

図6 公衆浴場浴室空气中の THMs (upper) 及び DHANs (lower) の濃度分布

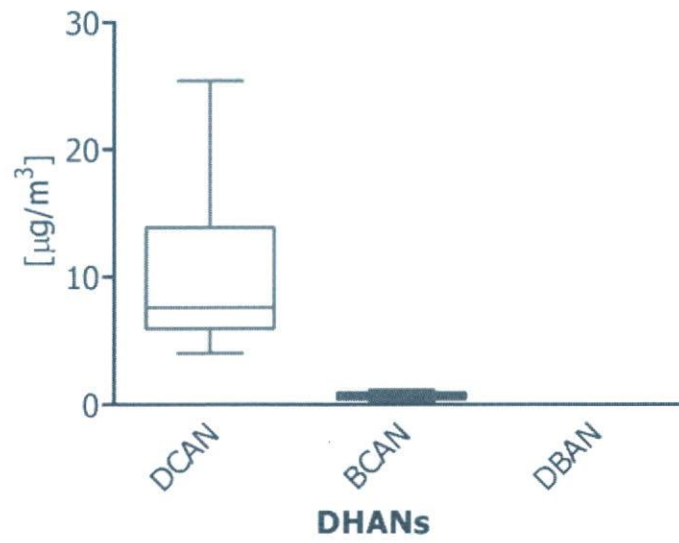
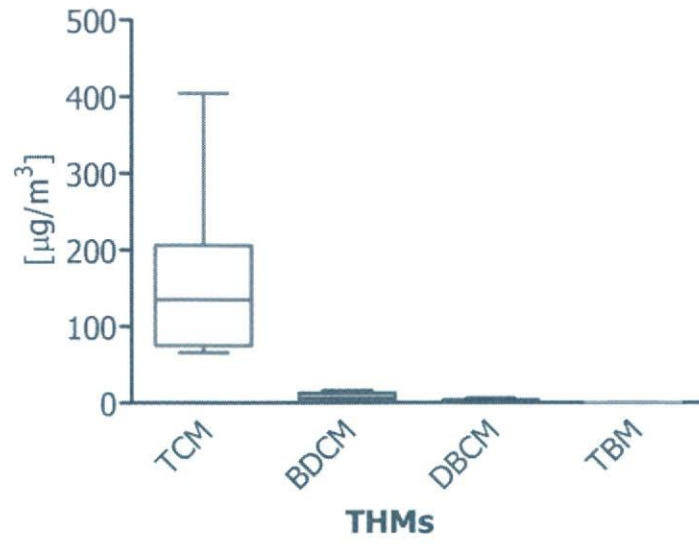


