

表 4 各浴場施設の基本情報

施設	営業形態	浴槽の 体積(m ³)	使用水	消毒薬の種類	循環ろ過機 の種類	ろ過能力 (h/回)	換水日	換水後か ら測定時 までの利 用者数	当日測定 時までの 利用者数	水温 (°C)	pH	遊離残留 塩素 (mg/L)
1	福祉センター	3.8	上水	次亜塩素酸ナトリウム	珪藻土	0.3	当日	45	45	41.5	7.5	0.1
2	福祉センター	3.5	上水	次亜塩素酸ナトリウム	砂ろ過	0.2	前日	50	30	41.0	8.4	0.1
3	福祉センター	5.1	上水	次亜塩素酸ナトリウム	オゾン活性セラミック式	0.6	2日前	197	90	41.0	7.4	1.0
4	福祉センター	4.7	上水	次亜塩素酸ナトリウム	砂ろ過	0.5	当日	50	50	41.5	8.2	0.2
5	福祉センター	48	上水	次亜塩素酸ナトリウム	砂ろ過	2.7	2日前	80	40	39.5	7.6	0.5
6	福祉センター	4	上水	次亜塩素酸カルシウム	砂ろ過(アンスラサイト)	0.4	2日前	100	50	40.0	8.1	0.5
7	スーパー銭湯	21.9	井水	次亜塩素酸ナトリウム	砂ろ過	0.4	4日前	2,480	80	41.5	8.4	0.1
8	スーパー銭湯	25	井水	次亜塩素酸ナトリウム	砂ろ過	0.5	当日	70	70	39.0	8.2	1.8
9	スポーツクラブ	2.5	上水	ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム	砂ろ過	0.3	6日前	1,654	110	40.0	7.6	0.2
10	スーパー銭湯	7.1	井水	次亜塩素酸ナトリウム	砂ろ過	0.5	前日	98	48	39.0	7.8	3.2

表 5 浴槽水中の消毒副生成物

項目	定量下限値	単位	公衆浴場1	公衆浴場2	公衆浴場3	公衆浴場4	公衆浴場5	公衆浴場6	公衆浴場7	公衆浴場8	公衆浴場9	公衆浴場10	
総トリハロメタン	クロロホルム	0.001	mg/L	0.009	<0.001	0.022	0.004	0.018	0.008	0.005	0.004	0.031	0.015
	ジブロモクロメタン	0.001	mg/L	0.007	<0.001	0.002	0.001	0.011	0.003	<0.001	<0.001	0.005	<0.001
	ブロモジクロメタン	0.001	mg/L	0.010	<0.001	0.004	0.002	0.013	0.004	<0.001	<0.001	0.009	0.001
	ブロモホルム	0.001	mg/L	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.005	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	合計	0.001	mg/L	0.027	<0.001	0.028	0.007	0.047	0.016	0.005	0.004	0.045	0.016
NDMA	0.01	μg/L	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
ハロアセトニトリル類	クロアセトニトリル	0.001	mg/L	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	ジクロアセトニトリル	0.001	mg/L	0.003	<0.001	0.009	0.004	0.009	0.006	0.001	0.002	0.007	0.004
	トリクロアセトニトリル	0.001	mg/L	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	ブロモクロアセトニトリル	0.001	mg/L	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001
	ジブロモアセトニトリル	0.001	mg/L	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	クロピクリン	0.001	mg/L	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	抱水クロラール	0.001	mg/L	0.019	0.004	0.11	0.065	0.043	0.045	0.041	0.047	0.069	0.041
	ブロモアセトニトリル	0.001	mg/L	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	トリブロモアセトニトリル	0.001	mg/L	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	ブロモジクロアセトニトリル	0.001	mg/L	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
ジブロモクロアセトニトリル	0.001	mg/L	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

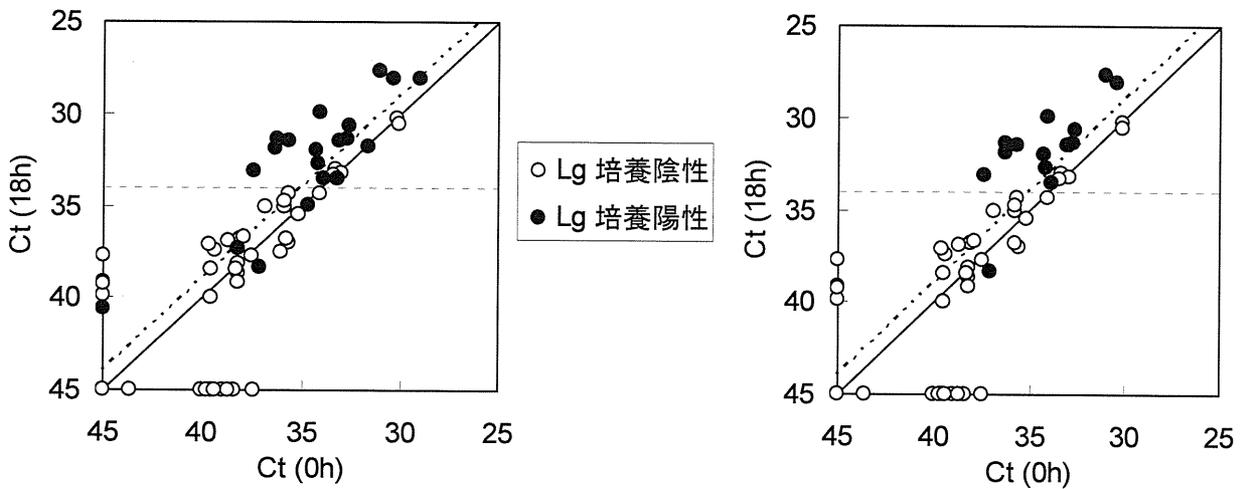


図3 液体培養前後の Ct 値の推移 (Ct (0h) と Ct (18h) の比較)

表6 Ct (18h) < 34 かつ $\Delta Ct \geq 1.0$ を指標とした感度、特異度

(1) 全検体、n=68

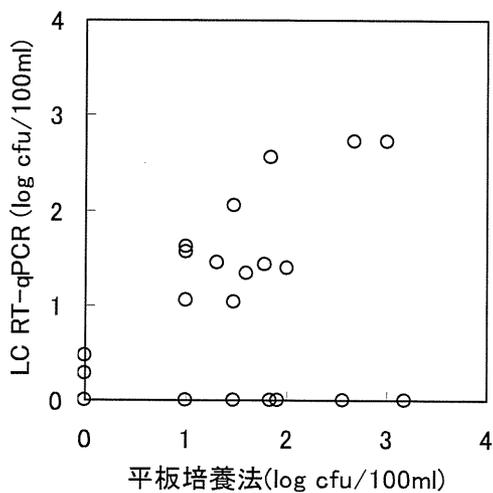
	培養法	培養法		計
		陽性	陰性	
LC RT-qPCR	陽性	12	0	12
	陰性	8	48	56
計		20	48	68

感度: 60.0% 特異度: 100.0% $p < 0.0001$

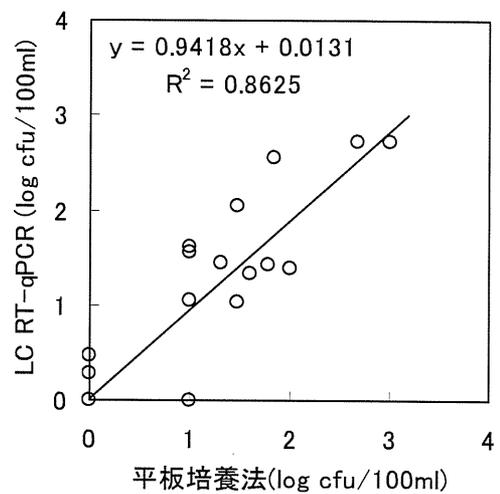
(2) 逆洗水除く、n=61

	培養法	培養法		計
		陽性	陰性	
LC RT-qPCR	陽性	12	0	12
	陰性	2	47	49
計		14	47	61

感度: 85.7% 特異度: 100.0% $p < 0.0001$



(1) 全試料 (n=68)



