

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

(浴槽水から分離されるレジオネラ属菌に対するモノクロラミンの殺菌作用)

研究分担者 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)
研究協力者 前川純子 (国立感染症研究所細菌第一部)

(研究要旨) 結合塩素として作用する消毒薬であるモノクロラミンについて、レジオネラ属菌に対する殺菌作用を検索した。pH 7.7 および pH 8.8 の緩衝液にレジオネラ属菌 17 種 21 株をそれぞれ浮遊させ、約 3 mg/L のモノクロラミンで 40°C 15 分間処理して採取したところ、BCYE α 培地上のコロニーはいずれも不検出となった(菌種により対数で 2.40~5.46 の減少)。15 分間の実験期間中、全残留塩素の減少は 10.3% 以下であった。

A. 研究目的

これまで公衆浴場等の消毒剤として塩素剤が第1選択的に用いられており、適切な塩素による消毒効果は十分に評価されてきた。しかしながら、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、還元性物質を多く含む泉質の湯などでは著しく効果を減ずること、特有の臭気が好まれないこと、また、濃度管理が難しいことが指摘されている。一方、欧米の水道においてレジオネラを含むバイオフィルム対策にモノクロラミンが用いられている。モノクロラミンは遅効性であるが、バイオフィルムへの浸透性が高く、高温でも比較的安定であること^{1) 2)}、簡易に測定できること、残留性が高いこと^{2) 3)}、微臭気で皮膚刺激性が低いこと、また、トリハロメタン等の消毒副生成物ができにくいこと²⁾などの利点がある。昨年度は種々の濃度のモノクロラミンの *Legionella pneumophila*

血清群 1 (NIIB 0058 Nagasaki 80-045 株)⁴⁾ に対する不活化作用のタイムコースを明らかにし、1.0 mg/mL で 30 分間処理で種々の *L. pneumophila* が不検出になることを示した。今年度は、日本の浴槽水から分離される *L. pneumophila* 以外のレジオネラ属菌、代表的なレジオネラ属菌について不活化作用を検索した。モノクロラミンの濃度は、今年度、杉山らのモデル浴槽で実施した濃度 3 mg/mL を採用した。

B. 研究方法

菌株: 表 1 のようにレジオネラ属菌 21 株を使用した。菌は、-80°C のスキムミルクより粉末培地 (Difco Legionella Agar Base) から自作した BCYE α 寒天培地に接種した。35°C で 4 日間湿潤状態を保って培養した後に、菌のコロニーをかきとって、4 mL ポリスチレンチューブ (Falcon) に生理食塩水の浮遊液とした。この後、1.5 mL マイクロチューブで 2 回高速遠心

して洗浄し、菌以外の可溶性有機物の持ち込みを減らした。菌濃度は DENSIMAT (BioMerieux 社)で測定し、約 2×10^9 /mL の浮遊液を作製した。

試薬:pH 7.5 (Page Amoeba Solution)、pH 8.9 のホウ酸緩衝液の 10 倍液を作製し、実験前に滅菌純水で希釈して 1 倍液とした。0.5M 塩化アンモニウム 242.5 μ L と次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素 5%以上) (関東化学) 原液 65 μ L とを緩衝液 50 mL に混合しモノクロラミンを作製した。pH8.8 および pH7.7 の緩衝液では全残留塩素濃度は、各々 90mg/L および 81 mg/L となった。この保存液より実験時に 1 倍の緩衝液で希釈してモノクロラミン濃度を調整した。ウォーターバスで 50 mL のポリプロピレン製コニカルチューブ (Falcon, イワキ) 中に各々の緩衝液 10 mL を予め 40°C にしておいた菌液を作製した。全残留塩素濃度は、ポケット残留塩素計 46700-00 (セントラル科学株式会社) と専用の粉末試薬 (パーマ・ケム) を使用して、取り扱い説明書にしたがい、DPD 法により測定した。

殺菌実験: 菌を約 10^6 /mL になるように添加したモノクロラミン緩衝液をウォーターバスに静置し、一定時間後に無菌的に 0.1mL 採取し、0.9 mL の 1% ハイポの入った 1.5mL マイクロチューブに入れボルテックスミキサーで攪拌し塩素を中和した (文献 1 より改変)。ウォーターバスとボルテックスミキサーは安全キャビネット内に設置した。ハイポで中和した菌液を適当に希釈して BCYE プレート 2 枚にまいた。35°C で 4 日間以上培養してコロニー数を計数し、2 枚のプレートの平均数から、浮遊液中の生菌数を求めた。コロニーが小さい場合は 9 日まで培養を続けてから計数した。なお、一部の菌種は 30°C 5%CO₂

(*Legionella nautarum*)、37 °C 5%CO₂ (*Legionella anisa*、*Legionella gratiana*、*Legionella geestiana*、*Legionella feeleii* 血清群 2) で培養した。

倫理面への配慮: 実験動物やヒト由来の検体は含まれておらず、倫理面の配慮に抵触することはなされていない。

C. 研究結果

全残留塩素濃度の推移: 実験の開始直後と終了後 (15 分後) に測定したところ、全残留塩素の減少は 10.3% 以下であった。菌種により同じ濁度で調製してもコロニー効率が異なり、*L. pneumophila* 換算で 10 倍の濁度で調製した菌種も上記の塩素濃度減少範囲に収まった。

不活化は菌株によらない: 表 1 に示された種々の菌種血清群のレジオネラ属菌 21 株を試験したところ、血清群によらず、15 分後にはいずれも不検出となった。得られた不活化の程度は、実験に際し得られた菌数 (実験当初の菌数) に依存することから、(菌種により対数で 2.40~5.46 の減少)

D. 考察

Momba らによると、表層水を飲料水とするためのモデル実験で、遊離塩素やモノクロラミンの単独使用よりも、遊離塩素消毒後のモノクロラミンの使用がバイオフィルムの生成を抑えたという³⁾。また、Flannery らによれば、塩素消毒からモノクロラミンに給水系の消毒剤を変更したところ、給水系の全塩素 (遊離塩素と結合塩素を含む) が増加し (とくに平均 45°C の給湯水で安定、一方トリハロメタンは半減)、レジオネラの検出が 60% から 4% に減少したという²⁾。さらに、Kool らは、水道水の消毒剤として