図7 室内遊泳プール空気中の THMs (upper) 及び DHANs (lower) の濃度分布

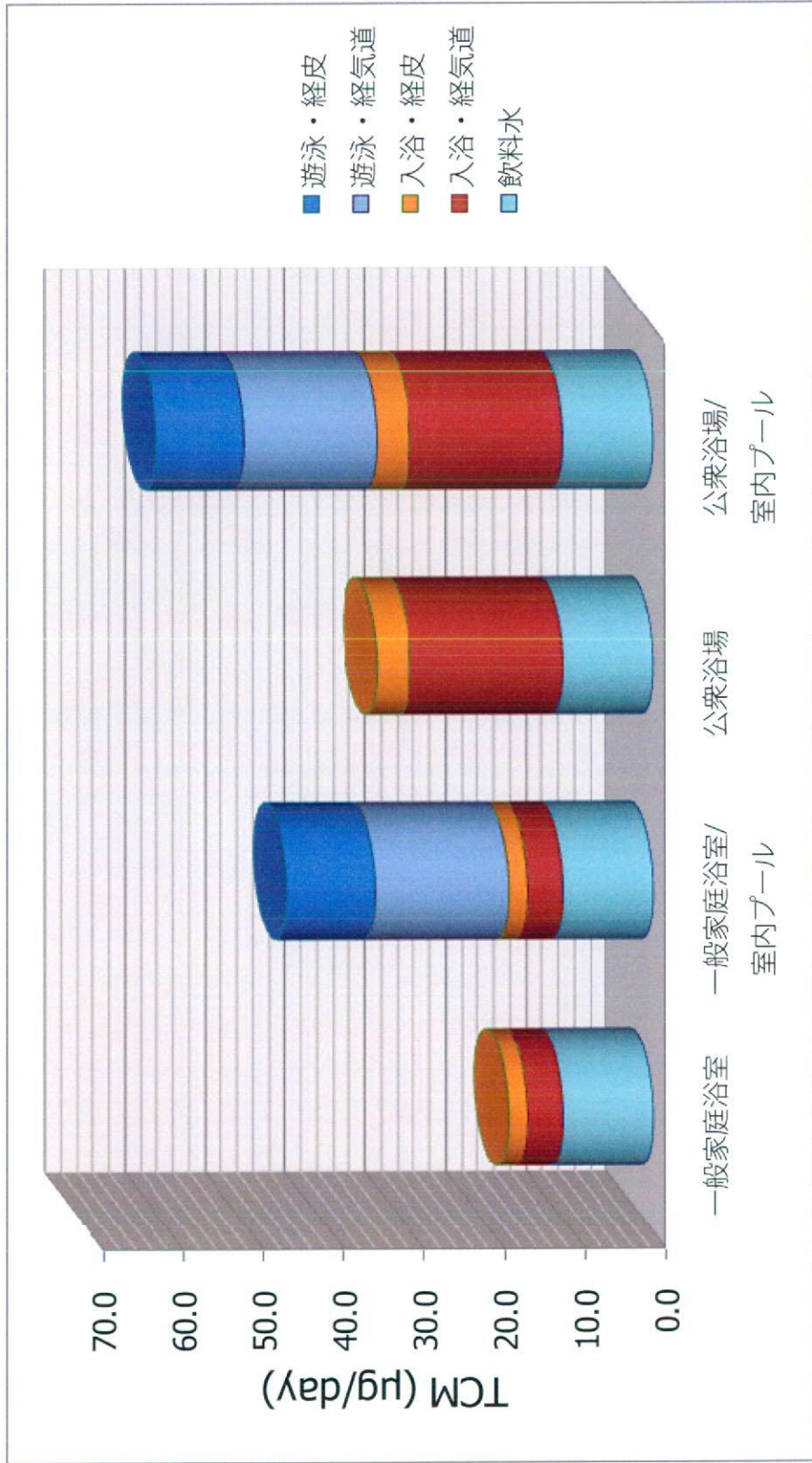


図8 水道水の飲用、入浴及び遊泳に伴う TCM の暴露量

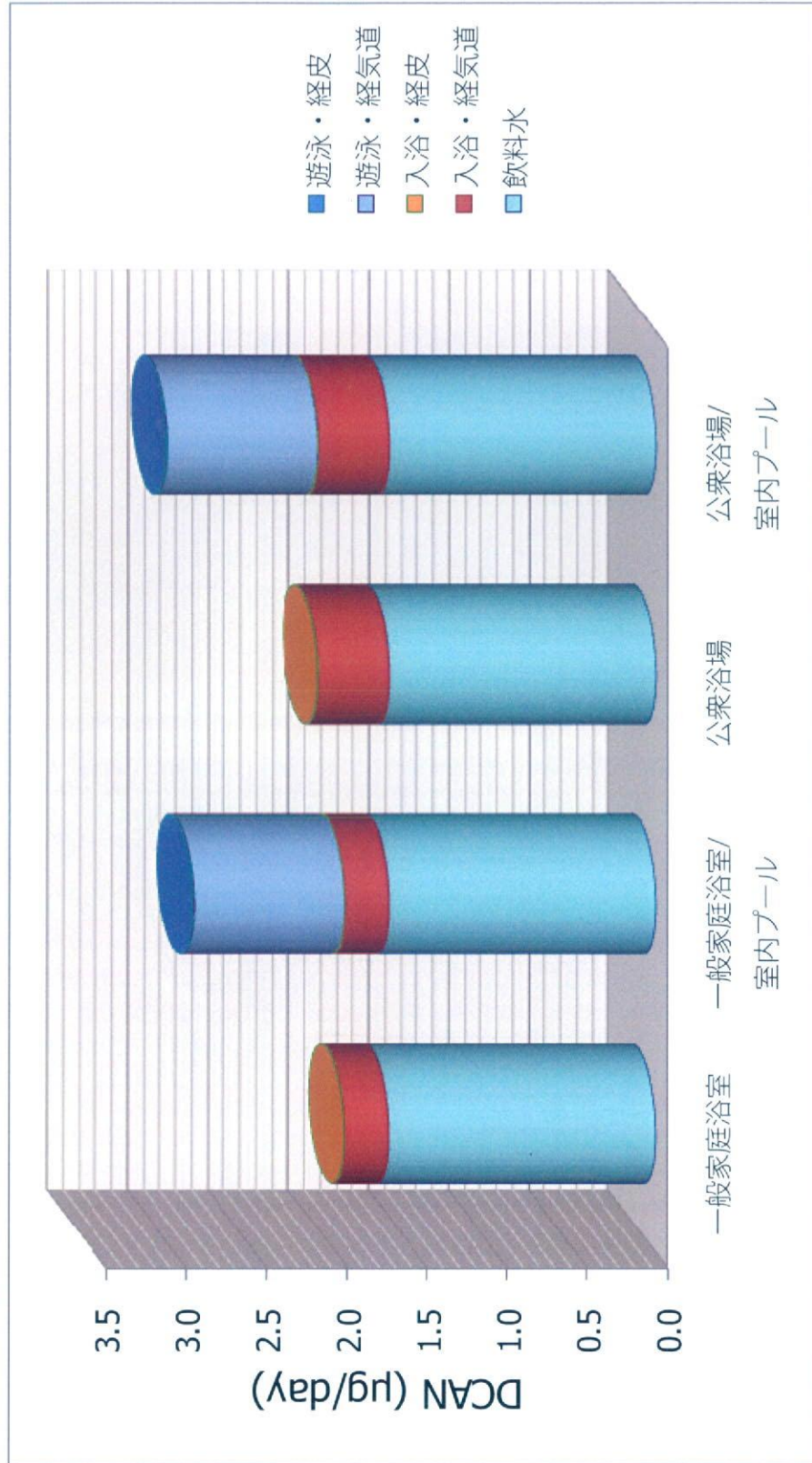


図9 水道水の飲用、入浴及び遊泳に伴うDCANの暴露量

表 1 検出濃度の中央値で算出した暴露量 (µg/day)

DBPs	一般家庭 (n = 12)		公衆浴場 (n = 8)		室内プール (n = 10)	
	経口	経気道	経気道	経皮	経気道	経皮
TCM	11.17	4.46	2.28	19.02	4.06	16.61
BDCM	6.39	3.71	1.42	3.05	1.65	0.77
DBC	2.50	1.16	0.49	0.80	1.59	0.21
TBM	1.42	0.10	0.11	0.15	0.73	0.04
DCAN	1.67	0.28	-	0.44	-	0.93
BCAN	1.63	0.15	-	0.25	-	0.09
DBAN	2.70	-	-	-	-	-

表 2 検出濃度の最大値で算出した暴露量 (µg/day)

DBPs	一般家庭 (n = 12)		公衆浴場 (n = 8)		室内プール (n = 10)	
	経口	経気道	経気道	経皮	経気道	経皮
TCM	14.48	13.77	3.57	86.71	55.91	49.64
BDCM	18.58	5.79	3.43	8.02	4.70	2.03
DBC	16.48	6.96	3.23	3.62	6.60	0.74
TBM	5.42	2.55	1.66	0.49	6.05	0.18
DCAN	3.26	0.77	-	1.09	0.01	3.11
BCAN	5.90	0.28	-	0.42	0.01	0.14
DBAN	6.46	0.28	-	-	-	-

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

レジオネラ属菌に対する殺菌・消毒剤の効果判定方法の検討

分担研究者： 秋山 茂 所属： 北里大学医療衛生学部
研究協力者： 坂上 吉一 所属： 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。本年度は、数多く考案されている殺菌力評価法をレジオネラ属菌に適用するための試験法を考案する。