(2) 逆洗水を除く (n=61)

図4 LC RT-qPCR 法の定量値と平板培養法の定量値との比較

表7 液体培地を利用したレジオネラ属菌保存試験による測定集落数

(集落)

使用培地		BCYE α				MWY			
希釈段階		$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$	$\times 10^3$	$\times 10^4$	$\times 10^5$	$\times 10^6$
0日目	未	+++	++	331	44	+++	++	322	32
	熱	+++	++	335	34	+++	++	340	38
	酸	+++	++	351	43	+++	++	362	35
1日目	未	+++	++	385	32	+++	++	386	35
	熱	+++	++	304	31	+++	++	317	34
	酸	+++	++	370	38	+++	++	349	38
2日目	未	+++	++	376	37	+++	++	327	39
	熱	+++	++	326	30	+++	++	315	32
	酸	+++	++	372	40	+++	++	355	37
3日目	未	+++	++	341	37	+++	++	353	36
	熱	+++	++	332	32	+++	++	324	30
	酸	+++	++	362	41	+++	++	379	35
4日目	未	+++	++	332	37	+++	++	330	33
	熱	++	+	57	4	++	+	44	4
	酸	+++	++	355	32	+++	++	371	38
7日目	未	++	+	158	18	++	+	150	13
	熱	+	58	1	0	+	47	2	0
	酸	++	+	147	14	++	+	159	16

表9 冷却塔水由来 *L. pneumophila* 血清群1分離株の遺伝子型別

NIIB番号	試料種類	都道府県	採水日	レジオネラ属菌数(CFU/100ml)	ST	<i>flaA</i>	<i>pilE</i>	<i>asd</i>	<i>mip</i>	<i>mompS</i>	<i>proA</i>	<i>neuA</i>	ST備考
NIIB2695	冷却水	茨城県	2010/9/21	5800	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2707	冷却水	栃木県	2010/10/29	1400	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2708	冷却水	群馬県	2010/10/28	560	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2703	冷却水	東京都	2010/10/27	170	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2700	冷却水	神奈川県	2010/10/21	390	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2706	冷却水	山梨県	2010/10/28	30	974	1	4	3	10	1	1	11	a)
NIIB2705	冷却水	静岡県	2010/10/26	7000	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2702	冷却水	三重県	2010/10/21	1400	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2694	冷却水	滋賀県	2010/9/17	600	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2704	冷却水	兵庫県	2010/10/19	470	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2696	冷却水	奈良県	2010/9/22	11000	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2701	冷却水	鳥取県	2010/10/20	10	609	3	13	1	1	14	9	1	b)
NIIB2697	冷却水	岡山県	2010/10/5	5600	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2698	冷却水	長崎県	2010/10/9	3100	1	1	4	3	1	1	1	1	
NIIB2699	冷却水	大分県	2010/10/12	300	1	1	4	3	1	1	1	1	

a) 新規遺伝子型

b) 国内臨床4株(感染源不明3例、温泉と推定1例)、国外臨床1株

表 8 浴槽水由来 *L. pneumophila* 血清群1分離株の遺伝子型別

NIIB番号	菌株番号	採水日	泉質	cfu	検水のpH	遊離残留塩素濃度(mg/L)	地区	備考	ST	flaA	pilE	asd	mip	mompS	proA	neuA	コメント
NIIB2657	94	2002/9/20	温泉	400	7.6	0	本土地区		260	12	8	11	23	29	26	2	浴槽水1、国外臨床
NIIB2658	95	2002/9/17	水道水	360	7.4	0	本土地区		977	23	10	3	28	8	4	9	新規遺伝子型
NIIB2659	97	2002/9/17	温泉	3,750	8.4	0	本土地区		980	6	10	17	28	9	14	3	新規遺伝子型
NIIB2660	107	2002/9/19	地下水	4,700	7.4	0.4	離島地区		申請中	新規	6	17	3	13	11	11	新規遺伝子型
NIIB2661	114	2002/9/18	水道水	30	8.0	0	離島地区		48	5	2	22	27	6	10	12	土壌最多、冷却塔水1、ヨーロッパでは臨床有り
NIIB2662	119	2002/9/17	水道水	640	8.2	0	離島地区		1	1	4	3	1	1	1	1	国内外臨床、環境多、日本では特に冷却塔水
NIIB2663	128	2002/9/17	水道水	30	8.0	0	離島地区		129	6	6	15	28	4	14	11	温泉2、土壌2、臨床1、国内
NIIB2664	140	2003/10	Na炭酸水素塩泉	100	8.6	0	本土地区	温泉スタンドから運搬	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外臨床、環境多、日本では特に冷却塔水
NIIB2666	144	2003/10	Na塩化物炭酸水素塩泉	150	8.4	0.3	本土地区	原水にNH4-N含まれる	980	6	10	17	28	9	14	3	新規遺伝子型
NIIB2667	145	2003/10	Na/Mg-炭酸水素塩温泉	30	7.2	0	本土地区		138	10	12	7	3	16	18	6	国内臨床11、浴槽水1
NIIB2668	147	2003/10	Na/塩化物泉	20	6.4	0.5	本土地区		976	7	6	17	10	13	11	11	新規遺伝子型
NIIB2669	154	2003/10	Na塩化物炭酸水素塩泉	150			本土地区	144と同一施設	980	6	10	17	28	9	14	3	新規遺伝子型
NIIB2670	156	2003/10	水道水(入浴剤入り)	2,430	7.6	0	離島地区		739	12	8	11	2	10	12	2	土壌1、臨床1、国内
NIIB2671	163	2003/11	Na・Ca塩化物泉	150	7.1	<0.05	離島地区		48	5	2	22	27	6	10	12	土壌最多、冷却塔水1、ヨーロッパでは臨床有り
NIIB2672	165	2003/11	Na・Ca塩化物泉	150			離島地区	163と同一施設	48	5	2	22	27	6	10	12	土壌最多、冷却塔水1、ヨーロッパでは臨床有り
NIIB2673	175	2003/11	Na塩化物炭酸水素塩泉	3,610	8.4	0.6	本土地区	144と同一施設、同年2回目検査	980	6	10	17	28	9	14	3	新規遺伝子型
NIIB2674	295	2007/3/14	Na塩化物炭酸水素塩泉	1,120	8.4	0.6	本土地区	144と同一施設	980	6	10	17	28	9	14	3	新規遺伝子型
NIIB2675	300	2007/5/2	Na/Mg-炭酸水素塩温泉	2,200	7.4	0	本土地区	患者発生に伴う関連施設調査	979	10	22	7	3	16	18	6	新規遺伝子型
NIIB2676	373	2007/9/18	Na炭酸水素塩泉	40	9.1	0.2	本土地区	140と同じ温泉スタンドから運搬	687	7	6	17	21	35	11	9	国内臨床2
NIIB2677	432	2008/6/19	Na塩化物炭酸水素塩泉	20	8.2	0	本土地区	144と同一施設	980	6	10	17	28	9	14	3	新規遺伝子型
NIIB2678	450	2008/9/19	温泉	40	8.3	0.88	県外(近畿地方)		981	2	10	19	28	19	4	11	新規遺伝子型
NIIB2679	466	2009/1/8	単純アルカリ泉	90	7.8	0.2	本土地区		89	4	10	11	15	29	1	6	国内臨床1、欧米で患者、環境から
NIIB2680	475	2009/1/29	単純アルカリ泉	10	7.8	0.1	本土地区	466と同じ施設	89	4	10	11	15	29	1	6	国内臨床1、欧米で患者、環境から
NIIB2681	558	2010/10/4	Na塩化物泉	50	8.0	0	本土地区		982	6	10	17	3	21	14	3	新規遺伝子型