モノクロラミンを使用していた病院は、遊離塩素を使用していた病院よりもレジオネラ肺炎の集団発生が少なく、水道水関連のその集団発生の90%はモノクロラミンの使用で防げただろうとしている⁵⁾。このようにモノクロラミンは、浴槽水の温度で遊離塩素よりも安定で残留しやすく、バイオフィルムの生成を抑えるため、レジオネラ症の発生を抑制すると考えられる。

Cunliffe は、モノクロラミンが *L. pneumophila* を 1 mg/L (モノクロラミンとしての濃度) で pH8.4~8.6 の滅菌水道水中で 15 分で 99% 不活化し、平均 $C \times t_{99}$ は 15 mg.min/L であるとした¹⁾。これを塩素濃度に換算すると 69% の 10.3 mg.min/L となる。昨年度 *L. pneumophila* SG1 について、pH7.5 で 4.2 mg.min/L、pH8.8 で 15.5 mg.min/L という近い値が得られている。

Elsmore によると、望ましい水処理消毒剤は、 5×10^6 - 5×10^7 /mL の菌と接触後 1 時間以内に 4log 減少させることとしている⁶⁾。今回、3mg/mL のモノクロラミンで 15 分処理により日本の浴槽水から分離されたことのある菌種 (ATCC 株) を用いて相当する効果が得られた。

一方、近年になり 1 mg/L のモノクロラミンとの接触によって培養可能な菌は減少するものの、培養不能の生菌が残ることが報告された⁷⁾。ただし、2 mg/L 以上の濃度のモノクロラミンだとアメーバの添加によっても培養可能菌が回復していない。今回検索したモノクロラミン濃度は 3mg/mL なので確実な不活化が期待される。

E. 結論

結合塩素として作用するモノクロラミンについて、浴槽水から分離されるレジオネラ属菌種に対する殺菌作用を検索した。レ

ジオネラ属菌の浮遊液を 40°C で静置し、モノクロラミン処理後に採取して、その中の生菌数をコロニー数として求めた。pH 7.7、pH8.8 とともに 3.0 mg/L の残留塩素濃度で、15 分間の接触で不検出となった。

引用文献

- 1) Cunliffe DA. Inactivation of *Legionella pneumophila* by monochloramine. J Appl Bacteriol. 1990, 68:453-9.
- 2) Flannery B, Gelling LB, Vugia DJ, Weintraub JM, Salerno JJ, Conroy MJ, Stevens VA, Rose CE, Moore MR, Fields BS, Besser RE. Reducing *Legionella* colonization in water systems with monochloramine. Emerg Infect Dis. 2006, 12:588-96.
- 3) Momba MN, Binda MA. Combining chlorination and chloramination processes for the inhibition of biofilm formation in drinking surface water system models. J Appl Microbiol. 2002, 92:641-8.
- 4) Saito A, Shimoda T, Nagasawa M, Tanaka H, Ito N, Shigeno Y, Yamaguchi K, Hirota M, Nakatomi M, Hara K. The first case of Legionnaires' disease in Japan. Kansenshogaku Zasshi 1981, 55:124-128.
- 5) Kool JL, Carpenter JC, Fields BS. Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial Legionnaires' disease. Lancet. 1999, 353:272-7.
- 6) Elsmore R. Microbiocides and the control of *Legionella*. In: Barbaree, JM. *Legionella* Current Status and Emerging Perspectives. ASM 1325 Massachusetts Ave, N. W. Washington, DC, pp. 250-253, 1-55581-055-1.
- 7) Alleron L, Merlet N, Lacombe C, Frère J. Long-term survival of *Legionella pneumophila* in the viable but nonculturable state after

monochloramine treatment. *Curr Microbiol.* 2008, 57:497-502.

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

- 1) 泉山信司、八木田健司、倉 文明、遠藤卓郎:モノクロラミンによる *Naegleria* アメーバの消毒. 第9回環境技術学会研究発表大会、2009年9月、大阪市.
- 2) Taguri T, Oda Y, Sugiyama K, Izumiyama S, Kura F: Using flow cytometry to monitor the

risk of legionellosis in bath water. *LEGIONELLA* 2009. Paris. October 2009.

- 3) Kura F, Amemura-Maekawa J, Chang B, Suzuki-Hashimoto A, Ichinose M, Endo T, Watanabe H: Two groups of *Legionella anisa* isolates of environmental origin in Japan. *LEGIONELLA* 2009. Paris. October 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし。
 2. 実用新案登録 なし。
- その他 なし。

表 1 使用したレジオネラ属菌及びモノクロラミンによる不活化

種名	血清群	ATCC 株番号	不活化率 *	備考
<i>L. anisa</i>		35292	4.38	a)
<i>L. birminghamensis</i>		43702	3.94	a)
<i>L. bozemanii</i>	1	33217	3.92	c)
<i>L. bozemanii</i>	2	35545	4.38	c)
<i>L. cherii</i>		35252	4.38	a)
<i>L. dumoffii</i>		33279	4.38	a)
<i>L. feeleii</i>	1	35072	4.38	a)
<i>L. feeleii</i>	2	35849	4.38	a)
<i>L. geestiana</i>		49504	3.18	a)
<i>L. gormanii</i>		33297	4.38	c)
<i>L. gratiana</i>		49413	3.30	b)
<i>L. jordanis</i>		33623	4.38	a)
<i>L. londiniensis</i>	1	49505	4.38	a)
<i>L. londiniensis</i>	2	BAA-518	4.38	a)
<i>L. micdadei</i>		33218	4.38	c)
<i>L. nautarum</i>		49506	2.4	a)
<i>L. oakridgensis</i>		33761	4.38	a)
<i>L. pneumophila</i>	1	33152	4.38	a)
<i>L. rubrilucens</i>		35304	4.38	a)
<i>L. sainthelesnsi</i>	1	35248	4.38	a)
<i>L. sainthelesnsi</i>	2	700517	4.38	a)

* log₁₀ reduction

- a) 日本の浴槽水から分離される菌種
- b) 海外の浴槽水から分離される菌種
- c) 代表的なレジオネラ属菌

〒]厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）

公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究

主任研究者 遠藤 卓郎 国立感染症研究所

分担研究報告書

循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミン消毒の効果

分担研究者	杉山 寛治	静岡県環境衛生科学研究所
	泉山 信司	国立感染症研究所
研究協力者	八木田健司	国立感染症研究所
	神田 隆	静岡県環境衛生科学研究所
	田栗 利紹	長崎県環境保健研究センター
	小坂 浩司	国立保健医療科学院

