

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷

## 7. 生活用水のアメーバ汚染

遠藤 卓郎\*<sup>1)</sup> 泉山 信司\* 八木田 健司\*

わが国では全国各地に温泉あるいは大規模入浴施設が普及しており、その多くにおいて循環式浴槽が採用されている。かかる施設ではレジオネラ症の集団発生をみており、衛生管理の重要性が指摘される。循環式浴槽では浴槽水を一定期間連続使用することから微生物汚染が免れず、畢竟、レジオネラ症のリスクが高まる。レジオネラは環境中においてアメーバなどの原虫類を宿主として増殖し、エアロゾルを介してヒトに感染する。また、温水を好むアメーバの中に角膜炎や脳炎を引き起こすアメーバが知られている。感染経路は不明であるが、わが国でも稀に脳炎患者が発生している。これらの汚染、さらには感染被害を防ぐには浴槽施設の洗浄・換水の励行と、遊離残留塩素による持続的な消毒が必須である。

**Key Words :** アメーバ/アメーバ性脳炎/レジオネラ症/浴槽水

### I はじめに

新興再興感染症という言葉が使われてからすでに久しいが、感染症はその時々々の生活習慣や食習慣を反映するもので、運輸システムの発達が感染症のグローバル化をもたらしたことはその典型といえる。ところで、21世紀は水の世紀といわれており、飲料水のみならず農業用水や工業用水などの安定確保が重要課題となる世紀である。従来、水は「河川→海洋→雨→河川（湧き水、地下水）」という、いわゆる水の大循環を経て再利用されてきた。ところが、都市化が進み人口の集中が進んだ今日では都市部での水源不足は慢性化しており、水道水といえど大循環を経ずして下水が繰り返し再利用されている。そのような中であって、近年の無軌道な温泉ブームを憂慮するのは筆者らのみではなかろうと思う。わが国に温泉文化があることは誰もが認めることである。しかし、全国いたるところで地下水を掘り、次から大規模入

浴施設を設けていく様は古来より育んできたわが国の温泉文化とどのような関係にあるというのであろうか。1,000mも2,000mも地下深く掘り下げて地下水をくみ上げるのは掘削技術の革新を誇るものに過ぎない。また、入浴施設がかくも大規模化したのは化石燃料がふんだんに使えるようになったことにはほかならず、まして循環式と称して浴槽水の繰り返し使用はいわゆる温泉文化の対極にあると考えている。このような「新しい生活様式」は例に漏れず「新たな疾病」を生み出している。

以下に生活用水、特に浴槽水の微生物汚染を整理してみた。アメーバ汚染にかかる問題は2つの局面から言及する必要がある。1つはレジオネラ汚染であり、他はアメーバ自体による感染症である。

### II アメーバ汚染とレジオネラ

レジオネラ (*Legionella*) は細胞寄生性の細菌で、ヒトに感染した場合にはマクロファージなどに寄生して増殖する。環境中であってはアメーバなど

Man-made aquatic environments and their microbial contamination

\* Takuro Endo, Shinji Izumiyama, Kenji Yagita 国立感染症研究所寄生動物部<sup>1)</sup>部長

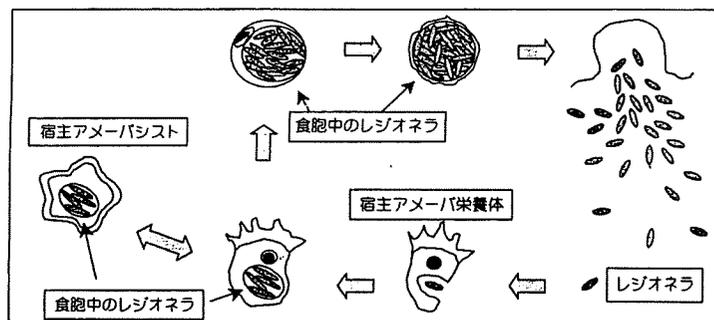


図1 環境中でのレジオネラの増殖様式  
レジオネラは細胞寄生性の細菌で、ヒトに感染した場合にはマクロファージなどに寄生して増殖する。  
(八木田ら原図より引用)

原生動物を宿主としている<sup>1)</sup>。したがって、生活用水のレジオネラ汚染の背景には必ずアメーバなどの原生動物とその餌である微生物の繁殖がある。レジオネラの宿主として、42℃前後の温水に棲息するアカンソアメーバ(*Acanthamoeba*)をはじめとする多様なアメーバや繊毛虫のテトラヒメナ(*Tetrahymena*)が報告されている<sup>2)</sup>。アカンソアメーバを宿主とした場合、感染後2日程度でレジオネラはアメーバをほぼ埋め尽くすほどに増殖し、その数は1,000個以上に達する。やがてレジオネラは運動性を獲得し、新たな宿主を求めて水中に遊出する(図1)。これまでの集団感染事例をみると、レジオネラは浴槽水中で $10^3 \sim 10^6$ cfu/100mLの範囲(ほぼ $10^4$ cfu/100mL弱に収斂)に達していた。単純計算すると浴槽水には1~ $10^3$ 個/100mL程度の感染アメーバが必要となる。これを10トン程度の営業用の浴槽にてあてはめると $10^4 \sim 10^7$ オーダーの感染アメーバが必要となる。仮にアメーバの1%程度が感染しているものとするれば、アメーバ数はさらにその100倍以上にのぼることになる。そのアメーバを支える餌の細菌類にいたっては膨大なものになることは容易に想像されよう。レジオネラ汚染はかくもはなはだしい微生物汚染が背景にあつてのことである。

ところで、循環式浴槽は浴槽水をろ過循環させて長期にわたり継続使用することから、微生物、ひいてはレジオネラ汚染の極めて起きやすい構造となっている。そればかりか本装置では積極的に微生物を定着させて入浴者が持ち込む汚れ(有機物汚染)の処理に活用している。一見すると水の使用部分と汚染水の処理装置(活性汚泥槽)を同居

させており、これらが有効に機能すれば極めて利用価値の高い装置といえる。しかしながら、致命的なことに活性汚泥こそがレジオネラの増殖の場となっている。また、そこからレジオネラを選択的に取り除く有効な手段はない。厚生労働省は先の公衆浴場法ならびに旅館業法に係る通達(健発第1029004号,平成14年10月)で遊離残留塩素(1日2時間以上0.2~0.4mg/Lを保つこと)による浴槽水の衛生管理を勧奨している。本措置は有効ではあるが、同時にシステムの心臓部ともいえる活性汚泥を排除することを意味し、この時点で循環式浴槽システムは理論的に破綻したと言える。さらに、やむを得ず用いている塩素消毒に問題がないわけではない。塩素の使用ではトリハロメタン等に代表される消毒副生成物の発生が避けがたく、入浴により経皮的、あるいは経気道的暴露が免れない。ちなみに、浴用水における微生物対策は0.2mg/L以上の有効遊離残留塩素濃度が効果的であることが示されている(図2)<sup>3)</sup>。

レジオネラの感染様式は汚染された水から発生したエアロゾルを吸引することによるもので、その際のエアロゾルの粒径は2~5 $\mu$ m程度とされている<sup>3)</sup>。我々の生活環境にあつて、入浴施設の他にエアロゾルの発生につながる装置としては空調設備の冷却塔、加湿器や噴霧器あるいは、水を用いる歯科・医療器具など様々なものがある。これらの装置に共通する点は温水の貯留である。現に、レジオネラ症は冷却塔や修景用噴水、超音波式ネブライザー、加湿器や温泉浴槽、場合によってはシャワーや呼吸補助装置などを介した発生が知られている<sup>4)</sup>。また、例外的にはあるがプラン

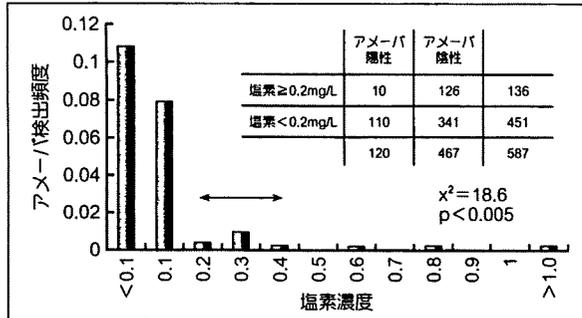


図2 遊離残留塩素濃度とアメーバ検出頻度  
(n = 587)

浴用水における微生物対策は0.2～0.4mg/Lの有効遊離残留塩素濃度が効果的であることが示されている。

ターの土や腐葉土で増殖していたレジオネラ (*L. longbeachae*) が原因と考えられる感染事例の報告もある<sup>5, 6)</sup>。加湿器や噴霧器あるいは、水を用いる歯科・医療器具などにおいては定期的な高濃度の薬品による消毒、水の滞留を防ぐ工夫と、洗浄し易い単純な構造であることが求められる。あわせて、ホースなどの交換を頻繁に行うことが汚染防止につながる。ちなみに、歴史的には冷却塔水のレジオネラ汚染は有名で、かつての集団感染はほとんど冷却塔水を汚染源としていた。ところが、近年では空調施設自体の維持のために冷却塔水の水質管理が徹底されていること、エアロゾルの飛散を抑える構造が推奨されていること、さらに冷却塔の設置場所の規制などが義務付けられたことから、わが国では冷却塔を介したレジオネラ症の報告が聞かれなくなっている。

### Ⅲ 病原性を有する自由生活性アメーバ類

自然界、特に温水に生息するアメーバ類の中にはそれ自体が強い病原性を有する種類が知られており、稀な疾患であるがわが国にも存在する。余談であるが、筆者らが病原アメーバに着目したのは温泉をこよなく愛するわが国において入浴施設を介したアメーバ性脳炎の発症を危惧したことによる。