表 10 *L. pneumophila* 臨床分離株
および環境分離株(血清群1)の
MLVA法とSBT法におけるD値

由来(株数)	MLVA	SBT
臨床分離株(40)	0.987	0.992
うち血清群1(33)	0.989	0.991
土壌分離株(26)	0.938	0.892
冷却塔水分離株(28)	0.442	0.267
浴槽水分離株(34)	0.957	0.977
全分離株(128)	0.956	0.946

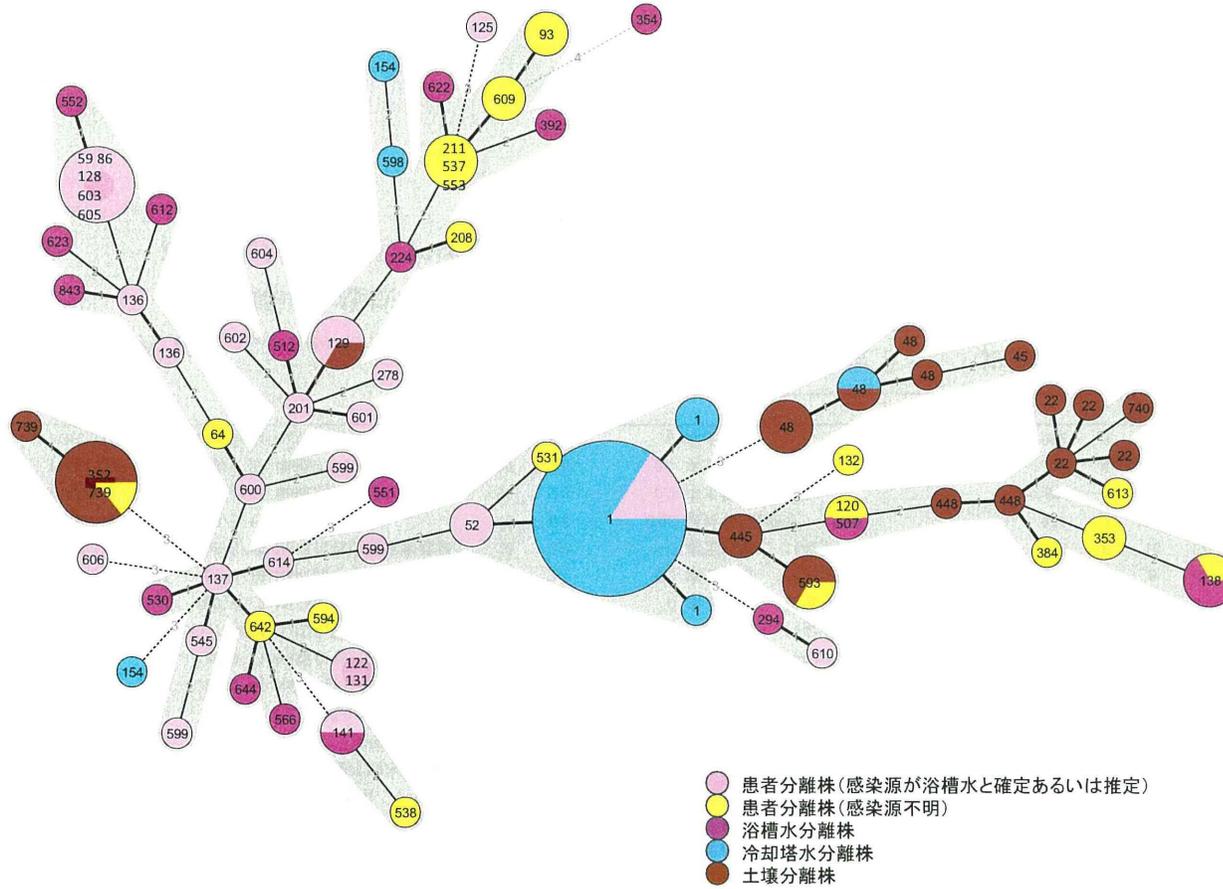


図5 Minimum spanning tree 法による *L. pneumophila* 分離株の VNTR 型の類縁関係。

1つの円が1つのVNTR型を示し、円の大きさはそれぞれのVNTR型を有する株数に比例している。枝の長さは互いのVNTR型の遺伝子座の差異数に比例している。隣り合う遺伝子座の違いが2つ以下のVNTR型およびそれらをつなぐ枝の周囲は灰色に塗られ、コンプレックスを形成していることを示している。円の中の数字は各VNTR型の株のST型(SBT法により決定された遺伝子型)である。