研究要旨

循環ろ過式浴槽モデルにおいて、モノクロラミンを浴槽水へ投入して、入浴を伴った実験で消毒効果を確認した。現場で作成したモノクロラミンを浴槽水へ間欠的に投入して、濃度保持（3 mg/L）を約2週間継続した。経時的に、浴槽水とろ過器内水中の浮遊菌数等（従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数、アメーバ数）と、ろ過材、ヘアーキャッチャー、配管の拭き取りによる循環浴槽系内表面へのバイオフィーム形成状況を検査した。

2回の繰り返し実験で、ヒトの入浴によってもモノクロラミン濃度の大幅な減少はなく、不足するモノクロラミンを補うことで、浴槽水のモノクロラミン濃度を安定的に維持できた。2週間にわたるモノクロラミン濃度（3 mg/L）の維持で、期間内の浴槽水、ろ過器内水のレジオネラ属菌、アメーバを不検出に、従属栄養細菌数もほぼ不検出と細菌学的に良好な水環境の創出が可能であった。ろ過材、ヘアーキャッチャー、配管におけるバイオフィーム形成もほとんどみられず、レジオネラ属菌、アメーバも不検出であった。また、モノクロラミン消毒に伴う塩素臭がない利点も確認された。浴槽水のモノクロラミン消毒は塩素に替わる新しい消毒方法として期待できる結果が得られた。

A. 研究目的

循環式浴槽水の衛生管理の主体をなす次亜塩素酸ナトリウム（以下、塩素と表記）の浴槽水への注入法は、その殺菌効果は高いが、塩素臭や一部の泉質（特にアルカリ泉）による殺菌効果の低下、有害な副生成物（クロロホルムなどのハロメタン類）の生成の可能性などの問題を抱えており、次亜塩素酸ナトリウムに替わる安全で効果的な消毒方法の開発が求められて

いる。

一方、水道等のバイオフィーム対策として使用されることがあるモノクロラミンは、塩素より安定で濃度管理が容易、有機物の存在下でも有害なトリハロメタン等の副生成物を生成せず、塩素のように不快な悪臭を生じさせない利点を持つといわれている。厚生労働科学研究班のH.20年度の成果で、モノクロラミンが高pH領域においてもレジオネラや宿主アメーバな

どに対し高い殺菌効果を持ち、その安全性（ウサギの皮膚刺激性試験において無刺激物と判定）が示されている。

当該研究では、現場で作成したモノクロラミンを循環ろ過式浴槽モデルに間欠的に投入して、その消毒効果を検討した。浴槽水のモノクロラミン濃度は、平成20年度に実施した「モノクロラミンによるレジオネラ属菌の消毒の事前評価」において、高 pH（pH9.0）で消毒効果が確認できた濃度 3 mg/L を採用した。

B. 方法

1. 循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミン消毒実験

循環水量 4 m³/h の浴槽モデルの浴槽水 2 m³（pH8.4、水温 40℃）に、現場で用事調整したモノ

クロラミン溶液を投入した。モノクロラミン濃度の調整は、井戸水 2 L に 6%次亜塩素酸ナトリウム（オーヤラックス社）90 mL、10%塩化アンモニウム（和光特級）112.5 mL を加えよく混合し、作成直後に 2 m³ の浴槽水に加えることで、ほぼ 3 mg/L のモノクロラミン濃度が得られた。その後、14 日間にわたって、この比率で両試薬を井戸水 1L と混合し、相当するモノクロラミン濃度の作成溶液の間欠的な投入を繰り返し、濃度 3 mg/L を維持した。モノクロラミン濃度、全残留塩素濃度、遊離残留塩素濃度はポケット残留塩素計（HACH 社）を用い測定した。また、浴槽への入浴でヒトの体から出る有機物の蓄積を行った。

2. サンプリング

モノクロラミン投入前、モノクロラミン濃度一定調整後、モノクロラミン管理入浴中の浴槽水、ろ過器内水を採取した。浴槽水については、レジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数、EMA（エチジウムモノアザイド処理）-qPCR によるレジオネラ生菌数測定、フローサイトメトリーによる細菌汚染判定、および過マン

ガン酸カリウム消費量、TOC（全有機炭素）などの水質検査を実施した。また、モノクロラミン管理入浴前と、モノクロラミン管理入浴後の集毛器（HC）網、塩化ビニール配管の綿棒拭き取り材料、およびセラミックろ過材について、レジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数を測定した。

また、モノクロラミン管理入浴期間中は入浴者による浴槽水の臭気の観察を行った。なお、本浴槽モデルは浴槽上部の天井にドラフトが設置されており、常時、上方への吸引排気を行っている。

C. 結果および考察

1. 入浴者数、モノクロラミン投入量、モノクロラミン濃度、全残留塩素濃度、遊離残留塩素濃度の変化

1 回目と 2 回目の実験におけるモノクロラミン管理時の入浴者数と、浴槽水へのモノクロラミン

投入量、浴槽水のモノクロラミン濃度、全残留塩素濃度、遊離残留塩素濃度の変化を表 1、2 に示した。ヒトの入浴によるモノクロラミンまたは全塩素濃度の大きな減少はなく、モノクロラミンの間欠的な投入によって、安定的にモノクロラミン濃度維持ができることがわかった。

また、入浴者による臭気の観察では、2 回の実験ともヒトの入浴数の増加にもかかわらず、14 日間後も、次亜塩素酸ナトリウム消毒時の同様な実験で観察されるような塩素臭はまったくなかった。

2. 浴槽水、ろ過器内水のレジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数、EMA（エチジウムモノアザイド処理）-qPCR によるレジオネラ生菌数測定、フローサイトメトリーによる細菌汚染判定

1 回目と 2 回目の実験における循環浴槽モデルへのモノクロラミン投入による濃度 3 mg/L

維持

管理時と濃度管理停止後の浴槽水、ろ過器内水における従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数、アメーバ数、EMA（エチジウムモノアザイド処理）-qPCRによるレジオネラ生菌数測定、フローサイトメトリーによる細菌汚染判定の結果をそれぞれ表3、表4に示した。