アメーバ性髄膜脳炎の病形はネグレリア (*Naegleria fowleri*) を病原体とした原発性アメーバ性髄膜脳炎 (primary amoebic meningoencephalitis:

PAM) と肉芽腫性アメーバ性脳炎 (granulomatous amoebic encephalitis: GAE) の2型に大別される。前者は、鼻腔の嗅神経末端から侵入し、嗅神経沿いに中枢神経へ到達し、感染から5～10日のうちに死に至らしめる。わが国では1996年に佐賀県在住の女性が本症に罹患・死亡している。後者の亜急性、慢性の肉芽腫性アメーバ性脳炎は免疫不全者における日和見感染とされ、1週間から数カ月を経て死に至る。これまで、肉芽腫性アメーバ性脳炎はもっぱらアカンソアメーバに起因するものとされてきたが、1980年代になってパラムーティア (*Balamuthia mandrillaris*) という新たな病原アメーバが知られるに至っている。パラムーティアは免疫不全者における日和見感染に限らないことが明らかになっている。筆者らはわが国で報告された6例のアメーバ性脳炎の病原体について再検証を行い、*N. fowleri* および *Acanthamoeba* spp. に起因する脳炎が各1例、*B. mandrillaris* の感染による脳炎が4例であることを確認した。後者のパラムーティアの生息場所、感染経路等は未だに不明である。病理標本の観察からは明らかに血行性に病巣の広がりがみられている。

筆者らは全国14地域の地方衛生研究所の協力を得て各地域の温水利用施設を対象にアメーバの分離・同定ならびに汚染実態の把握に努めた。その結果、浴用水およびその排水などからは高率にアメーバが分離され、中でもネグレリア属が優占種の一角を占めていた。さらに、日本各地で *N.*

PAM (primary amoebic meningoencephalitis ; 原発性アメーバ性髄膜脳炎)

GAE (granulomatous amoebic encephalitis ; 肉芽腫性アメーバ性脳炎)

*australiensis* および *N. philippinensis* の棲息が確認され、マウスに対する致死的な障害性を持つことが再確認された。幸い、これらのアメーバ種は体表の傷口や粘膜からの侵入、あるいは経鼻感染の証拠はなく、感染力は *N. fowleri* に比べてはるかに劣ることが示されている。しかしながら、入浴者への不測の感染事故を回避する上で汚染防止は必須と考える。

このほか、アカンソアメーバはコンタクトレンズ装用者に角膜炎 (*Acanthamoeba keratitis*) を起こすことが知られており、これまでもレンズの衛生管理の重要性が指摘されてきた。本症は1988年にわが国で初めて確認され、1993年までの6年間におよそ40例が報告された。その後も引き続き患者の発生がみられている。本症は早期診断が極めて重要で、早期の治療が予後に大きく影響することが知られている。アカンソアメーバは浴槽水からも多く分離されることから、コンタクトレンズを装用したままの入浴は厳に慎むべきである。

#### IV 利便性の追求とリスク

直面しているレジオネラ問題は人が作り出した温水環境を介して起きている。いわば、便利さや快適さを求める過程で発生した人災といえる。理論的にはこの種の問題の解決は極めて容易である。設備を使用しなければ本件は解決する。しかしながら、使用を前提とした現実対応は極めて難しく、その衛生管理に要する労力は計り知れない。

以下のような試算もある。公衆浴場法では浴槽水の有機物汚染に係る水質基準として過マンガン酸カリ消費量が25mg/L以下であることと規定されている。また、浴槽原水の基準値は過マンガン酸カリ消費量10mg/L以下とされている。不勉強にしてこの基準値が何を根拠として定められたのか知らないが、原水の水質を考慮すると15～25mg/Lの範囲の持ち込みが上限となる。我々の調査によると入浴者一人が持ち込む有機物量は過マンガン酸カリ消費量に換算しておよそ0.5gであった。仮に入浴者の持ち込む汚れ(有機物)を通して入浴者数を規制するとすれば、たかだか10

トン程度の浴槽水に延べ300～500人が入浴できる計算となる。200L程度の家庭用の浴槽に当てはめると延べ6～10人の入浴者に相当する。この基準の是非についても合わせて議論していくべきものと考えている。

循環式浴槽に関しては、原点に立ち返って浴槽水の繰り返し使用そのものの是非を論ずべき時期に来ていると考える。いずれにせよ、利便性を得るのに生活環境の悪化を交換条件とするのであれば、人知もあまり大したものではない。

#### 文献

- 1) Rowbotham TJ: Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *J Clin Pathol* 33: 1179-1183, 1980
- 2) Fields BS: *Legionella* and protozoa: interaction of a pathogen and its natural host. "Legionella: current status and emerging perspectives". Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP, ed. Washington DC, American Society for Microbiology, 1993, p129-136
- 3) 厚生労働科学研究費補助金 (がん予防等健康科学総合研究事業) 総合研究報告書 平成13-15年度温泉・公衆浴場、その他の温水環境におけるアメーバ性髄膜脳炎の病原体 *Naegleria fowleri* の疫学と病原性発現に関する研究 (主任研究者 遠藤卓郎). (H13-生活-042)
- 4) Butler JC, Breiman RF: Legionellosis. "Bacterial infections of humans". Evans AS, Brachman PS, ed. New York, Kluwer Academic/Plenum, 1998, p355-375
- 5) Steele TW: Interaction between soil amoeba and soil legionellae. "Legionella: current status and emerging perspectives". Barbaree JM, Breiman RF, Dufour AP, ed. Washington DC, American Society for Microbiology, 1993, p140-142
- 6) Steel TW, McLennan AM: Infection of *Tetrahymena pyriformis* by *Legionella longbeachae* and other *Legionella* species found in potting mixes. *Appl Environ Microbiol* 62: 1081-1083, 1996

# 各種浴場施設内における 消毒副生成物の曝露評価

高橋淳子<sup>1,2</sup> 久保田佳子<sup>1</sup> 小島幸一<sup>1</sup> 栗原綱義<sup>2</sup> 渡辺 実<sup>2</sup> 青木信道<sup>2</sup>  
 大沢高温<sup>2</sup> 菅原英治<sup>2</sup> 田幡憲一<sup>2</sup> 佐久間豊夫<sup>2</sup> 松本秀章<sup>2</sup> 矢根五三美<sup>2</sup>  
 佐藤 望<sup>3</sup> 田中(相原)真紀<sup>4</sup> 香川(田中)聡子<sup>4</sup> 神野透人<sup>4</sup> 高鳥浩介<sup>4</sup>

1 財食品薬品安全センター 2 小田原地区ビル管理協議会  
 3 神奈川県小田原保健福祉事務所 4 国立医薬品食品衛生研究所

## 1. はじめに

化学物質などによる室内外空気汚染物質発生量の増加により、シックハウス症候群や化学物質過敏症の問題が生じている。そのような中、建築物環境衛生管理基準の大幅な改正後、空気環境の調整に関する基準は、7項目の管理基準が設定され、化学物質の室内濃度の指針値も表1のように策定された<sup>1)</sup>。

表1 室内空気中の化学物質濃度の指針値 (厚生労働省)

化合物名	指針値	
	μg/m <sup>3</sup>	ppm
ホルムアルデヒド	100	0.08
トルエン	260	0.07
キシレン	870	0.2
パラジクロロベンゼン	240	0.04
エチルベンゼン	3800	0.88
スチレン	220	0.05
クロルピリホス	1(小児0.1)	0.07ppb(小児0.007ppb)
フタル酸ジブチル	220	0.02
テトラデカン	33	0.04
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	120	0.0076
ダイアジノン	0.29	0.02ppb
アセトアルデヒド	48	0.03
フェノール	33	0.0038
総揮発性有機化合物	400(注1)	

両単位の換算は25℃の場合による。  
 注1：暫定目標値

一方、水道水中の揮発性有機化合物の曝露経路として、経口曝露の他にも特に入浴時における経気道的および経皮的な曝露が大きく寄与すると考えられている。欧米では、シャワー入浴時に水道水から揮散する消毒副生成物(トリハロメタン類; THMs)の経気道曝露に関心が持たれているが<sup>2-3)</sup>、日本国内においては入浴時における消毒副生成物の実態調査等は行われていないのが現状である。また近年では、公衆浴場

関連の条例は表2に示すとおりであるが、プール水のような総トリハロメタンの水質基準は決められていない。そこで、浴槽入浴を中心とする日本の生活様式に即した化学物質の曝露量の濃度を実測し、これらの消毒副生成物の曝露評価を行い知見が得られたので報告する。

浴槽入浴は、特定建築物施設内の温泉水(掛け流し浴槽施設)と公衆浴場施設である銭湯(循環式浴槽施設)の場合における浴槽水と浴室内空気について測定し、消毒副生成物の曝露評価を行った。さらに、一般家庭内の浴室との比較も行った。

## 2. 調査方法

### 2.1 調査期間

平成17年10月および平成18年10月(天候:いずれも晴)

### 2.2 調査対象

- ①旅館・ホテル(特定建築物施設)の室内温泉大浴場: A~Eの掛け流し浴槽施設5ヶ所
- ②井戸水を原水とした銭湯: 1~6の循環式浴槽施設6箇所
- ③一般家庭浴室(東京都6ヶ所, 神奈川県4ヶ所, 埼玉県1ヶ所, 千葉県1ヶ所)

### 2.3 調査項目

- ①室内外状況: 気温, 水温および相対湿度
- ②消毒副生成物: 浴槽水は水道法による11項目(表3および表4参照), 室内外の空気はトリハロメタン類5項目
- ③化学的項目: 浴槽水および空気の揮発性有機化合