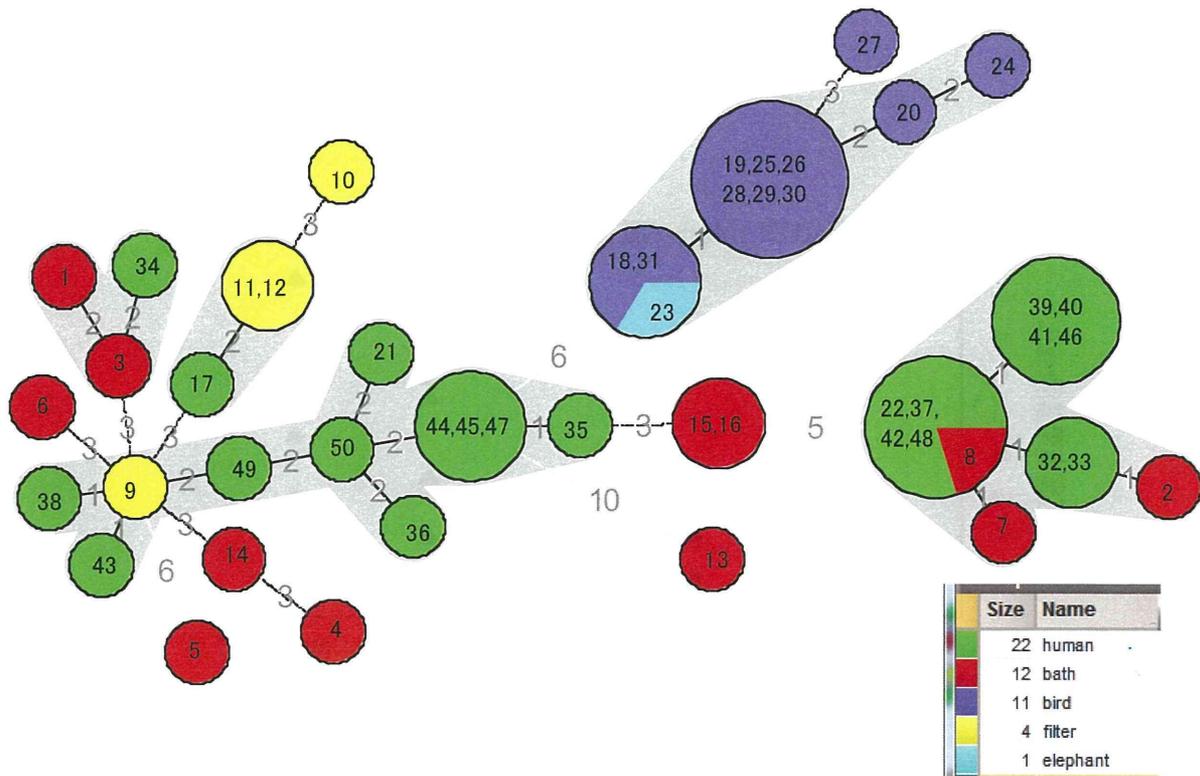


図6 分離源が異なる *M. avium* の Minimum spanning tree

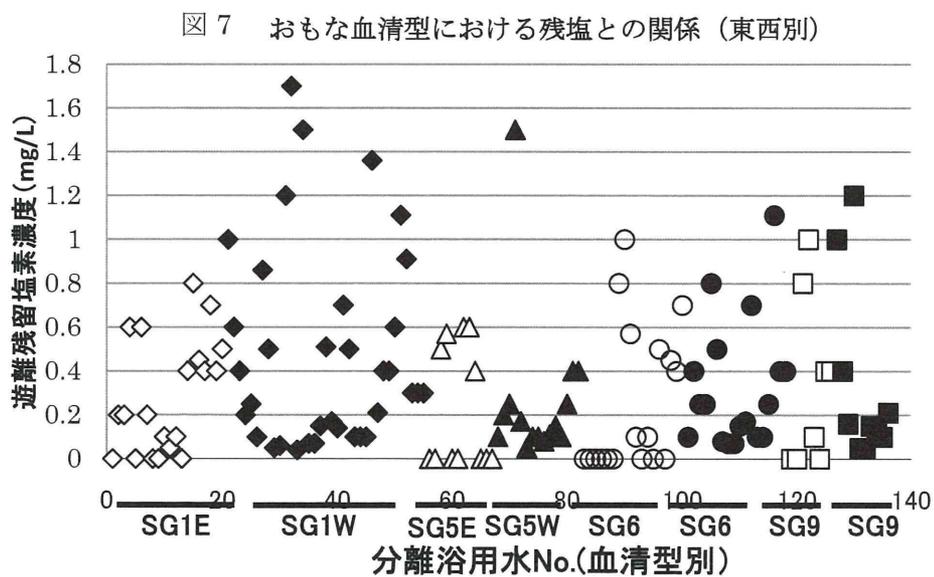


図7 おもな血清型における残塩との関係 (東西別)

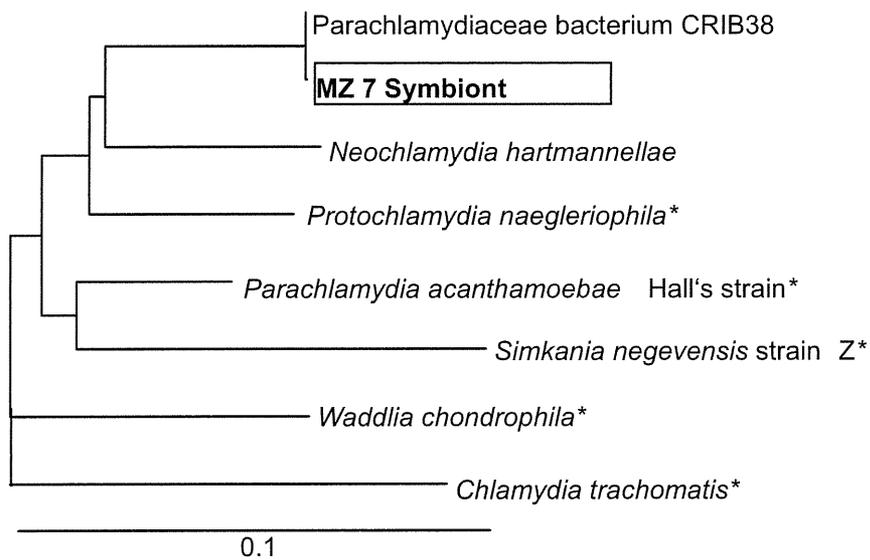
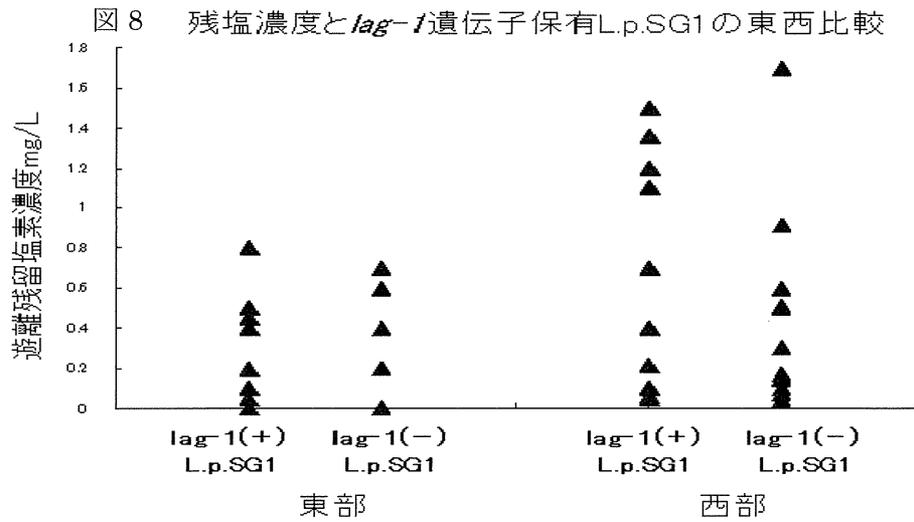


図-9、16SrRNA 遺伝子解析に基づくクラミジア関連微生物の系統関係

* これまでにヒトへの健康影響が知られるもの

II. 分担研究報告

平成22年度厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)
分担研究報告書

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究

温泉施設におけるモノクロラミン生成装置の設置・運用結果

研究代表者	倉 文明	国立感染症研究所細菌第一部
研究分担者	縣 邦雄	アクアスつくば総合研究所
研究分担者	杉山 寛治	静岡県環境衛生科学研究所
研究協力者	神澤 啓	アクアスつくば総合研究所

研究要旨：掛け流し式温泉施設において、源泉貯槽をはじめ浴槽水からレジオネラ属菌が検出された。浴槽水のレジオネラ属菌数を常時不検出（10CFU/100mL未満）とするために、温泉水にモノクロラミンを3mg/Lで添加・維持することが提案された。当温泉施設は、源泉が10.8m³/hで常時流れており、その温泉水に対してモノクロラミンを連続的に添加し3mg/Lにする必要がある。この処理を実現するために、モノクロラミンの生成装置を設計・作成し、実際に運用した。

その結果、運用開始後3ヶ月間にわたり源泉貯槽水、温泉浴槽水中のモノクロラミン濃度を安定的に3.0mg/L～3.5mg/L程度に維持し、浴槽水中のレジオネラ属菌を常時不検出に維持出来ている。

A. 研究目的

公衆浴場における浴槽水のレジオネラ属菌対策として、モノクロラミンの使用が検討された。（平成21年度厚生労働科学研究「公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究」）

モノクロラミンは、レジオネラ属菌の殺菌に有効であり、ある程度高濃度で維持するので残留濃度の調整が容易なこと、ヒトに対して臭気、皮膚刺激性が穏かな特徴がある。

しかし、モノクロラミン液は保存が利かないため実際の施設では、現場で次亜塩素酸ナトリウムと塩化アンモニウムを反応させて直ちに添加する。多量の浴槽水を連続的に使用する温浴施設では、人手によるバッチ方式でのモノクロラミン製造と添加は手間がかかり現実的ではない。

本研究では、実際の温泉施設でモノクロラミンの連続生成装置を設計・製作し運用し、浴槽水中のモノクロラミン濃度を常時所望の濃度に安定して維持する技術の確立を目的とする。

また、将来的には浴槽水中のモノクロラミンの残留濃度を計器により連続的に測定し、制御する必要があるため、モノクロラミン濃度の測定に関する予備調査を行う。

B. 研究方法

1. 概要

モノクロラミンを連続的に発生させる装置を設計し、実際の温泉施設に設置、運用を行い、浴槽水中でモノクロラミンを安定的に維持できること、及びレジオネラ属菌が不検出になることを確認する。

結合型塩素濃度の監視計器を用いて当温泉施設におけるモノクロラミン濃度を正確に測定できることを確認する。

2. 試験方法

2-1. モノクロラミン生成装置の設計製作と設置、運用

10.8m³/時で連続的に流れる温泉水に対してモノクロラミン濃度 3.0mg/L以上に維持できる量のモノクロラミンを生成できる装置を設計、ポンプ・タンク類の器材を選定し現地に設置した。設置後、水道水流量、次亜塩素酸ナトリウム液及び塩化アンモニウム液の流量を調整し、浴槽水中のモノクロラミン濃度が 3.0mg/L に維持されることを確認した。浴槽水中のレジオネラ属菌数等を測定した。