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する必要がある。そのためには殺菌消毒剤を用いるか、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、それらの殺菌効力の評価方法は一様ではなく、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ており、諸外国では公定法として定められている方法もあるが、我が国では公定法を定めていない。従って、薬剤によるレジオネラ属菌の消毒法を提案するに当たっては、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、初年度は、現在までに提案された殺菌効力評

価法を整理し、石炭酸係数測定法に準拠した方法、改良 Kelsey-Sykes 方、ヨーロッパ標準殺菌効力試験法などが評価法として妥当ではないかと提案した。しかし、これらの試験法は、何れも供試菌の生死について液体培地を用いて確認していることから、そのままではレジオネラ属菌を供試菌として試験することは出来ないため、薬剤作用後の生死を如何に確認するかを解決しなければならない。そこで、本年度はこの確認方法について検討した。

B. 研究方法： 薬剤作用後の供試菌の生死を寒天平板培地に変えて、液体培地における成績と比較した。

各試験方とも、一定時間薬剤に供試菌を作用させた後に一定量を取り出し寒天培

地上に滴下し、培地に浸透させた後、孵卵器に入れ 48 時間培養後、滴下した部位に菌の発育が見られるか肉眼で観察した。試験薬剤は塩化ベンザルコニウム、供試菌は、*Escherichia coli* (NIHJ JC-2) と *Staphylococcus aureus* (ATCC 65389) の 2 種類である。

(倫理面への配慮は、不要と考えている。)

C. 研究結果：

1. 石炭酸係数測定法に準拠した方法

最も歴史のある試験法で A O A C (The Association of Official Analytical Chemists) に採用されている石炭酸係数測定法の術式を用いたものである。試験温度は 20°C、作用時間は 30 秒、1 分、1 分 30 秒、2 分とした。

液体培地を用いて生死の確認をした試験成績は表-1 に示した通り、10%塩化ベンザルコニウム製剤の 1000 倍液(0.01%) は、*E. coli* を 30 秒以内で、2000 倍液(0.005%)では 60 秒の作用では殺菌し得なかったが 90 秒の作用では殺菌した。*St. aureus* に対しては 3000 倍液(0.003%)で 30 秒以内に殺菌し、4000 倍液(0.0025%)では 60 秒以内、5000 倍液(0.002%)では 90 秒以内、6000 倍液(0.0015%)でも 120 秒以内に殺菌した。この様な成績が寒天培地を用いた場合にも再現できれば、薬剤作用後の菌の生死を判断しても差し支えないものと考えられる。しかし、ハートインフュジョン寒天培地を用いた成績を表-2 に示したが、寒天培地ではどの作用濃度においても、またどの作用時間においても滴下した部位に集落の発育は確認できなかった。

薬液に供試菌を作用させた液を接種する液体培地量は 10ml で、そこに接種され

る作用液量は 0.02ml であるから薬剤は液体培地によって更に 500 倍に希釈されるので、持ち込まれる薬剤による発育阻害作用 (MIC は 1~10 μ g/ml 程度) はないものと考えられるが、寒天培地に滴下された作用液は寒天培地内に浸透拡散したとしても直径 2cm 程度の円の範囲で、薬剤は 25~50 倍程度希釈され殺菌作用を示さないまでも発育阻止作用があるのではないかと考えられる。そこで、塩化ベンザルコニウムの中和剤を含む寒天培地 (SCDLP 寒天培地) に滴下した。その結果は表-3 に示した通り、表-1 に示した成績を再現することが出来た。

2. 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。

1. で作用後の供試菌の生死を確認するためには中和剤を含む寒天培地を用いる必要があったことから SCDLP 寒天培地に滴下した。液体培地に滴下した成績を表-4 に、寒天培地に滴下した成績を表-5 に示した。

原法に従って液体培地で供試菌の発育の有無を観察した結果では、*E. coli* に対して塩化ベンザルコニウムの 0.01% (10%製剤の 0.1% : 1000 倍)、0.02% (10%製剤の 0.2% : 500 倍)、0.04% (10%製剤の 0.4% : 250 倍) の 3 段階の濃度液のうち、0.02% 液は 1 回目の菌液注加では 5 本とも菌の発育は見られなかったものの、2 回目の注加では 5 本全てに菌の発育が見られ、使用濃度としては不適であった。「使用適」と判断された濃度は 0.04% 液であった。

一方、*Sta. aureus* に対しては 0.0025%、0.005%液は「使用不適」で、0.01%（10%製剤の 0.1%：1000 倍）液でなければ「使用適」にならなかった。

この成績を寒天培地に滴下した場合と比較するために各菌液注加後の培養で、菌の発育が見られた試験管数と寒天平板上の発育ヶ所数を表-6 に示した。*E. coli* に対して、0.02%液では液体培地の場合 2 回目、3 回目の菌液注加では何れも接種した 5 本全てに菌の発育が見られたのに対して、寒天培地に滴下した方法では、1 回目、2 回目、3 回目の何れも菌の発育は見られず、0.02%液は *E. coli* に対して「使用適」と評価され、液体培地による評価と違いが見られた。一方、*Sta. aureus* に対しては使用適、不適という評価そのものに違いは見られなかったが、0.01%液の 3 回目、0.005%液の 1 回目において発育数に相違が見られた。これは、改良 Kelsey-Sykes 法という試験法が殺菌効力試験法というよりむしろ、使用濃度を推定するための試験法であることから、石炭酸係数測定法に準拠した殺菌効力試験法より高濃度の薬液で試験される。従って、培地に持ち込まれる薬物量（濃度）も多くなり、寒天培地中に含まれている程度の不活化剤量では殺菌力を十分に不活化することが出来なかったのではないかと思われる。

3. 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、細菌類では初期菌数から 5 Log 以上の減少があれば有効と判断する。