1回目と2回目とも、2週間にわたるモノクロラミン濃度（3 mg/L）の維持で、期間内の浴槽水、ろ過器内水のレジオネラ属菌、アメーバを不検出に、従属栄養細菌数もほぼ不検出と細菌学的に良好な水環境の創出が可能であった。一方、モノクロラミン濃度管理停止後の浴槽水、ろ過器内水からは、従属栄養細菌、レジオネラ属菌、アメーバ、EMA（エチジウムモノアザイド処理）-qPCRによるレジオネラ生菌、フローサイトメトリーによる細菌汚染が確認され、当浴槽水は細菌増殖のポテンシャルがあるにもかかわらず、モノクロラミン消毒によりそれが抑制されていて、モノクロラミン消毒効果の高いことが示唆された。

3. モノクロラミン投入時の循環浴槽系内のバイオフィームの変化

表5に、浴槽水のモノクロラミン濃度3 mg/L維持管理時の、浴槽系内のバイオフィーム（従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数、アメーバ数）の変化を示した。ろ過材、ヘアーキャッチャー、配管におけるバイオフィーム形成はほとんどみられず、レジオネラ属菌、アメーバも不検出であった。浴槽水のモノクロラミン濃度3 mg/L維持によって14日間と長期間にわたってバイオフィーム形成抑制効果が継続することが確認された。

4. モノクロラミン消毒時の浴槽水における有機物等（過マンガン酸カリウム消費量）、TOC（全有機炭素）などの推移

表6に、2回目の実験のモノクロラミン消毒時の浴槽水における有機物等、TOC（全有機炭素）などの推移を示した。

入浴者数の増加に伴って有機物等、TOCが増加していた。また、モノクロラミン投入に伴うアンモニア態窒素、塩化物イオンの増加も確認された。濁度、色度の増加はなかった。

D. 結論

循環ろ過式浴槽モデルにおいて、入浴を伴った実験で、モノクロラミンの消毒効果と消毒方法を検討した。ヒトの入浴によってもモノクロラミン濃度の大幅な減少はなく、不足するモノクロラミンを量的に補うことで、浴槽水のモノクロラミン濃度を安定的に維持できた。

2週間にわたる浴槽水のモノクロラミン濃度（3 mg/L）の維持で、期間内の浴槽水、ろ過器内水のレジオネラ属菌、アメーバを不検出に、従属栄養細菌数もほぼ不検出と細菌学的に良好な水環境の創出が可能であった。ろ過材、ヘアーキャッチャー、配管におけるバイオフィーム形成もほとんどみられず、レジオネラ属菌、アメーバも不検出であった。また、モノクロラミン消毒に伴う塩素臭がない利点も確認された。浴槽水のモノクロラミン消毒は塩素に替わる新しい消毒方法として期待できる結果が得られた。

E. 研究発表

循環ろ過式浴槽モデルにおけるクロラミンBの消毒効果 杉山寛治、神田隆、高橋奈緒美、泉山信司、倉文明、遠藤卓郎 日本防菌防黴学会第36回年次大会（大阪）、2009.9.15

F. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表1 モノクロラミン投入量、塩素濃度、入浴者数の変化(1回目)

	全塩素濃度(mg/L)	遊離塩素濃度(mg/L)	入浴者数	モノクロラミン投入量(mg/L相当)
モノクロラミン投入前	0.11	0.03	0	
濃度一定調整時	3.32	0.12	0	3
濃度管理1日後	2.84	0.09	0	0.4
濃度管理2日後	2.66	0.2	0	0.4
濃度管理入浴1日目	2.62	0.13	1	0.7
濃度管理入浴2日目	2.48	0.16	2	0.6
濃度管理入浴3日目	2.32	0.1	3	1.2
濃度管理入浴4日目	2.6	0.1	1	1
濃度管理入浴5日目	2.76	0.16	3	0.8
濃度管理入浴6日目	2.62	0.15	1	0.8
濃度管理入浴7日目	3.04	0.14	0	0.3
濃度管理入浴8日目	2.2	0.12	3	0.8
濃度管理入浴9日目	2.66	0.1	3	1.4
濃度管理入浴10日目	2.66	0.14	2	1
濃度管理入浴11日目	3.1	0.13	2	0.6
濃度管理入浴12日目	2.56	0.15	3	1
濃度管理入浴13日目	3.08	0.12	1	0.4
濃度管理入浴14日目	2.44	0.16	0	0.8
濃度管理入浴15日目	3.14	0.13	0	0
濃度管理なし1日目	1.78	0.06	0	0
濃度管理なし2日目	1.36	0.06	0	0
濃度管理なし3日目	1.06	0.11	0	0

表2 モノクロラミン投入量、塩素濃度、入浴者数の変化(2回目)

	モノクロラミン濃度 (mg/L)	全塩素濃度(mg/L)	遊離塩素濃度 (mg/L)	入浴者数	モノクロラミン投入量(mg/L相当)
モノクロラミン投入前	0.11	0.33	0.01	0	
濃度一定調整時	2.98	2.96	0.14	0	3.6
濃度管理1日後	2.6	2.56	0.11	0	0.86
濃度管理2日後	2.5	2.52	0.13	0	1
濃度管理3日後	2.5	2.5	0.2	0	0.6
濃度管理入浴1日目	2.33	2.6	0.1	1	1.6
濃度管理入浴2日目	2.56	2.96	0.15	1	1
濃度管理入浴3日目	2.56	2.58	0.14	3	1.2
濃度管理入浴4日目	2.7	2.72	0.13	3	1
濃度管理入浴5日目	2.54	2.74	0.13	1	1
濃度管理入浴6日目	2.66	2.68	0.13	1	0.8
濃度管理入浴7日目	2.63	2.66	0.14	3	1.2
濃度管理入浴8日目	2.84	2.6	0.12	2	0.8
濃度管理入浴9日目	2.64	2.7	0.13	1	0.8
濃度管理入浴10日目	2.43	2.46	0.13	2	1.2
濃度管理入浴11日目	2.65	2.62	0.13	2	1
濃度管理入浴12日目	2.43	2.6	0.13	1	0.8
濃度管理入浴13日目	2.33	2.48	0.14	1	0.8
濃度管理入浴14日目	2.38	2.48	0.13	0	0
濃度管理なし1日目	1.68	1.7	0.09	0	0
濃度管理なし2日目	0.96	1.92	0.06	0	0
濃度管理なし3日目	0.72	0.86	0.05	0	0
濃度管理なし4日目	0.43	0.48	0.04	0	0
濃度管理なし5日目	0.25	0.38	0.03	0	0
濃度管理なし8日目	0.05	0.36	0.02	0	0
濃度管理なし9日目	0.08	0.18	0.02	0	0
濃度管理なし10日目	0.04	0.03	0.04	0	0
濃度管理なし11日目	0.03	0.26	0.02	0	0
濃度管理なし15日目	0.12	0.03	0.04	0	0