2-2. 残留塩素濃度監視計器による結合塩素濃度の測定

残留塩素濃度監視計器（イワキ社製 CL-310W-IA 型残留塩素濃度計：表示レンジを 10mg/L に改造品）を用い、現地のモノクロラミンを含む温泉水を電極部に通水し、モノクロラミン濃度を变化させた場合に計器の表示値が DPD 比色法の全残留塩素濃度と相関することを確認する。現地における残留塩素濃度は、笠原理化工業 DP-1Z 型による全残留塩素濃度で測定した。

C. 結果と考察

1. モノクロラミン生成装置の設計製作と設置、運用

モノクロラミン生成装置の構成は、図 1 に示すフロー図の通りである。本施設は、揚水ポンプの寿命を延ばす趣旨で、揚水ポンプを連続運転している。その一定で流れる水量に対して、一定量のモノクロラミン液を添加することにより、温泉水中のモノクロラミン濃度を一定にする処理方針とした。

水道蛇口からの水道水を一旦、ボールタップ付きの 50L タンクに貯め、水道水用のポンプを用いて通水する。

そこに次亜塩素酸ナトリウム液を必要量添加する。次亜塩素酸ナトリウム液は、配管中のスタティックミクサにより混合希釈される。混合希釈された次亜塩素酸ナトリウム液に対して、塩化アンモニウム液を必要量添加する。水道水及び各薬液の注入量を調整することで、必要とするクロラミン濃度（生成量）を調整することができる。

また、必要に応じて塩素剤とアンモニウムのモル比を調整することができる。各機器類の仕様・価格を、表 1 に示す。本仕様の装置を実際の温泉施設に設置した。設置時の様子を写真 1 に示す。今回は、600mL/分の水道水に対して 12% 次亜塩素酸ナトリウム液を 3.8mL/分、10% 塩化アンモニウム液を 9.5mL/分添加した。結果、塩素剤に対するアンモニウムのモル比 2.4、モノクロラミン濃度が約 800mg/L、pH=7.8 の液を 613mL/分生成した。モノクロラミン生成量は 0.52g/分、31g/時間であった。調整時の、各液量を表 2 に示す。

モノクロラミン生成の反応式と、モル比、濃度の計算結果を表 3 に示す。

このモノクロラミン液を、源泉貯槽のマンホールから、源泉が流入する箇所連続的に添加した。（写真 2 参照）源泉の流入量は、揚水ポンプの能力が 10.8m³/h なので、温泉水中のモノクロラミン濃度は計算上 2.9mg/L となる。

源泉貯槽を一旦空にした後、源泉の貯留とモノクロラミンの添加を同時に行い、逐次源泉貯槽水の全塩素濃度を測定したところ、3mg/L であった。

その後、源泉貯槽から各浴槽に温泉水の供給を開始し、浴槽の蛇口におけ

る温泉水中のモノクロラミン濃度を測定した。結果を表4に示す。

すべての浴槽において、モノクロラミン濃度は3mg/Lをやや上回る値となっており、当初目標であった3.0mg/L以上を確保することができた。

計算値の2.9mg/Lに対して、いずれも大きめの数値となっているのは、揚水ポンプの能力が10.8m³/hを下回っているためと考えられる。

モノクロラミン添加前の源泉貯槽水中のレジオネラ属菌数は250CFU/100mLであった。添加開始後2時間では全残留塩素濃度2.5mg/Lでありレジオネラ属菌は不検出であった。また、モノクロラミン投入開始6時間後で末端の温泉蛇口水を検査したところ、全残留塩素濃度3mg/Lでありレジオネラ属菌は不検出であった。その後、1ヵ月後、2ヵ月後の浴槽温泉蛇口水においてもレジオネラ属菌は不検出であった。2ヵ月後の温泉蛇口水に関して、LAMP法の検査を行ったところ、陽性であった。これは、レジオネラの生菌は存在しないが、モノクロラミンにより殺菌された死菌が存在するためと考えられた。

表5にレジオネラ属菌の挙動を示す。

表6には温泉水および、モノクロラミン生成用の希釈水である水道水の水质分析結果を示す。

本生成装置のイニシャルコストは、747,495円(工事費含まず)である。現在の運転コストは、6%次亜塩素酸ナトリウム液を360L/月(¥207/kg)、塩化アンモニウム(¥825/kg)を32kg/月使用しており、月間費用は¥100,940-である。

2. 残留塩素濃度監視計器による結合塩素濃度の測定

残留塩素濃度監視計器 (CL-310W-IA

型の表示部改造品)を全残留塩素濃度測定用のBモードとし、センサーに現地温泉水(全残留塩素3.5mg/L)を通水して校正した。その後、水道水で徐々に希釈していき、DPD法による全残留塩素濃度と、計器の表示値を測定した。その結果、0.7mg/L~3.5mg/Lの範囲で、計器の指示値とDPD法による全残留塩素濃度の値は同じ値を示した。

本計器のBモードはモノクロラミン濃度の測定・制御に使用可能である。

D. 結論

1. 今回製作した、モノクロラミン生成装置は、モノクロラミンを毎時32g連続的に生成することが出来た。生成量の増減は±50%以上可能である。
2. 毎時10.8m³で流出する温泉水に対して連続的に添加することで、温泉水中のモノクロラミン濃度を安定して3mg/Lに維持することが出来た。
3. 上記処理により、温泉水中のレジオネラ属菌を2ヶ月にわたり不検出(10CFU/100mL未満)に出来ている。
4. 本装置の設置費用は747,495円(工事費含まず)、一ヶ月間の運転コスト(薬品代)は現状100,940円である。
5. 残留塩素濃度計CL-310W-IA型(表示部改造品)は、モノクロラミン濃度(残留塩素濃度)を0.7~3.5mg/Lの範囲で計測できた。今後、計器によるモノクロラミン濃度自動制御に適用可能と考えられる。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