表 3 水道法における水質基準項目及び基準値（施行日：平成 16 年 4 月 1 日）

番号	項目	基準値 (mg/l)	水質検査方法	番号	項目	基準値 (mg/l)	水質検査方法
基01	一般細菌 (個/ml)	100	標準寒天培地法	基26	総トリハロメタン	0.1	PT-GC-MS/HS-GC-MS
基02	大腸菌☆	不検出	特定酵素基質培地法	基27	トリクロロ酢酸☆	0.2	SE-GC-MS
基03	カドミウム及びその化合物	0.01	FAAS/ICP/ICP-MS	基28	ブロモジクロロメタン	0.03	PT-GC-MS/HS-GC-MS
基04	水銀及びその化合物	0.0005	CV-AAS	基29	プロモホルム	0.09	PT-GC-MS/HS-GC-MS
基05	セレン及びその化合物	0.01	Hy-AAS/FAAS/Hy-ICP/ICP-MS	基30	ホルムアルデヒド☆	0.08	MOD-SE-GC-MS
基06	鉛及びその化合物	0.01	FAAS/ICP/ICP-MS	基31	亜鉛及びその化合物	1	FAAS/ICP/ICP-MS
基07	ヒ素及びその化合物	0.01	Hy-AAS/FAAS/Hy-ICP/ICP-MS	基32	アルミニウム及びその化合物☆	0.2	FAAS/ICP/ICP-MS
基08	六価クロム化合物	0.05	FAAS/ICP/ICP-MS	基33	鉄及びその化合物	0.3	FAAS/ICP
基09	シアンイオン及び塩化シアン	0.01	IC-PC	基34	銅及びその化合物	1	FAAS/ICP/ICP-MS
基10	硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	10	IC	基35	ナトリウム及びその化合物	200	FAAS/ICP/IC
基11	フッ素及びその化合物	0.8	IC	基36	マンガン及びその化合物	0.05	FAAS/ICP/ICP-MS
基12	ホウ素及びその化合物☆	1	ICP/ICP-MS	基37	塩化物イオン	200	IC/Tit
基13	四塩化炭素	0.002	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基38	カルシウム、マグネシウム (硬度)	300	Tit/ICP/IC
基14	1,4-ジオキサン☆	0.05	SA-GC-MS	基39	蒸発残留物	500	Weight
基15	1,1-ジクロロエチレン	0.02	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基40	陰イオン界面活性剤	0.2	HPLC/ELISA
基16	シス-1,2-ジクロロエチレン	0.04	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基41	ジェオスミン☆	0.00001	SA-GC-MS/PT-GC-MS/HS-GC-MS
基17	ジクロロメタン	0.02	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基42	2-メチルイソボルネオール☆	0.00001	SA-GC-MS/PT-GC-MS/HS-GC-MS
基18	テトラクロロエチレン	0.01	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基43	非イオン界面活性剤☆	0.02	SE-AS/ELISA
基19	トリクロロエチレン	0.03	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基44	フェノール類	0.005	SE-GC-MS/HPLC
基20	ベンゼン	0.01	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基45	有機物 (全有機炭素 (TOC) の量) ☆	5	TOC
基21	クロロ酢酸☆	0.02	SE-GC-MS	基46	pH値	5.8-8.6	EL
基22	クロロホルム	0.06	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基47	味	異常でない	官能法
基23	ジクロロ酢酸☆	0.04	SE-GC-MS	基48	臭気	異常でない	官能法
基24	ジブromクロロメタン	0.1	PT-GC-MS/HS-GC-MS	基49	色度	5度	Calほか
基25	臭素酸☆	0.01	IC-PC	基50	濁度	2度	比濁法ほか

注1) この省令の施行の際現に布設されている水道により供給される水に係わる41の項および42の項に掲げる基準については、平成19年3月31日までの間はこれらの項目中「0.00001 mg/L」とあるのは「0.00002mg/L」とする。

注2) 平成17年3月31日までの間は、表45の項中「有機物 (全有機炭素 (TOC) の量)」とあるのは「有機物等 (過マンガン酸カリウム消費量)」と、「5mg/L」とあるのは「10mg/L」とする。

表 4 水道法における消毒副生成物の水質基準項目及び基準値（施行日：平成 16 年 4 月 1 日）

番号	項目	基準値 (mg/L)	水質検査方法	番号	項目	基準値 (mg/L)	水質検査方法
基22	クロロホルム	0.06	パーティトラップGC/MS法 ヘッドスペースGC/MS法	基09	シアン化物イオン 及び塩化シアン	シアンの量に 関して、0.01	IC・ポストカラム 吸光光度法
基24	ジブromクロロメタン	0.1	パーティトラップGC/MS法 ヘッドスペースGC/MS法	基25	臭素酸	0.01	IC・ポストカラム 吸光光度法
基28	ブロモジクロロメタン	0.03	パーティトラップGC/MS法 ヘッドスペースGC/MS法	基21	クロロ酢酸	0.02	溶媒抽出・GC/MS法
基29	プロモホルム	0.09	パーティトラップGC/MS法 ヘッドスペースGC/MS法	基23	ジクロロ酢酸	0.04	溶媒抽出・GC/MS法
基26	総トリハロメタン	0.1	※1	基27	トリクロロ酢酸	0.2	溶媒抽出・GC/MS法
				基30	ホルムアルデヒド	0.08	溶媒抽出・誘導体化 GC/MS法

※1 クロロホルム、ジブromクロロメタン、ブロモジクロロメタン及びプロモホルムごとに揚げる方法

物 (VOCs) 20 項目、浴槽水の pH、残留塩素、濁度、過マンガン酸カリウム消費量 (KMnO4) および 1,4 ジオキサン

④微生物学的項目：浴槽水中のレジオネラ属菌、一般細菌、大腸菌、大腸菌群および真菌

## 2.4 実験方法

①サンプリング方法：浴槽水は水道法に準拠して採水、室内外の空気は、小型ポンプ (SIBATA MP-Σ 30) を用い、室内外の空気を 75mL/min の流速で 10 分間吸引し、直列に接続した 2 本の

Tenax TA 吸着管 (Supelco) で捕集

②VOCs 測定 (トリハロメタン類を含む) : ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS) を用いて表 5 の条件下で測定

③ VOCs 測定の化学的項目の測定: 水道法に準拠

④微生物学的項目の測定: 水道法および浴槽水水質試験に準拠

### 3. 調査結果

調査対象浴場施設 (掛け流し浴槽施設および循環式浴槽施設) 内での浴槽水中の化学的および微生物学的項目の測定結果は、表 6 に示した。その結果、井戸水を循環させている 1~6 の循環式浴槽施設の浴槽水すべてからトリハロメタン類、ホルムアルデヒド、臭素酸、クロロ酢酸類の消毒副生成物が検出された。特に、循環式浴槽施設である施設 3 は、プール水の水質基準 (総トリハロメタン 200mg/L) を 1.2 倍超過する

表 5 GC-MS の装置・測定条件

#### 空気の測定

[島津 TDTS-2010] (加熱脱着装置)

捕集管加熱・パージ: 60 ml He/min, 10 min, 280°C

コールドトラップ: -15°C (Tenax TA)

加熱脱着: 280°C, 10 min, ライン保温温度: 250°C

[島津GCMS-QP2010]

カラム: Rtx-1 (60 m × 0.32 mm i.d., 1µm)

キャリアガス流量: He (39.1 cm/min), 検出モード: SIM

カラム温度: 40°C - 5°C/min - 140°C - 20°C/min - 250°C (4.5 min)

インターフェイス温度: 250°C, イオン源温度: 200°C

#### 浴槽水の測定

[PerkinElmer HS-40] (ヘッドスペース装置)

加圧時間: 3 min, 注入時間: 0.12 min, オープン温度: 70°C

ニードル温度: 150°C, トランスファー温度: 180°C

[島津GCMS-QP2010]

カラム: DB-624 (30 m × 0.27 mm i.d., 1.4µm)

キャリアガス流量: He (1ml/min), 検出モード: SIM

カラム温度: 50°C (3.5 min) - 25°C/min - 115°C - 40°C/min - 220°C (3.0 min)

インターフェイス温度: 220°C, イオン源温度: 200°C

表 6 浴槽水の測定結果

測定項目 測定場所	水温 (°C)	pH	残留塩素 (mg/L)	濁度 (度)	KMnO4 (mg/L)	微生物					消毒副生成物およびVOCs							
						レジオネラ属菌 (CFU/100mL)	一般細菌 (CFU/mL)	大腸菌 (CFU/mL)	大腸菌群 (CFU/mL)	真菌 (CFU/mL)	総トリハロメタン (mg/L)	ホルムアルデヒド (mg/L)	臭素酸 (mg/L)	シアンおよび塩化シアン (mg/L)	クロロ酢酸類 <sup>1)</sup> (mg/L)	20種類のVOCs <sup>2)</sup> (mg/L)	1,4-ジオキサン (mg/L)	
A	42.5	7.1	1.5	0.35	0.2	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.002	ND <sup>3)</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B	43.0	7.1	0.05	0.20	0.2	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C	41.0	3.5	0	2.35	2.9	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
D	40.0	3.5	0	1.62	1.7	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.001	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
E	41.5	8.6	0.4	0.95	0.8	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.035	0.014	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	42.5	8.4	0.1	0.04	2.9	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	1/1mL	0.021	0.029	0.004	ND	0.074	0.022	0.0001	
2	42.1	8.4	0.2	1.57	1.4	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.029	0.009	0.002	ND	0.013	0.031	0.0001	
3	43.2	8.4	2.0	0.02	12.5	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.243	0.232	0.036	0.002	0.675	0.245	0.0002	
4	42.8	7.8	0.2	0.07	11.0	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.066	0.087	0.082	0.002	0.173	0.069	0.0002	
5	44.8	8.4	2.0	0.04	3.4	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.037	0.059	0.006	ND	0.093	0.040	0.0005	
6	43.2	8.4	0.4	0.03	5.1	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.024	0.048	0.036	ND	0.101	0.029	0.0023	