原法では試験温度を 20°C とし、任意の薬剤濃度と作用時間を設定することが出来るが、1. と比較するために薬剤濃度を *E. coli* に対しては 0.01%、0.005%、0.0025%、*Sta. aureus* に対しては 0.003%、0.0025%、0.002%、作用時間は 30、60、90、120 秒とした。供試菌の初期菌数は、 1.5×10^8 cfu/ml に比濁法で調製した。また、生残菌数を測定する方法は混釈培養法を用いているが、今回はレジオネラ属菌への応用を考慮して表面塗抹法を採用した。発育集落数が 1 cfu 以上 10 cfu 以下であれば 5 Log の減少があったことになる。

表-7 に各作用時間後の生残菌数から計算した供試菌の対数減少量を示した。*E. coli* に対しては 0.01%液では 30 秒の作用で既に発育集落は無く 5 Log 以上の減少が見られたが、0.005%液では 30 秒の作用では 3.25 Log、60 秒の作用でも 4.15 Log の減少しか見られなかったが、90 秒の作用では 5 Log 以上の減少が認められた。0.0025%液では 120 秒作用させても 4.35 Log の減少にとどまった。

Sta. aureus に対しては、0.003%液で 30 秒の作用で 5 Log 以上の減少が見られたが、0.0025%液は 60 秒の作用で 5 Log、90 秒の作用では 5 Log 以上の減少であった。試験した最も低濃度の 0.002%（10%製剤の 5000 倍）液でも 90 秒の作用で 5 Log の減少が確認された。

この成績で 5 Log 或いは 5 Log 以上の減少量が認められた作用濃度と作用時間は、表-1 の (-) で示されたものと一致しており、寒天平板培地を用いてレジオネラ属菌を供試菌とした殺菌効力試験法として利用し得ることが示唆された。

D. 次年度の予定

石炭酸係数測定法に準拠した殺菌効力試験や改良 Kelsey-Sykes 法では、作用後の供試菌の生死について寒天培地を用いて試験するには、寒天培地の中に消毒薬の不活化剤を加える必要があるので、レジオネラ属菌の培地にそれを加えた時の発育に及ぼす影響並びにとヨーロッパ標準殺菌効力試験法を用いて各薬剤のレジオネラ属菌に対する殺菌効力を評価する。

E. 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 2009 年 9 月に日本防菌防黴学会で発表を予定している。

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

表一 石炭酸係数測定法に準拠した試験法の試験成績
その1 液体培地

供試菌	<i>Escherichia coli</i> (NIHJ JC-2)			<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 65389)			
	1000	2000	3000	3000	4000	5000	6000
30秒	-	+	+	-	+	+	+
60	-	+	+	-	-	+	+
90	-	-	+	-	-	-	+
120	-	-	+	-	-	-	-

- : not growth + : growth

表-2 石炭酸係数測定法に準拠した試験法の試験成績
その2 HI寒天培地

供試菌	<i>Escherichia coli</i> (NIHJ JC-2)			<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 65389)			
	1000	2000	3000	3000	4000	5000	6000
30秒	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-
90	-	-	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	-	-	-

- : not growth + : growth

表-3 石炭酸係数測定法に準拠した試験法の試験成績
その3 SCDLP寒天培地

供試菌	<i>Escherichia coli</i> (NIHJ JC-2)			<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 65389)			
	1000	2000	3000	3000	4000	5000	6000
30秒	-	+	+	-	+	+	+
60	-	+	+	-	-	+	+
90	-	-	+	-	-	-	+
120	-	-	+	-	-	-	-

- : not growth + : growth

表-4 K-S法の試験成績 その1 液体培地

供試菌	濃度	1	後培養 2	3	適否
<i>Escherichia coli</i> (NIHJ JC-2)	0.04%	-----	-----	--+++	○
	0.02%	-----	+++++	+++++	×
	0.01%	+++++	+++++	+++++	×
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 65389)	0.01%	-----	-----	-++++	○
	0.005%	+++++	+++++	+++++	×
	0.0025%	+++++	+++++	+++++	×

— : not growth + : growth

表-5 K-S法の試験成績 その2 SCDLP寒天培地

供試菌	濃度	1	後培養 2	3	適否
<i>Escherichia coli</i> (NIHJ JC-2)	0.04%	-----	-----	-----	○
	0.02%	-----	-----	-----	○
	0.01%	+++++	+++++	+++++	×
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 65389)	0.01%	-----	-----	--+++	○
	0.005%	--+++	+++++	+++++	×
	0.0025%	+++++	+++++	+++++	×

— : not growth + : growth

表-6 K-S法の試験成績
液体培地と寒天培地における後培養陽性数

供試菌	濃度		後培養			適否
			1	2	3	
<i>Escherichia coli</i> (NIHJ JC-2)	0.04%	Broth	0	0	3	○
		Plate	0	0	0	○
	0.02%	Broth	0	5	5	×
		Plate	0	0	0	○
	0.01%	Broth	5	5	5	×
		Plate	5	5	5	×
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 65389)	0.01%	Broth	0	0	4	○
		Plate	0	0	3	○
	0.005%	Broth	5	5	5	×
		Plate	3	5	5	×
	0.0025%	Broth	5	5	5	×
		Plate	5	5	5	×

表-7 ヨーロッパ標準殺菌抗力試験法による供試菌の対数減少量

供試菌	<i>Escherichia coli</i> (NIHJ JC-2)			<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 65389)		
	濃度(%)	0.01	0.005	0.0025	0.003	0.0025
30秒	>5	3.25	2.52	>5	4.80	3.50
60	>5	4.15	3.35	>5	5.0	4.52
90	>5	>5	3.75	>5	>5	5.0
120	>5	>5	4.21	>5	>5	>5

厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理総合研究事業)
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－

坂上 吉一 所属： 近畿大学農学部
秋山 茂 所属： 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。今年度は今までに市販されている各種消毒剤および抗菌剤の中からレジオネラの消毒に適用出来る可能性を有すると考えられるヒノキチオールおよび過酢酸について、レジオネラの殺菌実験を実施した。これらの結果をもとに、浴槽および配管の消毒剤としての適用性について考察した。

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。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。そこで今年度は浴槽および配管等の消毒に使用することを想定した、適切な消毒剤の選定を目指し、ヒノキチオールおよび過酢酸を使用し、循環式実験装置内でのレジオネラ属菌