図 1. モノクロラミン生成装置のフロー図

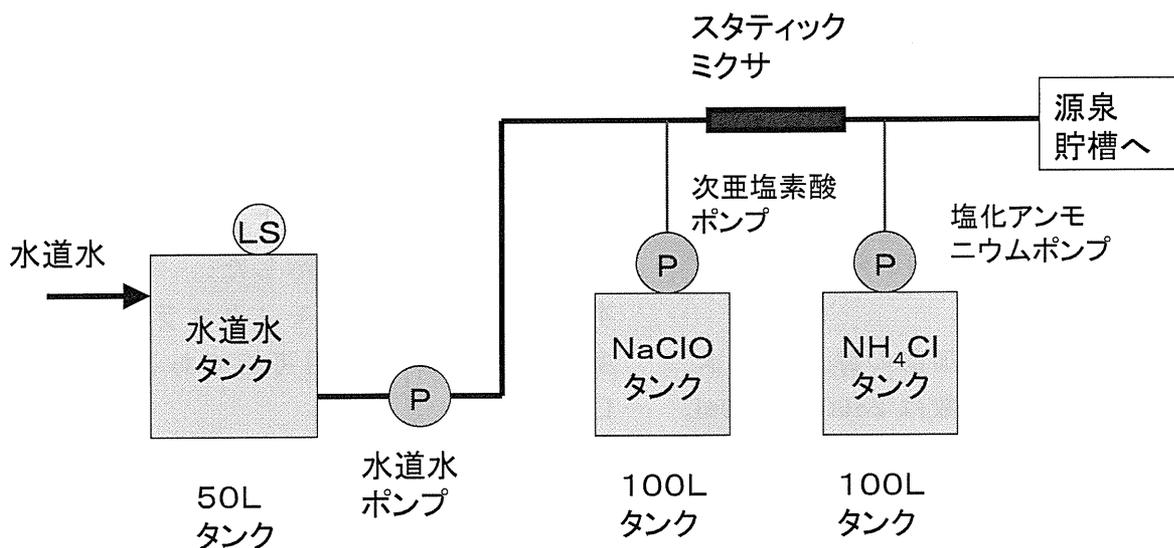
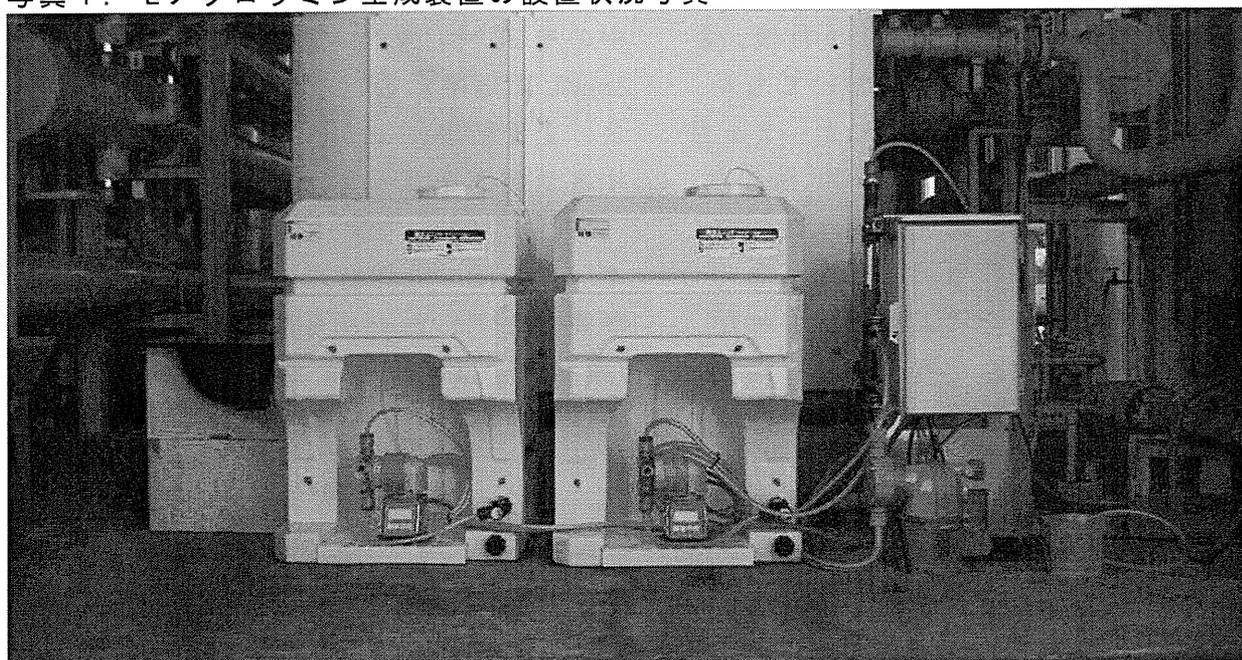


写真 1. モノクロラミン生成装置の設置状況写真

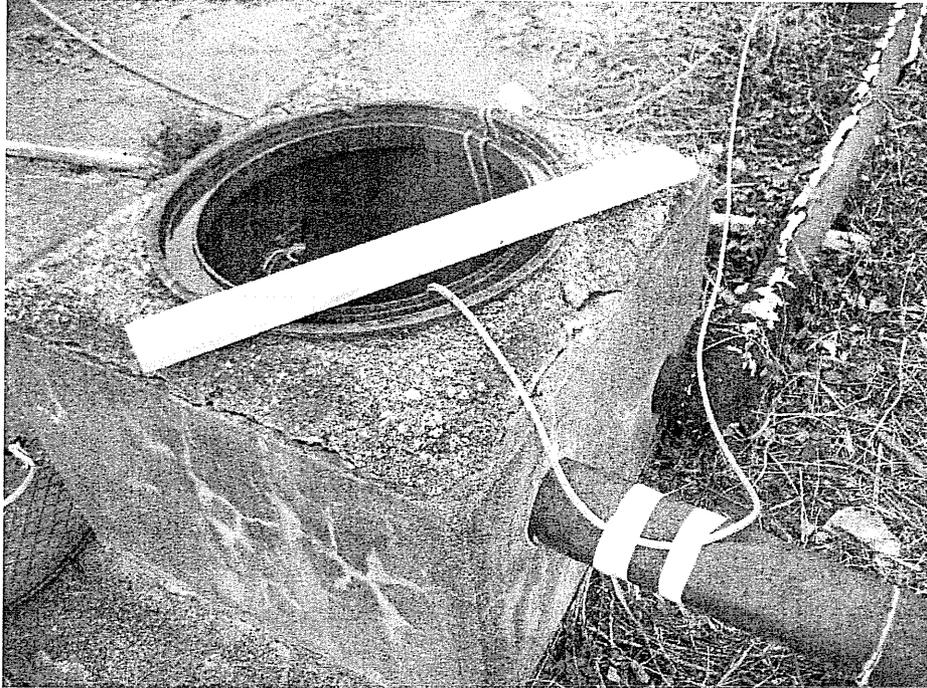


モノクロラミン生成装置は、冷凍機機械室に設置した。

左から次亜塩素酸ナトリウム液のタンクとポンプ、塩化アンモニウム液のタンクとポンプ、右の黄色のポンプは水道水用の大容量ポンプである。

水道水用ポンプの奥に50Lの水道水用タンクがあり、水道水用ポンプの上にある四角い箱は電気制御盤である。生成したモノクロラミン液は、塩ビブレードホースにより屋外の源泉貯槽のマンホールから温泉に添加している。

写真 2. モノクロラミン液注入点の様子



源泉貯槽のマンホールにサイホン止めチャッキ弁付きのブレードホースを垂らし、源泉の流入箇所付近に、生成したモノクロラミン液を連続的に添加している。

表 1. 機器の仕様・価格表

品名	機器仕様・品名	価格(税込み)
水道水タンク	50L ポリエチレン製, ボールタップ付き	36,435
水道水ポンプ	タクミナ製 CS2-1000-VTCE-HW-100V1-Y-S-S 型 最大 1000mL/分 × 0.3MPa	164,850
次亜塩素酸ナトリウム液タンク	タクミナ製 PTU-100 型 100L ポリエチレンタンク	65,205
次亜塩素酸ナトリウム液ポンプ	タクミナ製 CLPZD-30R-ATCF-HWJ 型 最大 30mL/分 × 0.7MPa	120,750
塩化アンモニウム液タンク	タクミナ製 PTU-100 型 100L ポリエチレンタンク	65,205
塩化アンモニウム液ポンプ	タクミナ製 PZD-60R-VTCE-HWJ 型 最大 60mL/分 × 0.7MPa	101,850
スタティックミクサ	20A 塩化ビニル製	77,700
制御盤	100V, 水道水レベル制御付き	105,000
配管類	薬液混合部主配管は 20A 塩化ビニルパイプ その他は, 塩ビブレードホースにて接続	10,500
合計金額		¥ 747,495

注記: 表中の価格は、定価です。工事費用は含まない。

表 2. 水道水と薬液の注入量

	通液量	通液量
水道水	600 mL / 分	36 L / 時間
12%次亜塩素酸ナトリウム液 (%は W/W, 比重 1.15)	3.8 mL / 分	0.23 L / 時間
10%塩化アンモニウム液 (%は W/V)	9.5 mL / 分	0.57 L / 時間
合計液量	613 mL / 分	36.8 L / 時間
モノクロラミン (asCl ₂) 生成量	0.52 g / 分	32 g / 時間

注記：本モノクロラミン液の塩素：アンモニウムのモル比は 1 : 2.4.