\*1) クロロ酢酸, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸

\*2) 1,1-ジクロロエチレン, ジクロロメタン, ブチルメチルエーテル, trans-cis1,2-ジクロロエチレン, 1,1,1-トリクロロエタン, 四塩化炭素, ベンゼン, 1,2-ジクロロエタン, トリクロロエチレン, 1,2-ジクロロプロパン, trans-cis1,3-ジクロロプロペン, トルエン, 1,1,2-トリクロロエタン, テトラクロロエチレン, o, m, p-キシレン, p-ジクロロベンゼン

\*3) ND: 定量下限値未満

総トリハロメタンが検出された。さらに、水道法の水質基準の 2.9 倍のホルムアルデヒド, 3.6 倍の臭素酸, 2.6 倍のクロロ酢酸類が検出された。また、表 7 に示すように、低濃度であるが井戸水を原水とした銭湯 (1~6 の循環式浴槽施設) の井戸水からいずれも 1,4-ジオキサンが検出された。

微生物学的項目は、施設 2 から *Cladosporium* の真

菌が検出されたのみであり、特に公衆浴場の条例で検査項目となっているレジオネラ属菌および大腸菌群についてはすべての施設において不検出であった。

次に、調査対象浴場施設内での浴室空気中の化学的項目の測定結果は、図 1 に示すように、循環式浴槽施設の浴室空気は、掛け流し浴槽施設に比較すると平均で約 27 倍のトリハロメタン類が検出された。特

表7 井戸水および浴槽水の測定結果

測定項目	測定場所	水温 (°C)	pH	残留塩素 (mg/L)	濁度 (度)	KMnO <sub>4</sub> (mg/L)	微生物					消毒副生成物およびVOCs							
							レジオネラ属菌 (CFU/100mL)	一般細菌 (CFU/ml)	大腸菌 (CFU/ml)	大腸菌群 (CFU/ml)	真菌 (CFU/ml)	総トリハロメタン (mg/L)	ホルムアルデヒド (mg/L)	臭素酸 (mg/L)	シアノおよび塩化シアノ (mg/L)	クロロ酢酸類 (mg/L)	20種類のVOCs*2 (mg/L)	1,4-ジオキサン (mg/L)	
1	井戸水	19.0	7.4	0.0	0.03	※0.4	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	ND*3	ND	ND	ND	ND	0.003	0.0001	
	浴槽水	42.5	8.4	0.1	0.04	2.9	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.021	0.029	0.004	ND	0.074	0.022	0.0001	
2	井戸水	26.2	7.6	0.0	0.69	※0.4	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	ND	ND	ND	ND	ND	0.002	0.0001	
	浴槽水	42.1	8.4	2.0	1.57	1.4	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.029	0.009	0.002	ND	0.013	0.031	0.0001	
3	井戸水	25.0	8.0	0.0	1.00	※0.5	<10/100mL	30/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	ND	ND	ND	ND	ND	0.002	0.0002	
	浴槽水	43.2	8.4	2.0	0.02	12.5	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.243	0.232	0.036	0.002	0.675	0.245	0.0002	
4	井戸水	26.0	7.4	0.0	0.15	※0.4	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.001	ND	ND	ND	ND	0.009	0.0001	
	浴槽水	42.8	7.8	0.2	0.07	11.0	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.066	0.087	0.082	0.002	0.173	0.069	0.0002	
5	井戸水	27.0	7.4	0.0	0.02	※0.4	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.007	ND	ND	ND	ND	0.018	0.0007	
	浴槽水	44.8	8.4	2.0	0.04	3.4	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.037	0.059	0.006	ND	0.093	0.040	0.0005	
6	井戸水	26.0	7.2	0.0	1.42	※0.8	<10/100mL	10/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.007	ND	ND	ND	ND	0.002	0.0035	
	浴槽水	43.2	8.4	0.4	0.03	5.1	<10/100mL	0/1mL	不検出	不検出	<1/1mL	0.024	0.048	0.036	ND	0.101	0.029	0.0023	

\*1) クロロ酢酸, ジクロロ酢酸, トリクロロ酢酸

\*2) 1,1-ジクロロエチレン, ジクロロメタン, ブチルメチルエーテル, trans・cis1,2-ジクロロエチレン, 1,1,1-トリクロロエタン, 四塩化炭素, ベンゼン, 1,2-ジクロロエタン, トリクロロエチレン, 1,2-ジクロロプロパン, trans・cis1,3-ジクロロプロペン, トルエン, 1,1,2-トリクロロエタン, テトラクロロエチレン, o, m, p-キシレン, p-ジクロロベンゼン

\*3) ND: 定量下限値未満

※TOC測定結果

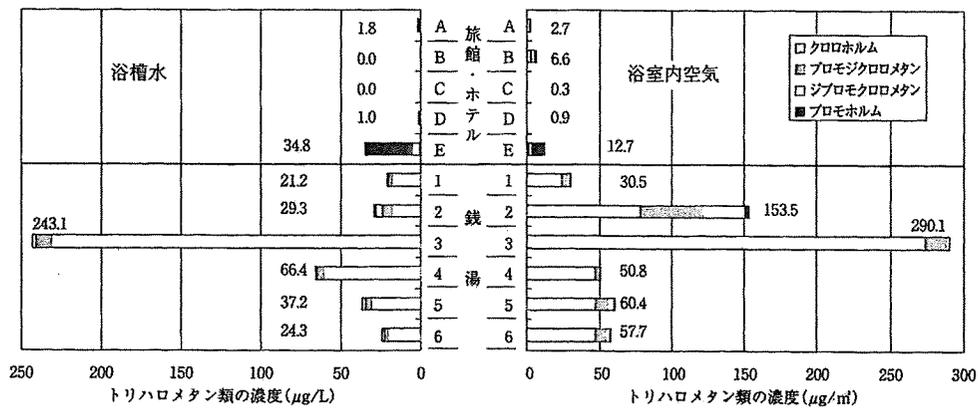


図1 浴室内 (浴槽水および空気) におけるトリハロメタン類の濃度

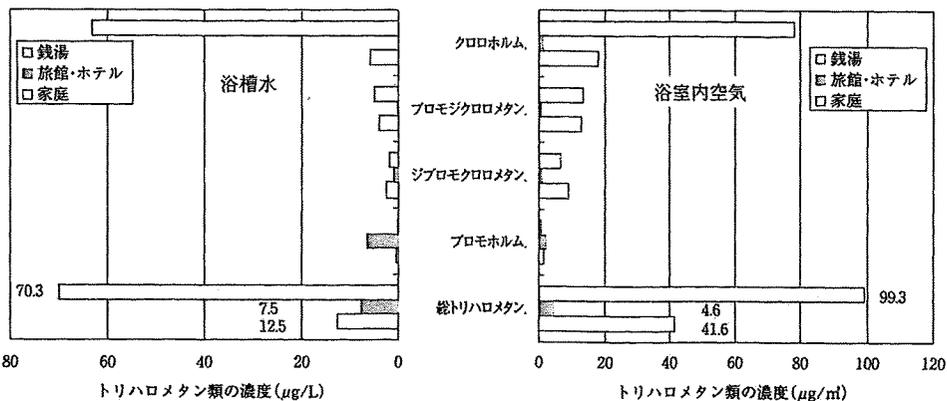


図2 各種浴室 (浴槽水および空気) におけるトリハロメタン類の濃度

に、循環式浴槽施設である施設3から検出されたトリハロメタン類とVOCsを合計すると、室内空気中の化学物質濃度の暫定目標値（総揮発性有機化合物400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）に近似した。それ以外にも掛け流し浴槽施設である施設Eおよび循環式浴槽施設である施設2は、臭素を含むトリハロメタン類の濃度が高かった。いずれの場合においても、各浴槽施設の浴槽水に含まれるトリハロメタン類の種類がほぼ同様な割合で浴室内空気に移行していることが明らかとなった。さらに、3種類の空気質（一般家庭内浴室の空気と公衆浴場施設である掛け流し浴槽施設および循環式浴槽施設の空気）およびそれらの浴槽水のトリハロメタン類濃度を比較した結果を図2に示した。各種浴室内いずれもトリハロメタン類の中でクロロホルム濃度が浴槽水で最も高かったことから、浴室内空気に移行していることがわかり、トリハロメタン類の主成分であることが判明した。また、一般家庭内浴室の空気は、公衆浴場施設（掛け流し浴槽施設および循環式浴槽施設）に比較すると浴槽水中のトリハロメタン類濃度の移行が高いことも明らかとなった。

#### 4. 考察およびまとめ

公衆浴場におけるレジオネラ属菌対策として、塩素消毒を実施する中での環境下における消毒副生成物の曝露評価を行ったところ、掛け流し浴槽施設については、問題はなかった。しかし、循環式浴槽施設は、浴槽水からの消毒副生成物が高濃度検出され、それらの物質がさらに浴室内に気化し、高濃度のトリハロメタン類が検出される結果となった。極めて高濃度に検出された施設3のクロロホルムの曝露評価（30分間浴室内に在室と仮定、1日の呼吸量15 $\text{m}^3$ ）を行うと、 $270\mu\text{g}/\text{m}^3 \times 15\text{m}^3 \times 0.5\text{hr}/24\text{h} = 84\mu\text{g}$ となり、クロロホルムの耐容一日摂取量（TDI）12.9 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ から算出すると、体重50kgの成人（645 $\mu\text{g}/\text{day}$ ）では、浴室内に在室（30分間）したことによりTDIの13%も曝露した結果となった。また、循環式浴槽施設では、すべての浴槽水から低濃度ではあるが1,4-ジオキサンが検出されたことは、シャンプーなどの汚染が明らかとなった。さらに、浴槽水の原水である井戸水からも同様な結果が得られたことから、浴槽水の排水が井戸水を汚染している可能性があることも推測された。特に、残留塩素濃度が高い浴槽水での塩素消毒の使用法および浴室内空気の換気方法などの問題解決には、数多くの事例の実態調査を継続し、これら