の殺菌力について検証した。

B. 研究方法： モデル循環浴槽におけるレジオネラ属菌の増殖を阻止するための消毒剤または抗菌剤に効果を検証した。試験方法等を以下に示す。

① 試験菌株の調製

Legionella pneumophila 血清型 1 型 (SG-1) および *L. pneumophila* 血清型 6 型 (SG-6) を試験に供した。両菌株は奈良県内の温泉施設で分離されたものであり、奈良県桜井保健所より譲渡いただいた。各供試菌株は、レジオネラGVPC α 寒天培地(株式会社日研生物医学研究所製)に植菌し、37℃で約 5 日間培養したものを試験に供した。

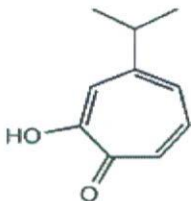
慣用名	ヒノキチオール
分子量	164.204
分子式	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
構造式	

Table 1 ヒノキチオールの組成

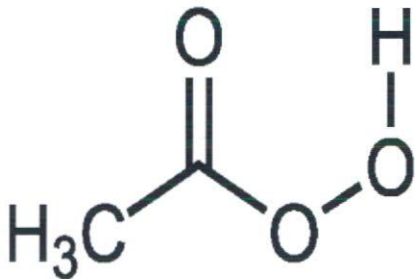
慣用名	アセチルヒドロペルオキシド
分子量	76.051
分子式	C ₂ H ₄ O ₃
構造式	

Table 2 過酢酸の組成

②ヒノキチオールの抗菌試験(5Lのモデル浴槽での試験)

一般家庭の浴槽で使用した残り湯(0.45 μmのメンブランフィルターでろ過したもの)を各モデル浴槽(サーモミンダー SDmini、アズワン製)にそれぞれ5Lずつ入れ、水温が40℃となるよう加温した。ヒノキチオール(Table 1)一定量を秤量し、滅菌水に溶解後モデル浴槽中に添加し、終濃度を12.5 μg/mL(12.5 ppm)または25.0 μg/mL(25.0 ppm)となるように調製した。次に、37℃で約5日間前培

養した *L. pneumophila* 血清型1型または *L. pneumophila* 血清型6型を各浴槽に一定菌量(OD630を0.1に調整した菌液5mL)添加した。

*L. pneumophila*の添加後0、2、4、6、8および24時間後にモデル浴槽より一定量の湯を採取し、レジオネラGVPCα寒天培地に適宜塗抹した。37℃で5日間培養し、培地上に出現したコロニー数を計測した。

③過酢酸の抗菌試験(5Lのモデル浴槽で

の試験)

一般家庭の浴槽で使用した残り湯(0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したもの)を各モデル浴槽(サーモミランダ SDmini、アズワン製)にそれぞれ5Lずつ入れ、水温が40°Cとなるよう加温した。過酢酸(Table 2)原液(6%)一定量を秤量し、滅菌水に希釈後モデル浴槽中に添加し、終濃度を2.0 $\mu\text{g/mL}$ (2.0 ppm)または5.0 $\mu\text{g/mL}$ (5.0 ppm)となるように調製した。次に、37°Cで約5日間前培養した *L. pneumophila* 血清型1型または *L. pneumophila* 血清型6型を各浴槽に一定菌量(OD630を0.1に調整した菌液5mL)添加した。

*L. pneumophila*の添加後0、2、4、6、8および24時間後にモデル浴槽より一定量の湯を採取し、レジオネラGVPC α 寒天培地に適宜塗抹した。37°Cで5日間培養し、培地上に出現したコロニー数を計測した。

④ヒノキチオールモデル浴槽中での抗菌試験(80Lのモデル浴槽での試験)

各モデル浴槽(Morning bath、株式会社京都バストピア製)にそれぞれ精製水約80Lを入れ、水温が40°Cとなるよう加温調製した。ヒノキチオール一定量を秤量し、滅菌水で溶解後、モデル浴槽中に添加し、終濃度を12.5 $\mu\text{g/mL}$ または25.0 $\mu\text{g/mL}$ となるように希釈調製した。次に、37°Cで約5日間前培養した *L. pneumophila* 血清型1型または *L. pneumophila* 血清型6型を各浴槽に一定菌量(OD630を0.1に調整した菌液5mL)添加した。

*L. pneumophila*の添加後0、2、4、6、8および24時間後にモデル浴槽より一定量の湯を採取し、レジオネラGVPC α 寒天培地に適宜塗抹した。37°Cで5日間培養

し、培地上に出現したコロニー数を計測した。

⑤過酢酸モデル浴槽中での抗菌試験(80Lのモデル浴槽での試験)

各モデル浴槽(Morning bath、株式会社京都バストピア製)にそれぞれ精製水約80Lを入れ、水温が40°Cとなるよう加温調製した。過酢酸原液(6%)一定量を秤量し、滅菌水で希釈後、モデル浴槽中に添加し、終濃度を2.0 $\mu\text{g/mL}$ または5.0 $\mu\text{g/mL}$ となるように調製した。次に、37°Cで約5日間前培養した *L. pneumophila* 血清型1型または *L. pneumophila* 血清型6型を各浴槽に一定菌量(OD630を0.1に調整した菌液5mL)添加した。

*L. pneumophila*の添加後0、2、4、6、8および24時間後にモデル浴槽より一定量の湯を採取し、レジオネラGVPC α 寒天培地に適宜塗抹した。37°Cで5日間培養し、培地上に出現したコロニー数を計測した。

C. 研究結果:

①5Lのモデル浴槽でのヒノキチオールの抗菌効果

ヒノキチオールを薬剤として使用したときの *L. pneumophila* 血清型1型および血清型6型の経時的な生菌数の測定結果をFig.1に示した。

ヒノキチオールは12.5 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で *L. pneumophila* 血清型1型および血清型6型の増殖を大きく抑制し、*L. pneumophila* 血清型1型に対しては24時間で、増殖を完全に抑制した。また、25.0 $\mu\text{g/mL}$ の濃度においても同様に良好な抑制効果を示した。*L. pneumophila* 血清型1型の増殖を完全に抑制したのは培養6時間後であった。