表 3. モノクロラミン生成の反応式と本条件のモル比、生成量

モノクロラミン生成の反応式			
$\text{NaClO} + \text{NH}_4\text{Cl} \rightarrow \text{NH}_2\text{Cl} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$			
薬品：12(有効塩素 W/W)%次亜塩素酸ナトリウム液(比重 1.15) Cl ₂ 分子量 = 71 10(W/V)%塩化アンモニウム液 NH ₄ Cl 分子量 = 53.5			
薬品名	薬品使用量	薬品有効成分重量	モル数
次亜塩素酸 Na	3.8mL/min	0.524gCl ₂ /min	0.00738mol/min
塩化アンモニウム	9.5mL/min	0.950g/min	0.0178mol/min
モル比	—	—	2.41
モノクロラミン発生量 0.524gCl ₂ /min 0.524 g Cl ₂ /min × 60min/時間 = 31 g / 時間			

注：薬品使用量から有効成分重量への計算、次亜塩素酸 Na は比重 1.15 をかけている、塩化アンモニウムは、比重をかけていない。

表4. モノクロラミン添加開始後の
各浴槽蛇口温泉水のモノクロラミン濃度

浴槽名称	モノクロラミン濃度(mg/L)
源泉貯槽水	3.50
Fの湯(男湯)	3.20
Fの湯(女湯)	3.02
B浴槽(男湯)	3.30
B浴槽(女湯)	3.16
C浴槽(男湯)	3.20
C浴槽(女湯)	3.08
201浴槽	3.30
202浴槽	2.94
203浴槽	3.08
205浴槽	3.26
206浴槽	3.24
207浴槽	3.00

表5. モノクロラミン投入前後のレジオネラ属菌挙動

採水月日	11月11日	11月11日	11月11日	12月10日	1月13日
時刻	11:00	13:00	17:00	15:00	14:00
試料名	源泉貯槽	源泉貯槽	A浴槽	B浴槽	B浴槽
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	250	<10	<10	<10	<10
LAMP法	試験せず	試験せず	試験せず	試験せず	陽性
全残留塩素濃度 (mg/L)	0(投入前)	2.5程度	3.0程度	3.5	3.4

表6. 温泉水と水道水の水質分析結果

試料名	温泉水	水道水
採水月日	2010/11/11	2010/11/10
時刻	15:30	11:30
pH(25°C)	8.8	8.1
電気伝導率(mS/m)	160	8.2
全硬度(mg/LCaCO ₃)	78	29
Ca硬度(mg/LCaCO ₃)	76	20
Mg硬度(mg/LCaCO ₃)	2	9
Mアルカリ度(mg/LCaCO ₃)	67	36
塩化物イオン(mg/L)	110	3
硫酸イオン(mg/L)	530	0
シリカ(mg/L)	55	34

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)
公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究

平成 22 年度 分担研究報告書

掛け流し式浴槽水に対するモノクロラミン消毒方法の導入

研究代表者： 倉 文明
研究分担者： 杉山寛治
研究分担者： 縣 邦雄
研究協力者： 神田 隆
研究協力者： 泉山信司
研究協力者： 小坂浩司
研究協力者： 遠藤卓郎

国立感染症研究所 細菌第一部
静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
アクアス株式会社 つくば総合研究所
静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
国立感染症研究所 寄生動物部
国立保健医療科学院 水道工学部
国立感染症研究所 細菌第一部

(研究要旨) 掛け流し式浴槽水に対しモノクロラミン消毒を導入した。源泉タンク内のアルカリ性 (pH9.0) の温泉水へ、次亜塩素酸ナトリウムと塩化アンモニウムを混合することにより自動生成したモノクロラミンを自動注入し、温泉水中のモノクロラミン濃度 (3.3mg/L) を保持した。源泉タンクから給湯された各浴槽水のモノクロラミン濃度は、ヒトの入浴によっても大幅な減少はなかった。2 ヶ月間に7回分析し、レジオネラ属菌、アメーバは検出されず、従属栄養細菌数もほぼ不検出と細菌学的に良好な成績であった。モノクロラミン消毒後の源泉タンク水や各浴槽水における水質検査では塩素臭の原因となるトリクロラミンはまったく検出されず、入浴者へのアンケートでも臭気や肌感覚で違和感を感じる者はなかった。モノクロラミン消毒は、次亜塩素酸ナトリウムによる消毒が困難といわれるアルカリ泉質温泉水の新しい消毒方法として期待できる。

A. 研究目的

浴槽水の消毒に使用される次亜塩素酸ナトリウムは、その殺菌効果は高いが、カルキ臭や一部の泉質 (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、次亜塩素酸ナトリウムより化学的安定性があり、濃度管理が容易で、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。

わが国の水道で、結合残留塩素による消毒は

0.4 mg/L 以上、著しい汚染される恐れがある場合 1.5 mg/L 以上と規定されている (水道法第 22 条に基づく水道法施行規則第 17 条第 1 項第 3 号)。ここで言う結合残留塩素は主にモノクロラミンと想定される。

H. 21 年度の厚生労働科学研究「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) において、次亜塩素酸ナトリウム消毒の難しい高 pH 領域においても、モノクロラミンが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) が高いことが確認されている。

該研究では、さらに、循環ろ過式浴槽モデルにモノクロラミン消毒を導入し、入浴を伴った実験で、浴槽水の殺菌と、濾過材、配管、集水

器などのバイオフィーム形成防止に効果があることを検証している。また、モノクロラミン消毒によってカルキ臭が生じない利点も確認され、モノクロラミン消毒は循環式浴槽水の次亜塩素酸ナトリウムに替わる新しい消毒方法として期待できる結果が示されている。

本年度の研究では、レジオネラ汚染が継続して確認されたアルカリ性 (pH9.0) 温泉水使用の掛け流し式浴槽水に対し、モノクロラミン消毒を長期間にわたって導入し、その消毒効果を確認したので報告する。

B. 研究方法

1. モノクロラミン消毒導入前の温泉水の汚染調査

源泉 (pH9.0、泉質：ナトリウム - 硫酸塩泉、湯温 49°C) は揚水量 10.8 m³/h で連続的に源泉タンク (50 t) に流入し、そこから配管を経由して掛け流し式浴槽に給湯されている。源泉汲み上げ直後の配管、源泉タンク、および3浴槽の給湯口4ヶ所から採水した温泉水について、レジオネラ属菌数、一般生菌数、従属栄養細菌数を測定した。なお、検出されたレジオネラ属菌については、血清型、遺伝子型 (PFGE プロファイル) を検査し、菌株の異同を調べた。

2. 浴槽水へ用事調整したモノクロラミン投入時の消毒効果の確認

レジオネラ属菌汚染が認められた浴槽2ヶ所 (貯湯量 A 浴槽：6 m³、B 浴槽：43 m³) の浴槽水に、現場で用事調整したモノクロラミン溶液を投入し、3 mg/L のモノクロラミン濃度になるように調整した。このモノクロラミン濃度は、平成 21 年度に実施した「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」において、高 pH (pH8.4) で消毒効果が確認できた濃度 3 mg/L を採用した。

モノクロラミン溶液は、耐薬品性のバケツに入れた温泉水 3 L に、貯湯量 1 m³ 当たりの薬剤量として、6%次亜塩素酸ナトリウム (オーヤラックス社) を 50 mL、次いで 10%塩化アンモニウム (和光特級) を 60 mL の順に加えよく混

合し作成した (反応式： $\text{NaClO} + \text{NH}_4\text{Cl} \rightarrow \text{NH}_2\text{Cl} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$ 、 NH_2Cl がモノクロラミン)。それを直に浴槽水に投入、攪拌することで、ほぼ 3 mg/L のモノクロラミン濃度が得られた。

その後の3時間に、A 浴槽は 20 名、B 浴槽は 10 名が入浴し、各浴槽の使用状態に近づけた。

サンプリングはモノクロラミン投入前、モノクロラミン濃度 3 mg/L 調整直後、および入浴終了時の計 3 回行い、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、同時に温泉水のモノクロラミン濃度と遊離アンモニア濃度をポケット水質計 PC II (HACH 社) で、全残留塩素濃度、遊離残留塩素濃度をポケット残留塩素計 (HACH 社) で、それぞれの添付試薬を使って採水現地で測定した。なお、これらの濃度測定には浴槽水を蒸留水で 5 倍希釈した液を用いた。

同検体の一部はガラス容器に入れ、国立保健医療科学院に冷蔵で送付し、DPD/FAS 滴定法で遊離塩素、モノクロラミン、ジクロラミン、トリクロラミンの測定を、HS-GC/MS 法でトリクロラミンの測定を実施した。