室内空気汚染物質の曝露評価（室内空気質のリスクシナリオ）を行うことが今後の課題である。また、浴槽水の原水を井戸水で利用している場合などは、シャンプーなどから起因すると考えられる1,4-ジオキサンが今回検出されたことから化学物質汚染についても考慮する必要性が示唆された。

一方、浴室内トリハロメタン類5項目濃度（ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）と浴槽水トリハロメタン類5項目濃度（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）の比は、日本の一般家庭内浴室での場合において、シャワー入浴の場合に報告<sup>2)</sup>されている値（Nuckols et al., 2005）の3.0前後と同等の値であった。この結果から、浴槽入浴を主とする日本の一般家庭内浴室も欧米のシャワー入浴に匹敵するトリハロメタン類のパターンと同様に曝露されている可能性があることが今回の研究より明らかとなった（表8参照）。

今後は、消毒副生成物が低減可能となる塩素消毒等の使用方法および浴室内空気の換気方法の解決策を見出し、施設維持管理を徹底できるよう取り組んでいきたい。

表8 浴室内THMs濃度と浴槽水THMs濃度の比について

対象施設	トリハロメタン類	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	ブロモホルム	総トリハロメタン
家庭		3.10	3.30	3.90	3.90	3.34
旅館・ホテル		58.00	3.29	0.78	0.34	0.61
銭湯		1.24	2.82	3.66	4.12	1.42

#### 【参考文献】

- 1) 室内空気中化学物質の室内濃度指針値及び標準的測定方法について 平成12年06月30日 生衛発第1093号
- 2) John R. Nuckols, David Ashley, Christopher Lyu, Sydney M. Gordon, Alison F. Hinckley, and Philip Singer : Influence of tap water quality and household water use activities on indoor air and internal dose levels of trihalomethanes. Environmental Health Perspectives. Vol.113 No.7 p.863 ~ p.870 (2005)
- 3) Sydney M. Gordon, Marielle C. Brinkman, David L. Ashley, Benjamin C. Blount, Christopher Lyu, John Masters, and Philip C. Singer : Changes in breath trihalomethane levels resulting from household water-use activities. Environmental Health Perspectives. Vol.114 No.4 p.514 ~ p.521 (2006)

【技術論文】

浴場施設でのレジオネラ属菌と宿主アメーバの関連、  
およびレジオネラ属菌を塩素消毒により  
制御する場合の問題点

村上 光一<sup>1\*</sup>, 長野 英俊<sup>1</sup>, 野田多美枝<sup>1</sup>, 濱崎 光宏<sup>1</sup>,  
堀川 和美<sup>1</sup>, 石黒 靖尚<sup>1</sup>, 乙藤 武志<sup>2</sup>, 迎田 恵之<sup>3</sup>,  
泉山 信司<sup>4</sup>, 八木田健司<sup>4</sup>, 遠藤 卓郎<sup>4</sup>

The Relation between *Legionella* and Free-living Amoeba,  
and the Treatment of Equipment at Bathhouses where *Legionella* is  
Controlled by Chlorination

Koichi MURAKAMI<sup>1\*</sup>, Hidetoshi NAGANO<sup>1</sup>, Tamie NODA<sup>1</sup>, Mitsuhiro HAMASAKI<sup>1</sup>,  
Kazumi HORIKAWA<sup>1</sup>, Yasuhisa ISHIGURO<sup>1</sup>, Takeshi OTOFUJI<sup>2</sup>, Yoshiyuki MUKAEDA<sup>3</sup>,  
Shinji IZUMIYAMA<sup>4</sup>, Kenji YAGITA<sup>4</sup> and Takuro ENDO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Division of Pathology and Bacteriology, Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,  
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

<sup>2</sup>Kasuya Office for Health, Human Services, and Environmental Issues,  
235-7 Tobara, Kasuya, Fukuoka 811-2312, Japan

<sup>3</sup>Division of Public Health, Department of Health and Human Services, Fukuoka Prefectural Government,  
7-7 Higashi-koen, Hakata-ku, Fukuoka, Fukuoka 812-8577, Japan

<sup>4</sup>Department of Parasitology, National Institute of Infectious Diseases,  
Toyama 1-23-1, Shinjyuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan

An epidemiological investigation was conducted among public bathhouses that can be used after payment of an admission fee (including hot springs) in Fukuoka Prefecture, Japan, between 2002 and 2004, to estimate the prevalence and distribution of *Legionella* and free-living amoebae in these facilities. As a result, *Legionella* were isolated from 29 of 100 samples, and free-living amoebae were isolated from 27 of 100 samples from 37 bathhouses. There was a significant relation between the existence of free-living amoebae and *Legionella* ( $p < 0.01$ ). After chlorination, 0.7 mg/l and more and 0.5 mg/l and higher concentrations of free residual chlorine were significantly effective in controlling the proliferation of free-living amoebae and *Legionella*, respectively. However, some equipment, including pressurized filtration systems with biological filtration and the collection tanks for recycled bath-water were highly contaminated with *Legionella* and free-living amoebae, despite of presence of free residual chlorine. In addition, because there was no disinfection process, *Legionella* and free-living amoebae were detected in some baths with medicinal herbs.  
(Accepted 16 July 2008)

**Key words :** Free-living amoebae (自由生活性アメーバ)/Bathhouse (浴場)/*Legionella* (レジオネラ属菌)/Public health (公衆衛生).

<sup>1</sup>福岡県保健環境研究所 〒818-0135 福岡県太宰府市大字向佐野39 ☎092-921-9944

<sup>2</sup>福岡県柏屋保健福祉環境事務所 〒811-2312 福岡県糟屋郡柏屋町戸原235-7 ☎092-939-1744

<sup>3</sup>福岡県保健福祉部生活衛生課 〒812-8577 福岡市博多区東公園7-7 ☎092-643-3279

<sup>4</sup>国立感染症研究所・寄生動物部 〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1 ☎03-5285-1111

## 緒 言

レジオネラ属菌は、浴場を含めた水環境の中で、単独で生息するわけではなく、*Pseudomonas*等を主とするバイオフィーム中<sup>1,2)</sup>で、あるいは自由生活性アメーバの中<sup>3)</sup>で温度等の環境変化から守られ存在することが明らかとなっている。また、レジオネラ属菌の増殖には自由生活性アメーバを主とする原生動物が必要であることも明らかとなっている<sup>4)</sup>。一方、自由生活性アメーバはレジオネラ属菌の宿主、あるいは増殖の場としてのみ、この細菌に関与するのではなく、レジオネラ属菌を包含する自由生活性アメーバを、そのまま人が吸入すると、自由生活性アメーバ内のレジオネラ属菌がヒトに感染するという、レジオネラ症の媒体としての役割を担っている可能性も報告されている<sup>5,6)</sup>。このようにレジオネラ属菌と自由生活性アメーバの関係は、レジオネラ症の予防を考える上で重要であり、危害を分析する面からレジオネラ属菌の生息状況を調査する場合、自由生活性アメーバの生息状況も同時に調査しなければ正確な評価はできない。わが国では、浴場を含めた人工的な水環境におけるレジオネラ属菌分布調査が、さまざまに行われてきた。しかし、そのなかで、自由生活性アメーバをも同時に調査したものは黒木ら<sup>7,8)</sup>あるいは古畑の報告<sup>9)</sup>等に限られ、いまだ十分な調査数および報告数とはいえない。

そこで、自由生活性アメーバの存在とレジオネラ属菌の存在が、実際の施設において、統計的に相関するか否か明らかにする目的で、福岡県内の浴場施設を対象として調査した。

さらに、浴場施設での遊離残留塩素の濃度と、レジオネラ属菌の出現状況の関連を明らかにし、塩素消毒の有用性を確認することも、目的として調査した。

## 調 査 方 法

平成14年7月から16年11月にかけて、福岡県内の温泉および浴場（所謂スーパー銭湯等を含む）37施設を対象として調査した。調査対象施設の選定は福岡県内の公衆浴場が約330施設（調査時

存在することから、その一割を超えて調査し、且つ一定の地域（保健福祉環境事務所の管轄地域）に偏らないように、分散させて選定した。浴槽水等は、滅菌したポリプロピレン製容器（500mlおよび1000ml容量）に採取し、当日中に検査に供した。

レジオネラ属菌の検出は、レジオネラ症防止指針<sup>10)</sup>に従ったが、試料はフィルター処理後、酸処理し、分離培地はWYO- $\alpha$ 寒天培地（栄研化学）を用いた。レジオネラ属菌の確認は、システム要求性試験、グラム染色、およびpolymerase chain reaction法（山内昌弘、田中智之、杉山明、内山昭則、倉文明、前川純子、2002年、レジオネラ検査マニュアル、国立感染症研究所）にて確認し、必要に応じてDNA-DNAハイブリダイゼーション（DDHレジオネラ、極東製薬）を行った。自由生活性アメーバの検出は、黒木らの方法<sup>7,8)</sup>に準拠した。ただし、検体量は100mlとした。なお、試料のうちろ過器内の内容物（ろ過材や被ろ過物等）については、無菌的に滅菌ポリプロピレン容器に採取し、等量の滅菌蒸留水を加え、混和し、これを試料原液とみなして $10^1$ から $10^5$ まで10段階希釈で5段階希釈し、各1mlを大腸菌塗布寒天培地に塗布した。