表3 浴槽水、ろ過器内水の菌数等と水質の変化(1回目)

	浴槽水					ろ過器内水				
	従属栄養細菌数 (CFU/mL)	レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	アモeba (50mL中)	EMA-PCR (CFU/100mL)	フローサイトメトリ一判定	従属栄養細菌数 (CFU/mL)	レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	アモeba (50mL中)	EMA-PCR (CFU/100mL)	フローサイトメトリ一判定
濃度管理入浴前	<10	<10	0	<10	清浄	<10	<10	0	<10	清浄
濃度管理入浴1日目	<10	<10	0	<10	清浄	<10	<10	0	<10	清浄
濃度管理入浴2日目	<10	<10	0	<10	清浄	<10	<10	0	<10	清浄
濃度管理入浴3日目	<10	<10	0	<10	清浄	<10	<10	0	<10	清浄
濃度管理入浴5日目	<10	<10	0	<10	清浄	<10	<10	0	<10	清浄
濃度管理入浴8日目	<10	<10	0	<10	清浄	10	<10	0	<10	清浄
濃度管理入浴10日目	<10	<10	0	<10	清浄	<10	<10	0	<10	清浄
濃度管理入浴12日目	<10	<10	0	<10	清浄	<10	<10	0	<10	清浄
濃度管理入浴15日目	<10	<10	0	<10	清浄	<10	<10	0	<10	清浄
濃度管理なし44日目	2.5×10^5	2.2×10^4	検出	24×10^3	検査せず	1.2×10^5	1.1×10^4	検出	8.0×10^3	検査せず

表4 浴槽水、ろ過器内水の菌数等と水質の変化(2回目)										
	浴槽水					ろ過器内水				
	従属栄養細菌数 (CFU/mL)	レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	アメーバ (50mL中)	EMA-PCR (CFU/100mL)	フローサイトメトリー判定 (実測値)	従属栄養細菌数 (CFU/mL)	レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	アメーバ (50mL中)	EMA-PCR (CFU/100mL)	フローサイトメトリー判定 (実測値)
濃度管理入浴前	<10	<10	0	<10	清浄(833)	<10	<10	0	<10	清浄(1110)
濃度管理入浴1日目	<10	<10	0	<10	清浄(1110)	<10	<10	0	<10	清浄(1280)
濃度管理入浴3日目	<10	<10	0	<10	清浄(613)	<10	<10	0	<10	清浄(777)
濃度管理入浴7日目	<10	<10	0	<10	清浄(890)	<10	<10	0	<10	清浄(1440)
濃度管理入浴11日目	20	<10	0	<10	清浄(1670)	<10	<10	0	<10	清浄(1610)
濃度管理入浴14日目	10	<10	0	<10	清浄(1280)	<10	<10	0	<10	清浄(1000)
濃度管理なし15日目	3.1×10^5	7.5×10^2	9.5	8.0×10^3	汚染(11,200)	3.9×10^5	3.8×10^2		5.2×10	汚染(8,390)

表5 バイオフィルムの変化(1回目および2回目)

	1回目			2回目		
	従属栄養細菌数 (CFU/swab またはg)	レジオネラ属菌数 (CFU/swab またはg)	アメーバ数 (PFU/swab またはg)	従属栄養細菌数 (CFU/swab またはg)	レジオネラ属菌数 (CFU/100mL またはg)	アメーバ数 (PFU/swab またはg)
入浴前 HC	330	<10	0	<10	<10	0
入浴前 塩ビ配管1	<10	<10	0	<10	<10	0
入浴前 塩ビ配管2	<10	<10	0	<10	<10	0
入浴前 塩ビ配管3	<10	<10	0	<10	<10	0
入浴前 ろ材	<10	<10	<10	70	<10	<10
8日目 HC	70	<10	0	<10	<10	0
8日目 塩ビ配管1	<10	<10	0	<10	<10	0
8日目 塩ビ配管2	<10	<10	0	<10	<10	0
8日目 塩ビ配管3	<10	<10	0	<10	<10	0
8日目 ろ材	570	<10	<10	<10	<10	<10
15日目 HC	10	<10	0	10	<10	0
15日目 塩ビ配管1	<10	<10	0	<10	<10	0
15日目 塩ビ配管2	<10	<10	0	<10	<10	0
15日目 塩ビ配管3	<10	<10	0	<10	<10	0
15日目 ろ材	590	<10	<10	<10	<10	<10
濃度管理なし HC	検査せず	検査せず	検査せず	3.3×10^5	8.0×10^2	

表6 モノクロラミン 消毒時の浴槽水における有機物等、TOC(全有機炭素)などの推移(2回目実験)

採水日	色	濁度	pH	電気伝導率	アモニア態窒素	有機物等	TOC	塩化物イオン
	度				素			mg/L
	度	度		mS/m	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
モノクロラミン投入前	0.5 未満	0.2	8.4	18.5	0.05 未満	1.0	0.3 未満	2.4
濃度一定調整時	0.5 未満	0.1 未満	8.4	20.8	2.22	1.4	0.3 未満	9.2
濃度管理入浴前	0.5 未満	0.1 未満	8.7	24.3	3.12	2.7	0.6	15.9
濃度管理入浴1日目	0.5 未満	0.1 未満	8.6	24.5	2.94	2.2	0.7	17.3
濃度管理入浴3日目	0.5 未満	0.1 未満	8.7	25.2	3.22	3.0	1.0	19.0
濃度管理入浴7日目	0.5 未満	0.1 未満	8.7	27.8	4.03	3.5	2.1	26.8
濃度管理入浴11日目	0.5 未満	0.1 未満	8.7	31.6	4.61	7.6	3.3	34.2
濃度管理入浴14日目	0.5 未満	0.1 未満	8.7	33.9	5.04	8.0	4.0	40.3