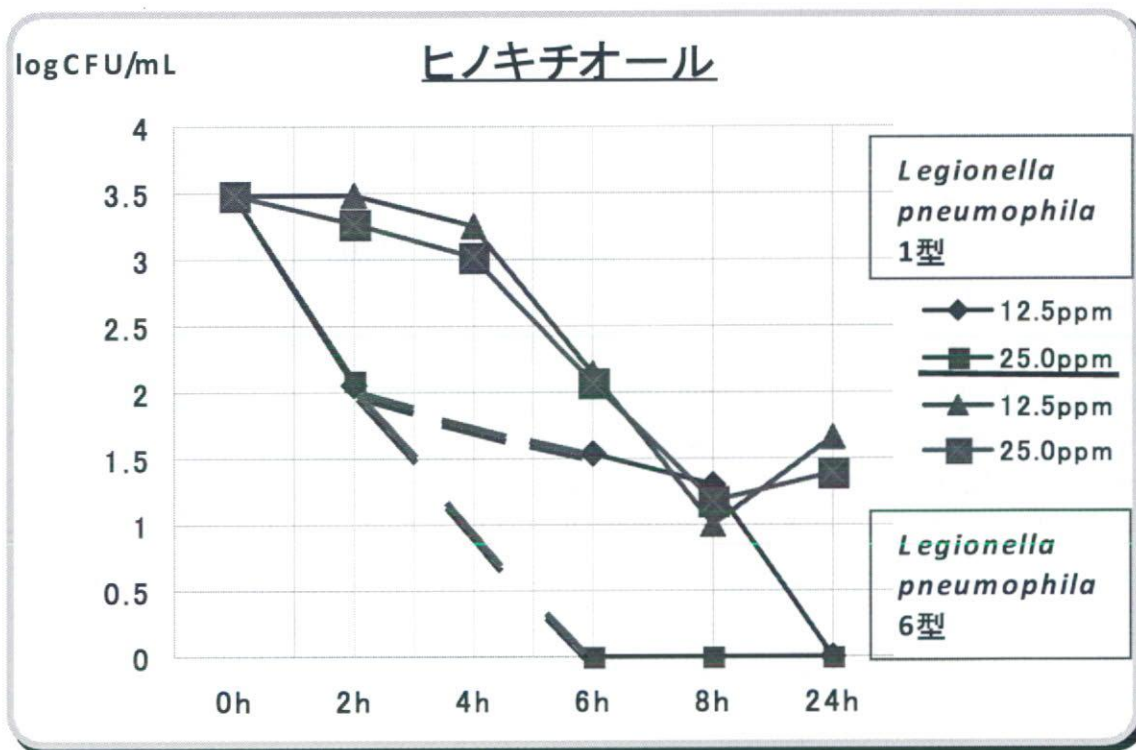


Fig. 1 ヒノキチオールによる *L. pneumophila* の抑制効果の推移

② 5L のモデル浴槽での過酢酸の抗菌効果

過酢酸を薬剤として使用したときの *L. pneumophila* 血清型 1 型および血清型 6 型の経時的な生菌数の測定結果を Fig. 2 に示した。

過酢酸は *L. pneumophila* 血清型 6 型に対して、5.0 $\mu\text{g/mL}$ の濃度においても増殖抑制効果を示すことができなかった。

一方、*L. pneumophila* 血清型 1 型に対しては、2.0 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で大きな抑制効果を示し、4 時間後に *L. pneumophila* 血清型 1 型の増殖を完全に抑制した。5.0 $\mu\text{g/mL}$ の濃度では、過酢酸を加えた直後より大きな効果を示し、培養 24 時間後まで *L. pneumophila* 血清型 1 型が増殖することはなかった。