遊離残留塩素濃度の測定は、調査現場においてDiethyl-*p*-Phenylenediamine法（残留塩素測定器、DPD法、柴田科学）を用いて行った。

## 調 査 結 果

### 1. 調査施設の概要

施設の内訳は、井戸水のみ使用している施設が11施設、井戸水および温泉水を使用している施設が3施設、井戸水、水道水および温泉水を使用している施設が2施設、水道水のみ使用している施設が14施設、使用水の内訳が不明であった施設が7施設であった。施設を循環方式の内容の違いで分類すると、生物ろ過方式による循環が11施設、物理ろ過方式による循環が22施設、生物ろ過と物理ろ過を浴槽によって使い分けている施設が1施設、主として物理ろ過方式を実施してい

るが薬湯に関してのみ循環を行っていない施設が1施設、不明が2施設であった。これらの施設について、試料の遊離残留塩素濃度、試料中の自由生活性アメーバの有無、およびレジオネラ属菌の有無について調査を行った。なお、これらの施設は、消毒を施している場合は、いずれも、塩素消毒を行っており、オゾン等の他の消毒方法を行っている施設はなかった。

試料の採取時期は Table 1 に示すとおりである。内訳は、Table 2 に示すとおり、通常の浴槽水が42、ジェットバスおよび超音波発生装置付浴槽の水が19、露天風呂浴槽水が7、薬湯が10、温泉タンク水および井戸水タンクが3、施設排水が1、ヘアキャッチャー内容物が7、ろ過器内容物が5、回収槽が5、および、逆洗水が1の合計100試料であった。

## 2. レジオネラ属菌および自由生活性アメーバの検出状況

調査した37施設100試料中の13施設 (35.1%)、27試料 (27.0%) から自由生活性アメーバを検出

Table 1. Change in the detection rate of amoebae or *Legionella*-positive samples

Sampling period	No. of samples tested	Amoebae positive samples (%)	<i>Legionella</i> -positive samples (%)
2002	56	18 (32.1)	20 (35.7)
2003	27	6 (22.2)	6 (22.2)
2004	17	3 (17.6)	3 (17.6)
Total	100	27 (27.0)	29 (29.0)

し、21施設 (56.8%)、29試料 (29.0%) からレジオネラ属菌を検出した。調査年による試料のレジオネラ属菌および自由生活性アメーバの検出率は Table 1 に示すとおり、経年的に両微生物の検出率は減少する傾向が認められた。自由生活性アメーバが検出された試料と、自由生活性アメーバが検出されなかった試料においてレジオネラ属菌の検出率に差があるか否か統計的に検討した結果、自由生活性アメーバが検出された試料は、検出されなかった試料よりもレジオネラ属菌の検出率が有意に高いことが明らかとなった (1%危険率,  $\chi^2$ 検定, イエーツの補正) (Fig. 1)。

試料の種類によるレジオネラ属菌と自由生活性アメーバの検出結果を Table 2 に示す。通常の浴槽の23.8%からレジオネラ属菌が、19.0%から自由生活性アメーバが検出された。また、薬湯 (50%) および回収槽 (60%) でレジオネラ属菌あるいは自由生活性アメーバが比較的高率に検出されたが、露天風呂 (0%) では、比較的低い検出率であった。

試料中の遊離残留塩素濃度を測定し、かつ自由生活性アメーバの検出を試みた80検体について、遊離残留塩素濃度と自由生活性アメーバ検出率の関連を検討した結果を Table 3 に示す。遊離残留塩素濃度0.6mg/l以下の試料と0.7mg/l以上の試料で自由生活性アメーバ検出率に統計的な差が認められた ( $\chi^2$ 検定, 危険率5%)。また、レジオネラ属菌の検出と遊離残留塩素濃度の関係について Fig. 2 に示す。遊離残留塩素が0.5mg/l

Table 2. Incidences of amoebae and *Legionella* in samples

Source	No. of samples tested	No. of samples amoebae - positive (%)	No. of samples <i>Legionella</i> - positive (%)
General bathtub	42	8 (19.0)	10 (23.8)
Bathtub with jet bath or bath with ultrasonic wave generation	19	5 (26.3)	7 (36.8)
Outdoor bath	7	2 (28.6)	0 (0.0)
Bath with medicinal herbs	10	5 (50.0)	5 (50.0)
Tanks of hot-spring-water or well water	3	1 (33.3)	0 (0.0)
Drain of facility	1	0 (0.0)	0 (0.0)
Hair catcher	7	1 (14.3)	2 (28.6)
Filtration machine content	5	2 (40.0)	2 (40.0)
Collection tanks for recycled bath-water	5	3 (60.0)	3 (60.0)
Water that washed the filter of the filtration machine	1	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	100	27 (27.0)	29 (29.0)

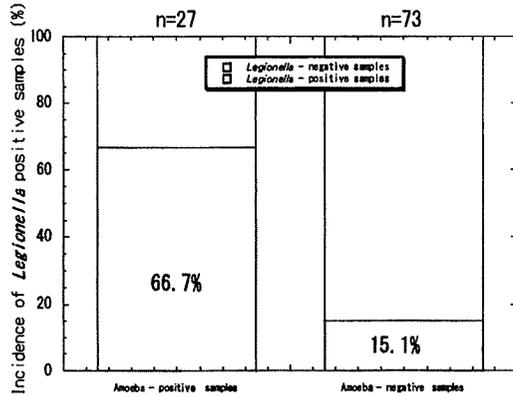


Fig.1. Findings of amoeba and *Legionella* in 100 bathtub water and other samples from bathhouses. There is a significant positive intrasample correlation between the presence of the amoeba and that of *Legionella*, when using Yates' chi-square test ( $p < 0.01$ ).

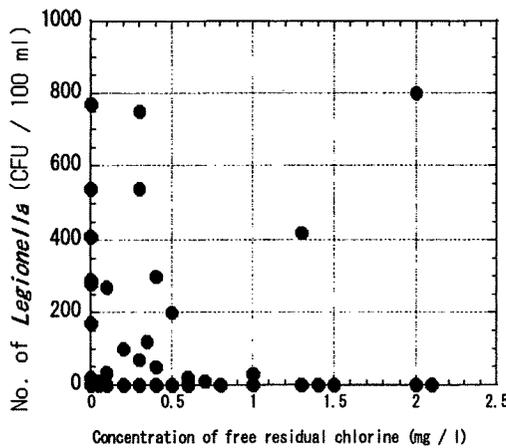


Fig.2. Relation between the presence of *Legionella* and concentration of free residual chlorine in 80 samples. The number of the bacteria significantly decreases at 0.5mg/l or more of free residual chlorine when using Yates' chi-square test ( $p < 0.05$ ).

1以上の濃度で、明らかにレジオネラ属菌の検出率が低下した ( $\chi^2$  検定, 危険率5%)。遊離残留塩素が2.0mg/lあるいは1.3mg/lと比較的高濃度残留するにもかかわらず、レジオネラ属菌がそれぞれ800CFU/100mlあるいは420CFU/100ml分離された試料があった (Fig. 2)。前者は気泡発生装置付きの浴槽水であり、後者は浴場施設の強化プラスチック製の貯湯槽 (水温41°C)であった。

Table 3. Relation between the incidence of amoebae and concentration of free residual chlorine in samples

Concentration of free residual chlorine	No. of samples tested	Incidence of amoebae-positive samples (%)
<0.05	15	33.3
0.05	2	50.0
0.1	3	0.0
0.2	3	33.3
0.3	5	60.0
0.4	8	37.5
0.5	5	0.0
0.6	4	50.0
0.7	1	0.0
0.8	2	0.0
1.0	7	28.6
1.3	2	50.0
1.4	1	0.0
1.5	5	0.0
2.0	2	0.0
2.0<	15	6.7
Total	80	23.8

### 3. 個別事例の検討結果

次に、本研究により、自由生活性アメーバおよびレジオネラ属菌の汚染が発見された施設のうち、塩素消毒を中心とする管理の上で参考となる施設について詳述する。

施設 A は (Fig. 3), ろ過器および回収槽がレジオネラ属菌および自由生活性アメーバの汚染源であり、そのため浴槽からレジオネラ属菌が検出されたと考えられる施設である。この施設は、循環式の浴場で、源泉 (32°C) および井戸水を使用していた。浴場の浴槽水あるいはオーバーフロー水は、回収槽へと回収される。回収槽内の塩素濃度は自動注入機で調整されていた。回収槽の温湯はろ過後、加温され浴槽へと循環する。この浴場施設では、過去の調査も含めて浴槽水の遊離残留塩素濃度は、0.6から1.0mg/lの範囲で維持されていた。しかし、検査で浴槽からレジオネラ属菌が検出された。Fig. 3は、その後、行った原因究明のための検査時の結果を示すもので、この時点では浴槽からレジオネラ属菌は検出されていない。回収槽は年3回程度清掃が実施され、浴場の換水は週1回行っていた。

この浴場で、ろ過材は、生物ろ過と物理ろ過を同時に行うとされる特殊なろ過材が使用されていたが、ろ過器内の内容物から比較的多数の自由生活性アメーバが検出された。また、回収槽では0.4mg/lの遊離残留塩素が検出されたにもかかわらず