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

結合型塩素による浴槽水の消毒効果の評価

研究分担者 縣 邦雄 アクアスつくば総合研究所
泉山 信司 国立感染症研究所 寄生動物部
研究協力者 神澤 啓 アクアスつくば総合研究所

研究要旨：浴槽水のレジオネラ属菌汚染防止対策は、遊離残留塩素濃度を0.2～1.0mg/L程度維持する管理が一般的であるが、遊離残留塩素濃度を常時一定範囲に維持することは手間が掛かり、容易ではない。高濃度に維持した場合はヒトに対する塩素臭刺激や皮膚刺激性、金属類に対する腐食性が問題となる。そこで遊離塩素の欠点を解決できるレジオネラ属菌の消毒方法として、結合型塩素（モノクロラミンなど）による浴槽水消毒の実用性を評価した。

本研究では、レジオネラ属菌の定着したろ過器を有するモデル循環浴槽水を使用して、2回の試験を行いモノクロラミンによるレジオネラ属菌等に対する殺菌効果を評価した。その結果、モノクロラミンは、2mg/L程度を連続的に浴槽水に維持することにより、レジオネラ属菌等に対する殺菌効果及びバイオフィルムの除去効果が確認された。

また、温泉水でアンモニウムイオンを含む浴槽水では、次亜塩素酸ナトリウムの添加により結合塩素を生成する。こうした条件の温浴施設の消毒管理状態を調査した結果、定期的な浴槽水系の殺菌洗浄と結合塩素処理の組み合わせにより、良好な消毒状態が確保されていることを確認した。

本研究の結果、結合型塩素による浴槽水の消毒管理は可能であり、実施設では殺菌洗浄との組み合わせにより良好な消毒効果を確認できた。実際の浴槽水への適用にあたっては、モノクロラミンの連続製造装置及び浴槽水の全残留塩素濃度管理の自動化を適用することが望ましい。

ることにより行われている。この処理

A. 研究目的

公衆浴場における浴槽水の微生物制御、とりわけレジオネラ属菌対策を目的とした消毒は通常、塩素剤(次亜塩素酸ナトリウム溶液、塩素化イソシアヌル酸塩など)を添加して、遊離残留塩素濃度を0.2～1.0mg/L程度に常時維持す

により浮遊性のレジオネラ属菌を殺菌するとともに、浴槽壁面やろ過器ろ材へのバイオフィルム付着を抑制し、浴槽水中のレジオネラ属菌を不検出に維持管理する。

しかし、遊離残留塩素は反応性が高

いため、ヒトの入浴による有機物の混入やジェット浴での曝気、時間経過の要因で濃度が変化しやすい。このため、遊離残留塩素濃度を安定して維持管理することは手間がかかり困難が伴う。また、遊離残留塩素濃度が高い場合はヒトに対する皮膚刺激性や臭気、金属材料に対する腐食性が問題となる。

これに対し、結合型塩素は反応性が緩やかなことから、遊離残留塩素の各種欠点が緩和される可能性がある。本研究では結合型塩素剤としてモノクロラミンを使用した場合の消毒効果の実用性を評価することを目的とした。このために、試験は、実際の循環式浴槽水に近い微生物汚れの条件でモノクロラミンのレジオネラ属菌、一般細菌、従属栄養細菌に対する消毒効果を評価した。また、実際の温泉施設でアンモニウムイオンを含む温泉浴槽水の塩素剤による管理(実質的に結合塩素管理)における、管理方法と浴槽水の消毒状態を調査した。

B. 研究方法

1. 概要

1-1. モデル循環式浴槽試験

実際の浴槽水に近い微生物汚染状態のモデル循環式浴槽を用いて、結合型塩素剤であるモノクロラミンを用いて、レジオネラ属菌をはじめとする細菌類に対する殺菌効果を調査した。試験は2回行い、①モノクロラミン濃度が夜間低下する条件における試験 ②モノクロラミン濃度を夜間も維持し、ポーラログラフ式監視計器による連続測定を行なった場合の試験の2条件とした。

1-2. 実温泉施設の管理状況

実際の温泉温泉施設において、日常の管理方法の聞き取り、全残留塩素濃

度の測定、採水によるレジオネラ属菌一般細菌数、従属栄養細菌数の調査を行なった。

2. 試験方法

2-1. モデル循環式浴槽試験(1回目)

- ① レジオネラ属菌の定着が確認されているモデル浴槽(保有水量500L、砂ろ過を備えた循環式)の水温を40℃に維持循環し、レジオネラ属菌の定着を確認した。
- ② 浮遊性の微生物検査
無処理時の浴槽水を採水後、2.7%モノクロラミン液を全残留塩素濃度として2mg/Lになるように添加して、添加後1時間、3時間、5時間、1日後、2日後、3日後に循環浴槽水をろ過器出口から採水し、浮遊性のレジオネラ属菌数、一般細菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数、ATPを測定した。
- ③ スポンジ担体の微生物検査
前項と同様の時期に、浴槽水中に約1年間浸漬しておいたスポンジ担体(15mm角)5個を採取し軽く水を切った後、10mLの滅菌水に入れて抽出し、抽出液の微生物検査を行ない、担体中のバイオフィームに対する消毒効果を評価した。
- ④ PVC配管内面の微生物検査
循環配管の一部を構成する、20A塩化ビニル配管(PVC配管)の内面のふき取りを、試験開始前及び試験終了後に行なった。拭き取り検査キット(PromediaST-25)を用い配管内面を約70mmの長さ範囲で拭き取り、微生物検査を行なった。
- ⑤ 採水した試料水には、チオ硫酸ナトリウムを添加し残留塩素を中和した後、各種の微生物検査を行なった。
- ⑥ 残留塩素濃度の維持

浴槽水の採取時及び翌日以降の朝、昼、晩には、全残留塩素濃度及び遊離塩素濃度を DPD 法により測定し、全残留塩素濃度が 2mg/L に対して不足している場合には不足分を添加した。

2-2. モデル循環式浴槽試験(2回目)
1回目の試験の約2ヵ月後、同じモデル循環式浴槽を用いて同様の試験を行なった。操作①から⑤は1回目と同じである。⑥残留塩素濃度の維持は、方法が異なり、以下のように行なった。