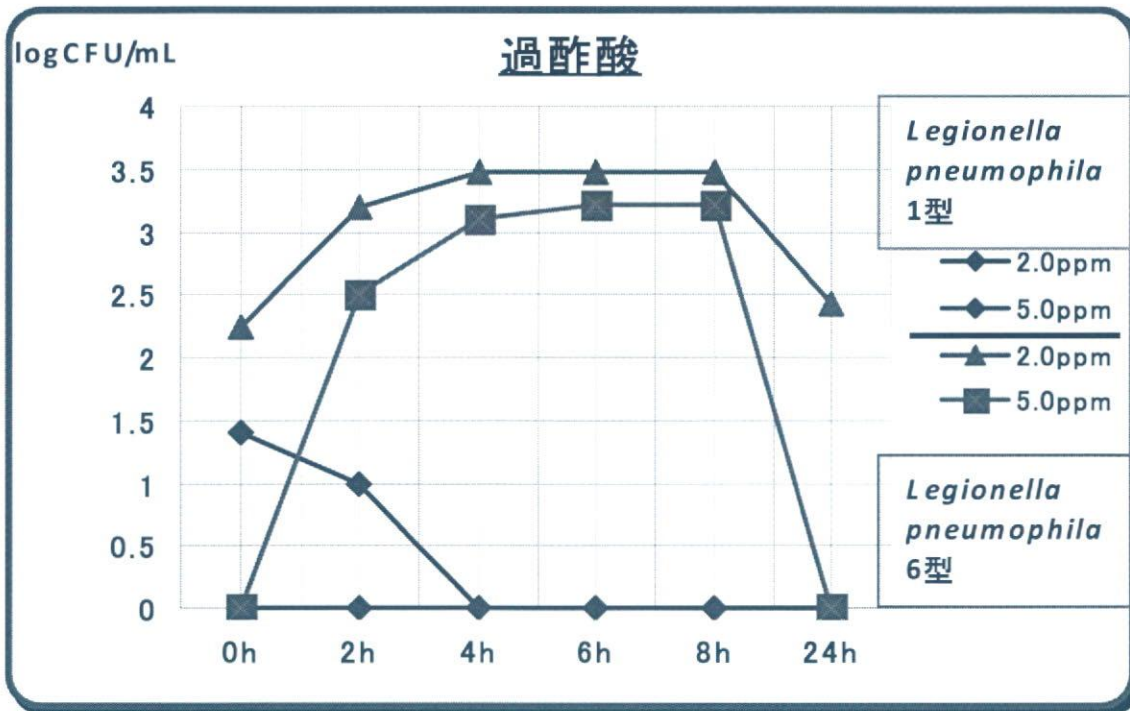


Fig. 2 過酢酸による *L. pneumophila* の抑制効果の推移

③モデル浴槽(80L)でのヒノキチオールの殺菌効果

ヒノキチオールを使用したときの *L. pneumophila* 血清型 1 型および血清型 6 型の経時的な生菌数の測定結果を Fig. 3 に示した。ヒノキチオールの場合、25.0 μ g/mL 処理では、8 時間が経過した時点で 1 型に対しては約 3.5 Log の減少が認められ、処理後 8 時間で検出されなくなった。また、12.5 μ g/mL 処理でも、処

理後 24 時間でレジオネラ属菌は検出されなくなった。

一方、6 型では処理後 8 時間まで菌数の低下が認められたが、処理後 24 時間目では、これ以上の菌数の低下は認められないものの、極端な菌の再増殖も認められなかった。これらのことから、*L. pneumophila* に対するヒノキチオールの良好な殺菌効果が裏付けられたと判断している。

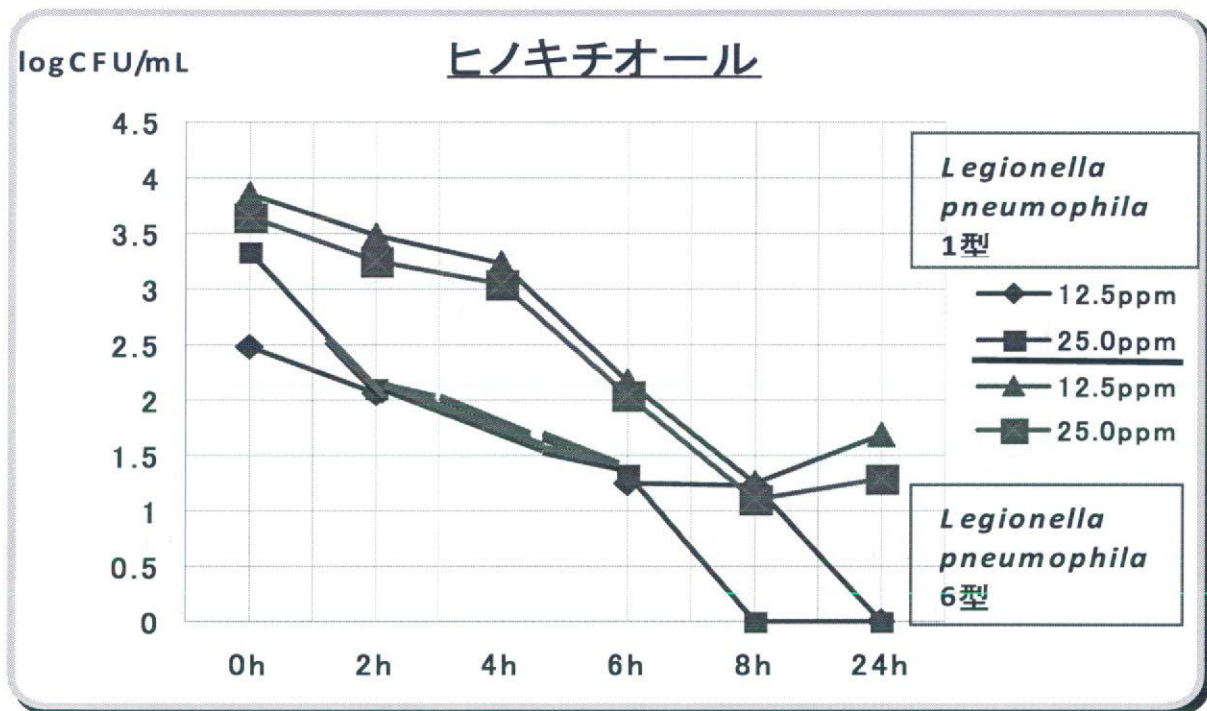


Fig. 3 80Lのモデル浴槽におけるヒノキチオールによる *L. pneumophila* の抑制効果の推移

④モデル浴槽(80L)での過酢酸の殺菌効果

過酢酸を使用したときの *L. pneumophila* 血清型1型および血清型6型の経時的な生菌数の測定結果を Fig. 4 に示した。

5Lのモデル浴槽を使用した実験とほぼ類似する結果を示し、6型に対しては若干効果が悪いものの、過酢酸の濃度が $5.0 \mu\text{g/mL}$ で良好な殺菌効果が期待されるものと判断された。