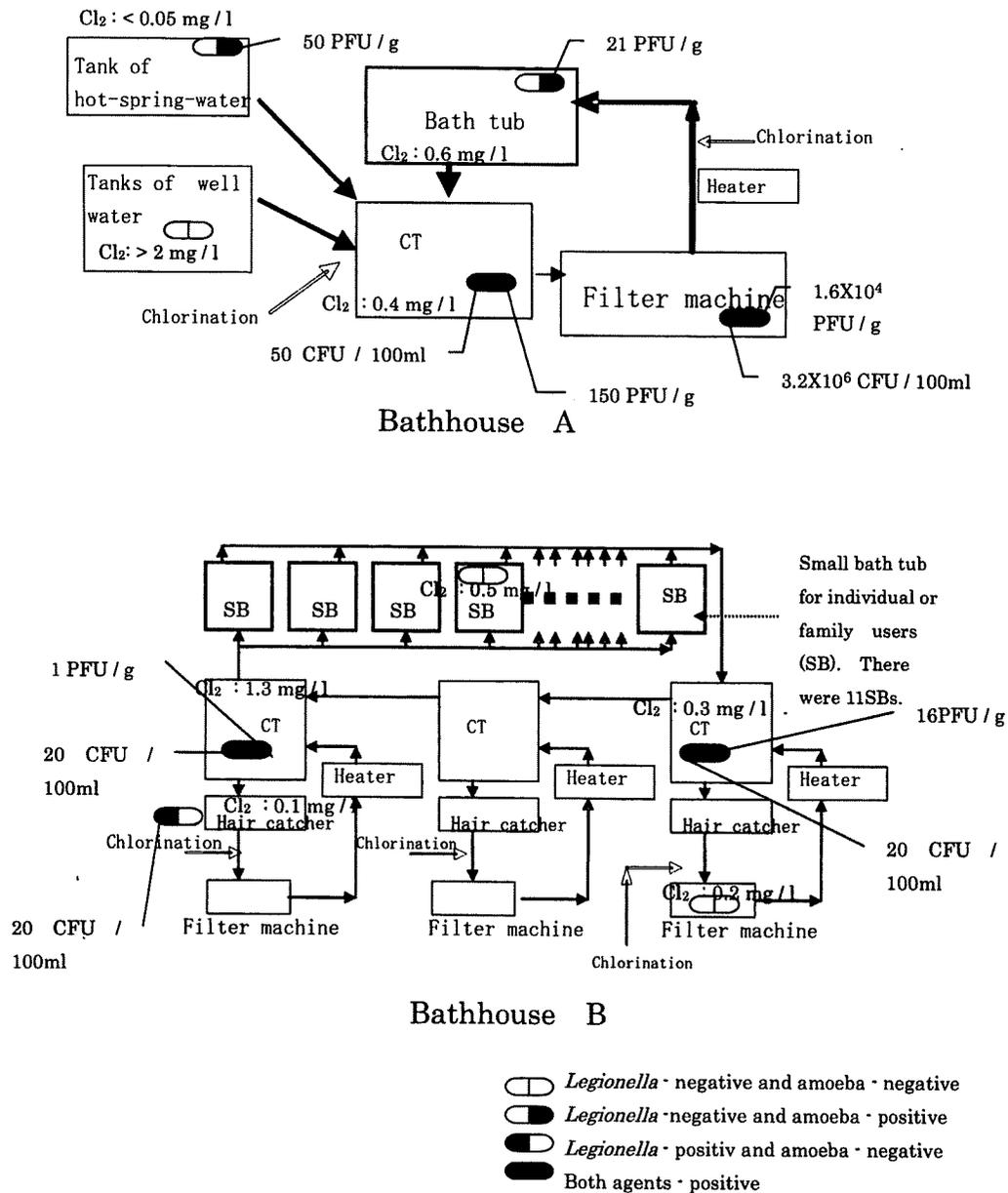


Fig.3. Rough sketches of two bathhouses with collection tanks for recycled bath tub water (CT), labeled Bathhouse A and B. Bathhouse A had 11 small bath tubs for individual or family use whereas bathhouse B had a large bath tub. In bath tubs in both facilities, free residual chlorine was detected.

ならず、レジオネラ属菌が検出されている。

施設 B (Fig. 3) は、多数の家族風呂 (浴槽) を有し、井戸水のみを使用し、物理 (砂) ろ過を用いていた。ろ過器のメンテナンスは未実施 (開業後間もないため)、逆洗は毎朝、営業時間は朝

10時から翌朝 3 時まで、循環は 24 時間、塩素注入は、自動で実施されていた。検査時、遊離残留塩素濃度は試料中 0.1~1.3mg/l であった。オーバーフロー水は再使用していた (ただし洗い場の湯は再使用されない)。個室となった家族風呂が

11あり、回収槽が複数存在し、大変複雑な循環系で、ろ過器を通らずに循環している温湯が多く含まれると考えられた。浴槽水は、いったん浴槽にためられた後、利用者が使用後、全て回収槽に回収され、その後、別の利用者が利用する際に、再び回収槽から浴槽に温湯が蓄えられる。そのため、回収槽におけるレジオネラ属菌汚染は、浴槽の汚染に直結する可能性が高い施設であった。この施設において、浴槽水からは自由生活性アメーバ、レジオネラ属菌は検出されなかったが、遊離残留塩素濃度が0.6あるいは1.3mg/l存在する回収槽の温湯からレジオネラ属菌あるいは自由生活性アメーバが検出された。

## 考 察

今回、レジオネラ属菌と自由生活性アメーバの関連について検討し、浴場施設における両者の存在が統計的に関連することを証明し、塩素消毒の自由生活性アメーバおよびレジオネラ属菌の除去における効果、あるいはその留意点について検討した。

Exnerら<sup>11)</sup>は人工水環境におけるレジオネラ属菌増殖の要因として、25℃～42℃の水温、水の滞留、スケール、堆積物、そして、ある種の自由生活性アメーバの存在をあげている。このうち、自由生活性アメーバに関しては多くの報告がなされ、レジオネラ属菌にとって、少なくとも増殖において自由生活性アメーバを主とする原生動物の存在が不可欠であることは、多くの室内実験で証明されている<sup>5)</sup>。

しかし、実際の浴場施設において自由生活性アメーバの存在と、レジオネラ属菌の存在を、試料の分析結果を用いて、統計的に証明したものは少ない。古畑<sup>9)</sup>は、循環式浴槽水43試料を検査し、自由生活性アメーバとレジオネラ属菌の「共生の事実」を明らかにしたが、統計的検討については詳述していない。今回、我々が試料からの検出頻度をもとに、レジオネラ属菌の存在と自由生活性アメーバの存在が関連することを示したことは、この意味からも意義深いと考えられる。このことは、従来報告された、実験室内での自由生活性ア

メーバとレジオネラ属菌の関係（レジオネラ属菌が自由生活性アメーバの中で増殖する）を、実際の現場のデータを通して、補完するものであり、室内実験の成果を現場に応用する際の根拠となるものである。

一般に人工水環境の自由生活性アメーバあるいはレジオネラ属菌を対象とする消毒法としては、加熱、紫外線、オゾン、銅・銀イオン等が検討されている<sup>11)</sup>。そのうち、60℃以上の加熱が最も効果が高いことは、既に明らかにされているが<sup>11,12)</sup>、費用等の面から、現場で応用することには制限がある。そのため、現場で実際に使用される消毒法は、塩素消毒が多くを占めている。今回の検討では、0.5mg/l以上の濃度の遊離残留塩素の存在下で、レジオネラ属菌の汚染率が有意に低いことが明らかとなり、この結果は、従来の室内実験（塩素消毒が有効であること）を補完するものである。

一方、自由生活性アメーバについては、今回の検討の結果、0.7mg/l以上の濃度の遊離残留塩素の存在下にて、自由生活性アメーバの汚染率が低くなることが判明した。遊離残留塩素は、自由生活性アメーバへの殺菌効果は、あまり高くはないことが報告されているが<sup>4,13)</sup>、遊離塩素濃度が維持されることにより、自由生活性アメーバの餌となる細菌が減少し、結果的に、自由生活性アメーバが抑制される効果が期待できる。また、一部の自由生活性アメーバでは、塩素消毒が直接自由生活性アメーバに効果があるとの室内実験の報告もある<sup>2)</sup>。遠藤ら<sup>14)</sup>は自由生活性アメーバに関しては0.2mg/lの濃度で効果があると報告しており、今回の検討では必要とする遊離残留塩素の濃度が、この報告よりも高かった。しかし、遊離残留塩素濃度を維持することが自由生活性アメーバ対策に有効であることが同様に浴場で確認された意義は大きい。

一方、遊離残留塩素濃度が十分あるにもかかわらず、レジオネラ属菌が検出される試料があった。塩素消毒が十分に行われにくい生物ろ過器、あるいは回収槽の存廃を含めた議論、あるいは塩素消毒以外の対策の必要性を示すものである。とくに回収槽に関しては、水資源の使用量を削減できる

ものの、レジオネラ属菌汚染の温床になりやすく、廃止すべきであると考えられる。

浴槽の種類に着目した場合、薬湯では50%の試料からレジオネラ属菌および自由生活性アメーバが検出されているが、これは多くの施設で、薬湯の退色防止のために塩素消毒を実施しないことなどによると考えられる。有効な消毒法を導入しない限り、薬湯の使用は十分考慮すべきと考えられる。