最初、2.7%のクロラミン液を用いて、浴槽水中の全残留塩素濃度を 2mg/L とした。その後、約 1000mg/L のモノクロラミン液を小型薬液注入ポンプを用いて微量ずつ添加した。全残留塩素濃度は、人手により DPD 法で測定するのに加えてでポーラログラフ式の測定計器（イワキ製 CL-310W-IA 型）で連続測定した。この結果、全残留塩素濃度は夜間から朝にかけて不検出となることなく運転することが出来た。

第2回目の試験の際のモデル循環浴槽の様子を図1に示す。

2-3. クロラミン液の調製と安定性評価

(1) モノクロラミン液の調製

浴槽水の試験に用いたモノクロラミン液は、以下の方法により調製した。

6%次亜塩素酸ナトリウム溶液 80mL と 10%塩化アンモニウム溶液 100mL を混合することにより、2.7%モノクロラミン液(モル比 1.5)を調製し、直ちに使用(手投入)した。

薬液注入ポンプにより注入する場合は、2.7%モノクロラミン液を純水で約 23 倍に希釈して、計算濃度 1160mg/L 液として 24 時間以内に使用した。

(2) モノクロラミン液の安定性

モノクロラミン液の安定性を評価するために以下の試験を行なった。

①2.7%モノクロラミン液(モル比 2.9)を調製し、原液、2倍、5倍、10倍、20倍希釈をした場合の、pHの変化を室温(20~25℃)で測定した。

②1160mg/Lモノクロラミン液(モル比 1.5)に、水酸化ナトリウムを 0.1%、0.2%、0.3%添加して pH を調整した場合の pH 及び、残留塩素濃度の変化を室温(20~25℃)で測定した。

2-4. 実温浴施設の管理状況調査

アンモニウムイオンを 4mg/L 程度含有する温泉水を原水とする、浴場施設において、浴槽水の管理状況として、日常の塩素濃度維持・殺菌洗浄方法の聞き取り調査、及び採水による残留塩素濃度、レジオネラ属菌、一般細菌数、従属栄養細菌数の検査を行った。

C. 結果と考察

1. モデル循環式浴槽試験(1回目)

(1) 試験水質

試験を行なった浴槽水の水質を示す。

項目	試験前	試験後
pH	7.9	8.2
電気伝導率(mS/m)	100	120
全硬度	212	225
Ca硬度	130	140
Mg硬度	82	85
塩化物イオン	180	200
硫酸イオン	110	130
酸消費量(pH4.8)	190	180
シリカ	13	14
アンモニウムイオン	<0.1	9.5

(単位: mg/L)

(2) 浮遊性微生物と残留塩素

浮遊性微生物(ATP、一般細菌数、従属栄養細菌数、レジオネラ属菌数、アメーバ数)及び浴槽水の全残留塩素濃

度の測定結果を（表 1，図 2）に示す。

レジオネラは，初期 39000CFU/100mL であったが，クロラミン投入 1 時間後で 30CFU/100mL に減少し，その後も 10 から 30CFU/100mL の低い値であった。

一般細菌数，従属栄養細菌数はクロラミン投入後も菌数は殆ど変化せず，1 日後の採水では 3 桁以上の増加となっている。これは，1 日後，2 日後，3 日後の採水時は朝であり，夜間残留塩素濃度が減少した結果，採水時の塩素濃度は 0.1mg/L 未満又は 0.5mg/L であった。クロラミンを添加することで循環系内のバイオフィームが剥離し，浮遊性となり検出されたものと考えられる。

ATP，アメーバについても同様の挙動であり，1 日目の 5 時間まではクロラミンが残留していることで減少傾向，1 日後，2 日後，3 日後では，残留塩素がない(少ない)状態での採水であったためバイオフィームから剥離した微生物が多く検出された状況となっている。

(3) スポンジ担体の微生物

スポンジ担体の微生物の測定結果を（表 2，図 3）に示す。

レジオネラは，初期 85000CFU/mL であったが，クロラミン投入 1 時間で 10CFU/mL となり，その後も不検出から 20CFU/mL の低い値であった。

ATP，アメーバ数は徐々に減少する傾向が認められた。一般細菌数，従属栄養細菌数は，1 日目はあまり変化なく，1 日後，2 日後，3 日後の測定では増加傾向が認められた。バイオフィームが剥離し浮遊した微生物の影響を受けていることが考えられた。

(4) PVC 配管内面の微生物

PVC 配管の内面を拭き取り，再懸濁した水中の微生物の測定結果を（表 3，

図 4）に示す。

レジオネラは初期 50CFU/mL であったものが，3 日後では不検出(10CFU/mL 未満)となっている。アメーバも同様に 140PFU/mL が 3 日後不検出となった。

全 ATP，一般細菌数，従属栄養細菌数はいずれも減少が認められた。PVC 配管の拭き取りは，水の無い状態で表面の拭き取りを行なったので，浮遊性やスポンジ担体のように，浮遊性微生物の影響を受けにくく，バイオフィームの状態そのものを評価できていると考えられる。従って，配管内のバイオフィームは減少していることが確認された。

2. モデル循環式浴槽試験(2 回目)

(1) 試験水質

試験を行なった浴槽水の水質を示す。

項目	試験前	試験後
pH	6.7	6.2
電気伝導率(mS/m)	120	140
全硬度	240	245
Ca 硬度	150	150
Mg 硬度	90	95
塩化物イオン	200	270
硫酸イオン	190	190
硝酸イオン	90	53
酸消費量(pH4.8)	2	2
シリカ	16	16
アンモニウムイオン	0.9	19

(単位：mg/L)

(2) 浮遊性微生物と残留塩素

浮遊性微生物及び浴槽水の全残留塩素濃度の測定結果を（表 4，図 5）に示す。

レジオネラは，初期 2300CFU/100mL であったが，クロラミン投入 1 時間後で 10CFU/100mL に減少し，その後は不検出(10CFU/100mL 未満)を維持した。

一般細菌数，従属栄養細菌数はクロラミン投入後，徐々に減少して行き 1

日後の採水ではほぼ不検出となり、2日後、3日後も継続してほぼ不検出を維持した。これは、薬液注入ポンプを用いて連続的にクロラミン液を添加した結果、夜間の浴槽水中の全塩素濃度の減少が無く、朝の採水時でも1.0から2.5mg/Lの濃度を維持していたため、浮遊性細菌に対する殺菌効果が持続したものと考える。