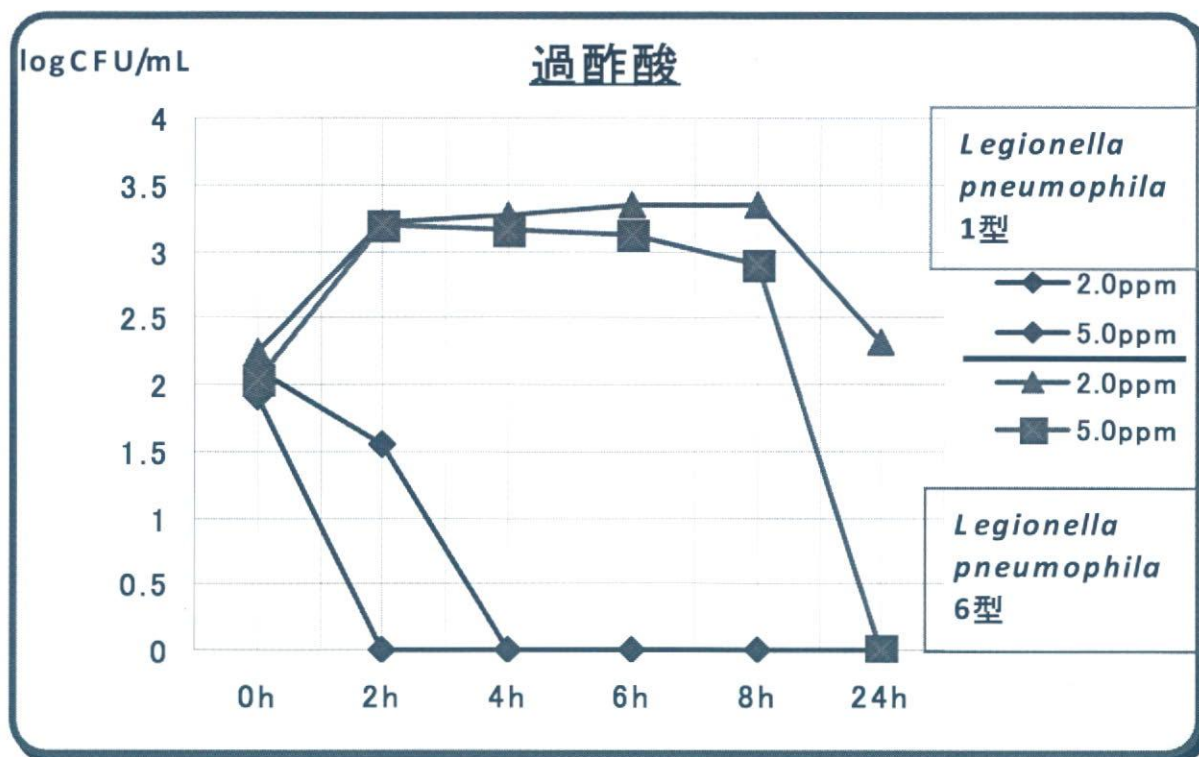


Fig.4 80Lの浴槽モデルにおける過酢酸による *L. pneumophila* の抑制効果の推移

D. 考察：

今回、浴槽水および配管におけるレジオネラ属菌の増殖を抑制するための有効な消毒剤の選定およびその有効濃度を決定するための基礎的検討を実施した。

5Lのモデル浴槽での実験では、ヒノキチオール濃度が25.0 μg/mLで、*L. pneumophila* 血清型1型を効果的に抑制し、反応後6時間でその増殖を完全に抑制した。また、過酢酸では5.0 μg/mLで、*L. pneumophila* 血清型1型の増殖を速やかに抑制し、2.0 μg/mLの濃度でも大きな抑制効果を示した。

一方、80Lのモデル浴槽での試験では、ヒノキチオールの場合、25.0 μg/mL処理では、8時間が経過した時点で、1型に対しては約3.5Logの減少が認められ、処理後8時間で検出されなくなった。また、12.5 μg/mL処理でも、処理後24時間でレジオネラ属菌は検出されなくなった。また、6型では処理後8時間まで菌

数の低下が認められたが、処理後24時間目では、これ以上の菌数の低下は認められないものの、極端な菌の再増殖も認められなかった。これらのことから、*L. pneumophila* に対するヒノキチオールの良好な殺菌効果が裏付けられたと判断している。

また、過酢酸の場合も、6型に対しては若干効果が悪いものの、過酢酸の濃度が5.0 μg/mLで良好な殺菌効果が期待されるものと判断された。

これらのことより、入浴施設において *L. pneumophila* 血清型1型の増殖を抑制するためには、25.0 μg/mLのヒノキチオールを投入した後、少なくとも6時間、浴槽内で循環させることが効果的であると考えられる。一方、過酢酸は *L. pneumophila* 血清型1型に対して即効性が認められたため、入浴施設の設備などの消毒に適していると考えられる。以上のことより、ヒノキチオールおよび過酢

酸は入浴施設におけるレジオネラ属菌の増殖の抑制に効果的であり、適用の可能性が示唆される。

レジオネラの消毒には従来より若干の消毒剤が提示されている^{1,7)}。また、モノクロラミンは配管末端への到達濃度が良好であり、バイオフィームへの浸透性が遊離塩素より良好であるとされている。

なお、今回我々が検討したヒノキチオールおよび過酢酸についても、レジオネラの消毒に適用できる可能性が期待される。

E. 結論： レジオネラの消毒に有効と考えられるヒノキチオールおよび過酢酸

の低濃度における殺菌効果について、*L. pneumophila* 血清型1型および血清型6型を使用し検討した。その結果、1型に対して十分な殺菌効果を認めた。

また、6型に対しても、ある程度の効果を示した。

1型は臨床現場で最も頻繁に分離される。臨床現場で検出される菌株の約80%は1型とされている。また、6型は1型について分離頻度が高いとされる。今後は、他の血清型についても同様に検討していきたいと考えている。

参考文献

- 1) Loret J.F. et al. (2005) Comparison of disinfectants for biofilm, protozoa and *Legionella* control. *J. Water Health* 3, 423-33.
- 2) Dadjour M.F. et al. (2006) Disinfection of *Legionella pneumophila* by ultrasonic treatment

with TiO₂. *Water Res.* 40, 1137-42.

- 3) Ozlem Sandi-Yurudu et al. (2007) Studies on the efficacy of Chloramine T trihydrate (N-chloro-p-toluene sulfonamide) against planktonic and sessile populations of different *Legionella pneumophila* strains. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 210, 147-53.
- 4) Zhang, Z. et al. (2007) Safety and efficacy of chlorine dioxide for *Legionella* control in a hospital water system. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 28, 1009-1012.
- 5) Cachafeiro S.P. et al. (2007) Is copper-silver ionisation safe and effective in controlling *legionella*? *J. Hosp. Infect.* 67, 209-16.
- 6) Chen, Y.S. et al. (2008, *In press*) Efficacy of point-of-entry copper-silver ionisation system in eradicating *Legionella pneumophila* in a tropical tertiary care hospital: implications for hospitals contaminated with *Legionella* in both hot and cold water.
- 7) 上田 勝 (2003) レジオネラ属菌に及ぼす次亜塩素酸ナトリウムと第四級アンモニウム塩系抗菌活性剤の併用効果, 防菌防黴, 31, 109-111.