省は浴場水の衛生管理の徹底を指示しているが、レジオネラ属菌の微生物生態の特殊性から効果的な消毒方法が確立されていないのが現状である。それを確立するためには、消毒剤の有効性を見直すことが重要性である。初年度は今までに市販されている各種消毒剤の特性を整理するとともに、現在までに報告されているレジオネラの消毒関係の文献の調査を実施した。

また、それらの結果をもとに、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する。

A. 研究目的：

浴場水を介したレジオネラ症の発生を防止するためには、浴場水中のレジオネラ属菌を殺菌消毒する必要がある。また、配管等に発生する可能性があるバイオフィルムの形成を適宜予防する必要がある。そのためには殺菌消毒剤の適正使用、オゾン水や電気分解水の使用、銀や銅イオンなどの使用、酸化チタンの光触媒作用による手法ならびに紫外線による方法などの利用が提案されている。その中で消毒剤の使用は価格面ならびに使用面等を考慮したとき、最善な方法の一つと考えられる。そこで最終的に消毒剤を使用する浴槽および配管等の消毒方法を提案するために、今年度は消毒剤の特徴をついてまとめると

ともに、レジオネラ属菌ならびにバイオフィルム形成菌に対する殺菌効果を述べた内外の諸文献を調査ならびに精査し、今後の検討に反映させることをめざした。

B. 研究方法：

レジオネラ属菌、消毒剤(殺菌消毒剤)、バイオフィルム形成菌、殺菌効果をキーワードとし、日本国内の文献については図書館における文献検索システム等を利用し、種々の研究報告を得た。また、諸外国の報告についてはインターネット(PubMedline 検索サイト、他)で文献検索を実施し、情報を収集し、それらの結果を整理した。