その他、浴槽水の pH、過マンガン酸カリウム消費量、TOC (全有機炭素) などの水質分析も行った。

さらに、浴槽水のモノクロラミン濃度 3 mg/L 調整後のボランティア入浴者 29 名に対し、浴槽水の臭気や入浴時の肌感覚についてのアンケートを実施した。

3. 源泉タンク内へモノクロラミンを自動生成・注入時の消毒効果の確認

源泉タンク内ですでにレジオネラ汚染があり、源泉タンクの高圧洗浄・消毒、配管等のつけ置き消毒でもレジオネラ汚染の除去が困難であったことから、源泉タンク内の温泉水 (pH9.0) に対し、モノクロラミン消毒する方法の有効性について検討した。モノクロラミンは保存がきかず、用事調整の必要があることから、また、現場でのヒトによる薬剤調整の煩雑性と長期日にわたる濃度保持の困難性を考慮

し、モノクロラミンの現場での自動生成と源泉タンク内の温泉水への自動注入が可能な装置を開発した。これは6%次亜塩素酸ナトリウム水溶液と10%塩化アンモニウム水溶液を水道水に一定比率で混合することによりモノクロラミンを自動生成し、一定の濃度を確保するために必要な容量を温泉水に自動注入する装置(図1)である。本装置使用時のモノクロラミン消毒のながれを図2に示した。本装置は平成23年3月現在も稼動中であり、本装置の連続運転で温泉水中のモノクロラミン濃度(3.3mg/L)を保持している(装置の詳細やイニシャルコスト、また注入量の詳細や薬剤等のランニングコストについては、本研究班の分担報告書「温泉施設におけるモノクロラミン生成装置の設置・運用結果」を参照)。

モノクロラミン自動生成・注入時の貯湯タンク内と浴槽3ヶ所(貯湯量A浴槽:6m³、B浴槽:43m³、C浴槽:2m³)の温泉水のレジオネラ属菌数、一般生菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数の測定や各種塩素濃度の分析を行った。

さらに、モノクロラミン自動生成・注入装置による長期的な消毒効果を確認するために、2ヶ月間に7回、各浴槽の温泉水のレジオネラ属菌数、一般生菌数、従属栄養細菌数を測定した。

また、入浴者への情報提供として、「浴槽水のモノクロラミン消毒の実施」を口頭で告げるとともに、浴場の壁面に図3に示す掲示をするなど倫理面への配慮を行った。

C. 結果および考察

1. モノクロラミン消毒導入前の温泉水の汚染調査

モノクロラミン消毒導入前の掛け流し式浴槽施設の汲み上げ直後の源泉、源泉タンク、および浴槽の給湯口から採水した温泉水のレジオネラ属菌数、一般生菌数、従属栄養細菌数の測定結果を表1に示した。いずれの温泉水からもレジオネラ属菌が検出され、共通して検出された *Legionella pneumophila* の血清群(SG)3の菌は、図4に示すように、採材日や採材箇所が

異なってもほぼ同一のPFGEプロフィールを示しており、本施設の掛け流し系統内に同一遺伝子型の菌が定着していることが示された。

2. 浴槽水へ用事調整したモノクロラミン投入時の消毒効果の確認

レジオネラ属菌汚染が認められた2ヶ所の浴槽水に、現地で用事調整したモノクロラミン溶液を投入し、3mg/Lのモノクロラミン濃度に調整後、入浴した時のレジオネラ属菌等の細菌学的検査の結果を表2に示した。また、各時点のモノクロラミン等の濃度の測定結果を現地測定と国立保健医療科学院での詳細測定に分け、表3に示した。

モノクロラミン投入後の浴槽水からは、レジオネラ属菌、アメーバともに不検出で、従属栄養細菌数も濃度調整直後のごくわずかの検出に止まり、十分な消毒効果が確認された。

また、ヒトの入浴によってもモノクロラミンまたは全塩素濃度の大きな減少はなく、用事調整したモノクロラミンの投入によって、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。ジクロラミンはごく微量検出されたが、不快な悪臭の原因となるトリクロラミンはまったく検出されなかった。

また、入浴者29名へのアンケート結果でも臭気や肌感覚で違和感を感じたものはなかった。

モノクロラミンの投入や入浴等による浴槽水のpH、過マンガン酸カリウム消費量、TOCなどの水質の推移を表4に示した。入浴に伴う有機物等の増加や、モノクロラミンの投入に伴うアンモニア態窒素の増加が観察された。

3. 源泉タンク内へ自動生成したモノクロラミンを自動注入時の消毒効果の確認

モノクロラミンの自動生成・注入による源泉タンク内と浴槽3ヶ所の温泉水のレジオネラ属菌数、一般生菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数を表5示した。また、その時点の各種塩素濃度の測定結果を現地測定と国立保健医療科学院での詳細測定に分け、表6に示した。

モノクロラミン消毒前の源泉水から 1.4×10^3 CFU/100mL のレジオネラ属菌が検出されたにもかかわらず、自動生成されたモノクロラミンを自動注入された源泉タンク内の温泉水や給湯された浴槽水からは、レジオネラ属菌、アメーバ、一般生菌ともに不検出で、従属栄養細菌数も消毒後の源泉タンク内の温泉水におけるごくわずかの検出に止まり、十分な消毒効果が確認された。

貯湯タンク内の温泉水へのモノクロラミンの自動注入による濃度 (3.3 mg/L) 維持による消毒は現在も継続中であり、その後の6回の検査でも、給湯された浴槽水からは、レジオネラ属菌はいずれからも検出されず、一般生菌数や従属栄養細菌数もごくわずかの検出に止まった。これらの結果から、モノクロラミン消毒により、アルカリ泉質の温泉であっても、長期間にわたって安定した、細菌学的に良好な掛け流し式浴槽水が維持できることが示された。

また、不快な臭気や肌への刺激などの違和感を感じる入浴者はなかった。

D. 結論

継続的に同一遺伝子型のレジオネラ属菌汚染が確認された掛け流し式浴槽系内にモノクロラミンによる消毒を導入して、その消毒効果を確認した。

アルカリ性 (pH9.0) の源泉タンク内の温泉水へ、次亜塩素酸ナトリウムと塩化アンモニウムを水道水に一定比率混合することにより自動生成したモノクロラミンを自動注入し、温泉水中のモノクロラミン濃度 (3.3 mg/L) を保持した。源泉タンクから一定のモノクロラミン濃度 (3.3 mg/L) の温泉水を給湯された入浴中の

各浴槽水からは、レジオネラ属菌、アメーバは検出されず、従属栄養細菌数もほぼ不検出と細菌学的に良好な成績であった。モノクロラミン消毒後の源泉タンク内水や各浴槽水における水質検査ではカルキ臭の原因となるトリクロラミンはまったく検出されず、入浴者へのアンケート調査でも不快な臭気や肌感覚で違和感を感じたものはなかった。

モノクロラミン消毒は、次亜塩素酸ナトリウムによる消毒が困難といわれるアルカリ泉質の掛け流し式の温泉水の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

誌上発表

1) 杉山寛治, 小坂浩司, 泉山信司, 縣邦雄, 遠藤卓郎, モノクロラミン消毒による浴槽レジオネラ属菌の衛生対策, 保健医療科学, 59(2) p.109-115 (2010)

学会発表

- 1) 杉山寛治, 神田隆, 西尾智裕, 八木美弥, 田栗利紹, 泉山信司, 八木田健司, 倉文明, 小坂浩司, 遠藤卓郎, 循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミンの消毒効果, 日本防菌防黴学会第37回年次大会, 東京 (2010)
- 2) 神田隆, 高橋奈緒美, 八木美弥, 西尾智裕, 杉山寛治, 泉山信司, 常 彬, 倉文明, 遠藤卓郎, EMA-qPCR による浴槽水中のレジオネラ生菌検出法の検討, 日本防菌防黴学会第37回年次大会, 東京 (2010)

F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
なし