## 結 論

福岡県内の浴場施設において、平成14年から16年にかけて調査した37施設、100試料のなかで13施設(35.1%)、27試料(27.0%)から自由生活性アメーバを検出し、21施設(56.8%)、29試料(29.0%)からレジオネラ属菌を検出した。浴場施設での自由生活性アメーバの生息とレジオネラ属菌の生息とは、統計的に関連が認められること、さらに塩素消毒が自由生活性アメーバ(0.7mg/l以上)ひいてはレジオネラ属菌(0.5mg/l以上)の汚染軽減に有効であることが明らかとなった。しかし、塩素消毒を行っていても浴場施設の管理上、回収槽あるいは生物ろ過器の管理は困難さが伴うこと、薬湯では退色防止のため塩素消毒を実施していない施設も多く、それらの設備・機器の存廃を含めた議論あるいは特別な管理が必要なことなどがあわせて明確になった。

今回の検討から、浴場施設のレジオネラ属菌および自由生活性アメーバ汚染の軽減は、施設の配管系内の遊離残留塩素濃度を一定以上に維持すること、および塩素消毒の効率を上げるためにバイオフィームを形成させない構造への変更、あるいはバイオフィームを物理的に除去するための配管等の洗浄により可能であると考えられた。

## 謝 辞

本研究を遂行するに当たり、様々に御配慮を賜りました福岡県保健環境研究所 吉村健清所長に深謝いたします。また、論文作成に際し、ご助言賜りました竹中重幸博士に深謝します。さらに、試料の採取に関して、ご協力いただきました皆様

方に御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Storey, M. V., Ashbolt, N. J., and Stenström, T. A., (2004) Biofilms, thermophilic amoebae and *Legionella pneumophila* - a quantitative risk assessment for distributed water. *Water. Sci. Technol.*, 50, 77-82.
- 2) Donlan, R. M., Forster, T., Murga, R., Brown, E., Lucas, C., Carpenter, J., and Fields, B. (2005) *Legionella pneumophila* associated with the protozoan *Hartmannella vermiformis* in a model multi-species biofilm has reduced susceptibility to disinfectants. *Biofouling*, 21, 1-7.
- 3) Guerrieri, E., Bondi, M., Ciancio, C., Borella, P., and Messi, P. (2005) Micro- and macromethod assays for the ecological study of *Legionella pneumophila*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 252, 113-119.
- 4) Greub, G., and Raoult, D. (2004) Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin. Microbiol. Rev.*, 17, 413-433.
- 5) Abu Kwaik, Y., Venkataraman, C., Harb, O. S., and Gao, L. Y. (1998) Signal transduction in the protozoan host *Hartmannella vermiformis* upon attachment and invasion by *Legionella micdadei*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 3134-3139.
- 6) Rowbotham, T. J. (1980) Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *J. Clin. Pathol.*, 33, 1179-1183.
- 7) 黒木俊郎, 八木田健司, 藪内英子, 縣 邦雄, 石間智生, 勝部泰次, 他 (1998) 神奈川県下の温泉浴槽水中における *Legionella* 属菌と自由生活性アメーバ調査. *感染症誌*, 72, 1050-1055.
- 8) 黒木俊郎, 佐多 辰, 山井志朗, 八木田健司, 勝部泰次, 遠藤卓郎 (1998) 循環式浴槽における自由生活性アメーバと *Legionella* 属菌の生息状況. *感染症誌*, 72, 1056-1063.
- 9) 古畑勝則 (2005) レジオネラ感染症防止対策に関する研究. *防菌防黴*, 33, 397-406.
- 10) 厚生省生活衛生局企画課監修 (2002) 新版レジオネラ症防止指針, pp.85-94, 財団法人ビル管理教育センター.

- 11) Exner, M., Kramer, A., Lajoie, L., Gebel, J., Engelhart, S., and Hartemann, P. (2005) Prevention and control of health care-associated waterborne infections in health care facilities. *Am. J. Infect. Control.*, **33**, S 26-40.
- 12) Kuchata, J. M., Navratil, J. S., Shepherd, M. E., Wadowsky, R. M., Dowling, J. N., States, S. J., and Yee, R. B. (1993) Impact of chlorine and heat on the survival of *Hartmannella vermiformis* and subsequent growth of *Legionella pneumophila*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 4096-4100.
- 13) De Jonckheere, J., and van de Voorde, H. (1976) Differences in destruction of cysts of pathogenic and nonpathogenic *Naegleria* and *Acanthamoeba* by chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.*, **31**, 294-297.
- 14) 遠藤卓郎 (2004) 平成13~15年度 厚生労働科学研究費補助金 がん予防等健康科学総合研究事業 温泉・公衆浴場, その他の温水環境におけるアメーバ性髄膜脳炎の病原体 *Naegleria fowleri* の疫学と病原性発現に関する研究.

## 掛け流し式温泉におけるレジオネラ属菌汚染とリスク因子

<sup>1)</sup> 愛媛県立衛生環境研究所, <sup>2)</sup> 神奈川県衛生研究所, <sup>3)</sup> 山形県衛生研究所, <sup>4)</sup> 山形県村山保健所 (元),  
<sup>5)</sup> 宮城県保健環境研究所, <sup>6)</sup> 秋田県衛生科学研究所, <sup>7)</sup> 群馬県衛生環境研究所, <sup>8)</sup> 静岡県環境衛生科学研究所,  
<sup>9)</sup> 岡山県環境保健センター, <sup>10)</sup> 福岡県保健環境研究所, <sup>11)</sup> 長崎県環境保健研究センター,  
<sup>12)</sup> 鹿児島県環境保健センター (現 鹿児島県伊集院保健所), <sup>13)</sup> 国立感染症研究所細菌第一部,  
<sup>14)</sup> 同 寄生動物部, <sup>15)</sup> 同 バイオセーフティ管理室, <sup>16)</sup> アクアス(株)つくば総合研究所

烏谷 竜哉<sup>1)</sup> 黒木 俊郎<sup>2)</sup> 大谷 勝実<sup>3)</sup> 山口 誠一<sup>4)</sup>  
 佐々木美江<sup>5)</sup> 齊藤志保子<sup>6)</sup> 藤田 雅弘<sup>7)</sup> 杉山 寛治<sup>8)</sup>  
 中嶋 洋<sup>9)</sup> 村上 光一<sup>10)</sup> 田栗 利紹<sup>11)</sup> 藏元 強<sup>12)</sup>  
 倉 文明<sup>13)</sup> 八木田健司<sup>14)</sup> 泉山 信司<sup>14)</sup> 前川 純子<sup>13)</sup>  
 山崎 利雄<sup>15)</sup> 縣 邦雄<sup>16)</sup> 井上 博雄<sup>1)</sup>

(平成 20 年 9 月 11 日受付)

(平成 20 年 11 月 5 日受理)

Key words: *Legionella*, epidemiology

### 要 旨

2005 年 6 月～2006 年 12 月の期間, 全国の循環系を持たない掛け流し式温泉 182 施設を対象に, レジオネラ属菌等の病原微生物汚染調査を行い, 29.5% (119/403) の試料からレジオネラ属菌を検出した. 採取地点別の検出率は浴槽が 39.4% と最も高く, 貯湯槽 23.8%, 湯口 22.3%, 源泉 8.3% と続いた. 陽性試料の平均菌数 (幾何平均値) は 66CFU/100mL で, 採取地点による有意差は認められなかったが, 菌数の最高値は源泉, 貯湯槽, 湯口でそれぞれ 180, 670, 4,000CFU/100mL と増加し, 浴槽では 6,800CFU/100mL に達した. 陽性試料の 84.7% から *Legionella pneumophila* が分離され, 血清群 (SG) 別では SG 1, 5, 6 がそれぞれ 22, 21, 22% と同程度の検出率であった. レジオネラ属菌の汚染に関与する構造設備及び保守管理の特徴を明らかにするため, 浴槽と湯口上流側とに分けて, 多重ロジスティック回帰分析を行った. 浴槽での汚染リスクは, 湯口水がレジオネラに汚染されている場合 (OR=6.98, 95%CI=2.14～22.8) 及び浴槽容量が 5m<sup>3</sup> 以上の場合 (OR=2.74, 95%CI=1.28～5.89) に高く, pH 6.0 未満 (OR=0.12, 95%CI=0.02～0.63) では低下した. 同様に, 湯口上流では pH 6.0 未満 (OR=0.06, 95%CI=0.01～0.48) 及び 55℃ 以上 (OR=0.10, 95%CI=0.01～0.77) でレジオネラ汚染を抑制した. レジオネラ属菌以外の病原微生物として抗酸菌, 大腸菌, 緑膿菌及び黄色ブドウ球菌を検査し, 汚染の実態を明らかにした.

[感染症誌 83 : 36～44, 2009]

### 序 文

わが国では, 温泉は古くから休養・保養・療養の場として利用され, 独自の温泉文化が育まれてきた. 近年, 温泉の掘削技術の進歩に伴い温泉を利用した入浴施設が急増したが, その多くは浴槽水をろ過して再利用する「循環式浴槽」を採用し, 衛生管理が不十分な施設でレジオネラ症の集団感染事故を招く結果となっ

た<sup>1)～3)</sup>.

レジオネラ属菌は, 水中の有機物を利用して接水面に形成されるバイオフィーム (生物膜) 内で, アメーバ等の原生動物に寄生して増殖する<sup>4)</sup>. 循環式浴槽において, 入浴者由来の有機物を豊富に含んだ温水が常時流れるろ過器や循環配管内壁は, レジオネラ属菌の増殖に好適な条件が整っており<sup>5)</sup>, 汚染防止のためには次亜塩素酸ナトリウム等の消毒剤を適正濃度で維持することが必須となる<sup>6)</sup>. 一方, 循環系を持たない「掛け流し式温泉」では, 入浴者が持ち込む有機物が浴槽に限られるため, 源泉から湯口までの配管系にかかる

別刷請求先: (〒790-0003) 愛媛県松山市三番町 8 丁目 234 番地  
 愛媛県立衛生環境研究所衛生研究課微生物試験室細菌科 烏谷 竜哉