ATPは徐々に減少傾向、アメーバは初期400PFU/100mLが1時間後以降継続して不検出であった。

(3) スポンジ担体の微生物
スポンジ担体の微生物の測定結果を(表5, 図6)に示す。

レジオネラは、初期9900CFU/mLであったが、クロラミン投入1時間で不検出(10CFU/mL未満)となり、その後は不検出を維持した。

アメーバは、初期1300PFU/mLが5時間後までは1から3PFU/mL、1日後以降は不検出となった。

ATP、一般細菌数、従属栄養細菌数はクロラミン投入後、徐々に減少して行き、減少傾向は継続した。2日目、3日目の採水では一般細菌数、従属栄養細菌数ともに100CFU/mL未満の低い値となった。ATPは徐々に減少し、最終的には4桁の減少となった。

(4) PVC配管内面の微生物

PVC配管の内面を拭き取り、再懸濁した水中の微生物の測定結果を(表6, 図7)に示す。

レジオネラは初期1400CFU/mLであったものが、3日後では不検出(10CFU/mL未満)となっている。アメーバも20PFU/mLが3日後不検出となった。

全ATP、一般細菌数、従属栄養細菌数

はいずれも大幅に減少しており、各1pmol/L、不検出(1CFU/mL未満)、19CFU/mLの低い値であった。

PVC配管上のバイオフィームは、ほぼ殺菌されていると判断できる。

(5) 全残留塩素濃度の測定結果

今回の試験(2回目)では、浴槽水の全残留塩素濃度をポーラログラフ式の測定計器(イワキ製CL-310W-IA型)で連続測定した。初期のクロラミン投入後の測定値の挙動を図8に示す。

0分で2.0mg/Lのクロラミン濃度となったところで、計器は1.6mg/Lを表示したので、その時点で計器を2.0mg/Lに校正した。その後は、DPD法による全残留塩素濃度と計器による測定値は、ほぼ一致しており、適切な時期に校正を行なうことにより、計器による全残留塩素濃度の連続測定が可能であることを確認した。

3. クロラミン液の安定性

クロラミン液の安定性調査として以下の試験行なった結果を示す

(1) 2.7%液(モル比2.9)を希釈した場合の室温におけるpHの挙動を調査した結果を表7に示す。

2.7%液では、調製13時間後の測定でpHが1.1となり、塩素ガスが発生する。希釈していくに従い、pHの低下の程度は小さくなるが、10倍希釈までは48時間でpHが強い酸性になることが確認できた。

20倍希釈では48時間後のpHは6.8でありほぼ中性であった。

(2) 1160mg/L液(モル比1.5)のpHを変化させた場合の、室温におけるpHと塩素濃度の挙動を調査した結果を表8に示す。

水酸化ナトリウムを添加しない場合

は、90 時間後の pH は 6.1 となり、塩素濃度は 150mg/L と約 13% にまで低下した。水酸化ナトリウムを添加した場合は、0.1%、0.2%、0.3% いずれも 90 時間後でも酸性にはならず、塩素濃度は初期の 40% 程度に低下した。

(3) クロラミン液の安定性のまとめ

クロラミン液は、通常の次亜塩素酸ナトリウム 6% 液と、塩化アンモニウム液を混合し 2.7% クロラミン液を調製した場合、13 時間以内に pH が 1.1 まで低下し、塩素ガスが発生する。

クロラミン液を 20 倍に希釈（塩素濃度 1350mg/L）することで 24 時間まで pH をアルカリ性に保持できる。

1160mg/L のクロラミン液の場合、24 時間後の塩素濃度は初期の 75% 程度になる。水酸化ナトリウムの添加により pH を高くした場合も 25 時間までの塩素濃度の低下程度は、水酸化ナトリウム無添加と同様である。より長期(90 時間後)に保管した場合は水酸化ナトリウムを添加したほうが塩素の残留量が多くなった。（無添加 13% 残留、水酸化ナトリウム添加 40% 残留）

4. 実温浴施設の管理状況調査

アンモニウムイオンを 4.7mg/L 含有する温泉水を原水とする、浴場施設を訪問し、浴槽水の管理状況の調査、残留塩素濃度、レジオネラ属菌、一般細菌数、従属栄養細菌数の検査を行った。

施設は、日帰り温泉湯浴施設であり、調査対象浴槽の保有水量 32 トン、一日の補給温泉水量 30 トン程度、浴槽水は毎日営業終了後全換水している。

管理方法は以下の通りであった。

日中は、循環温泉浴槽水に次亜塩素酸ナトリウムを添加し、浴槽水中の全残

留塩素濃度を 3mg/L 以上としている。

毎日、営業終了時に浴槽に塩素剤を添加し、浴槽水の塩素濃度を高く維持した後循環し、その水でろ過器を逆洗している。（毎日、次亜塩素酸ナトリウム 10kg = 残留塩素濃度として 30mg/L 程度で循環及びろ過器逆洗）

週に 2 回は、ショック処理として更に強い条件（次亜塩素酸ナトリウム 20kg 添加により残留塩素 60mg/L 又は、二酸化塩素発生型のタブレット製剤品を 30 粒（二酸化塩素として 1mg/L 濃度）による循環ろ過器逆洗を実施している。

調査当日（2009 年 10 月 28 日）は、14 時に採水した。浴槽水の遊離塩素濃度は DPD 法では 0.2mg/L、FACTS 法では 0.0mg/L であり、実質的に遊離残留塩素濃度は 0.0mg/L と判断される。結合塩素濃度は DPD 法により測定し 3~4mg/L 程度であった。

同日採水の浴槽水は、レジオネラ属菌不検出（10CFU/100mL 未満）、一般細菌数、従属栄養細菌数とも不検出（0CFU/mL）であった。原泉と浴槽水の水質を以下に示す。

項目	源泉	浴槽水
pH (25℃)	8.2	8.8
電気伝導率 (mS/m)	55	61
全硬度	19	23
Ca 硬度	13	15
Mg 硬度	6	8
M アルカリ度	300	380
塩化物イオン	9	20
硫酸イオン	0	0
シリカ	52	53
アンモニウムイオン	4.7	3.6
鉄	0	NT
マンガン	0	NT
COD	1.3	NT