

- るモノクロラミン消毒の有効性.日本防菌防黴学会第38回年会、大阪、2011年8月.
- 9) 杉山寛治、神田隆、縣邦雄、久保田明、泉山信司、小坂浩司、遠藤卓郎、倉文明：アルカリ泉掛け流し式浴槽に対するモノクロラミンの消毒の導入、日本防菌防黴学会第38回年次大会、大阪、2011年8月.
- 10) 竹熊美貴子、野本かほる、柴田 穰、高橋淳子、古川容子、香川（田中）聡子、神野透人、西村哲治：公衆浴場における消毒副生成物の実態調査：含窒素消毒副生成物とアルデヒド類. 第48回全国衛生化学技術協議会年会 (2011.11)
- 11) 神野透人、香川（田中）聡子、西村哲治：コンピューターケミストリーを利用した家庭用品中の化学物質の物性値予測法に関する研究. 平成23年度 室内環境学会学術大会 (2011.12)
- 12) 竹熊美貴子、吉田栄充、野本かほる、柴田穰、香川（田中）聡子、神野透人、西村哲治：公衆浴場および遊泳用プールにおける消毒副生成物の実態調査. 日本薬学会第132年会 (2012.3)
- 13) 森本 洋：分離集落の特徴を利用したレジオネラ属菌分別法の有用性、第85回日本細菌学会総会技術講習会「話題微生物の分離・同定法と最新事情」、平成24年3月27日長崎新聞文化ホール
- G. 知的財産権の出願・登録状況
- 倉 文明、前川純子、渡辺治雄、小林静史、高橋朋子：マクロファージのレジオネラ・ニューモフィラ感受性を支配する遺伝子を導入したマウス、特許第4696233号、平成23年3月11日登録.

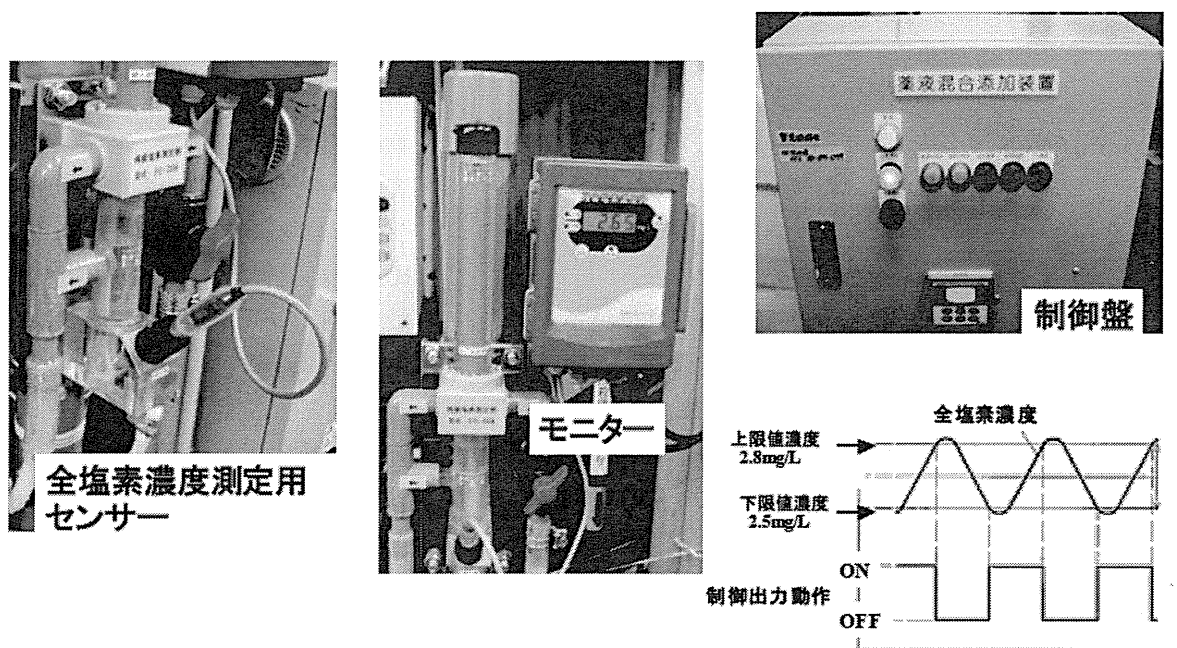


図 1. 全塩素濃度の測定と制御

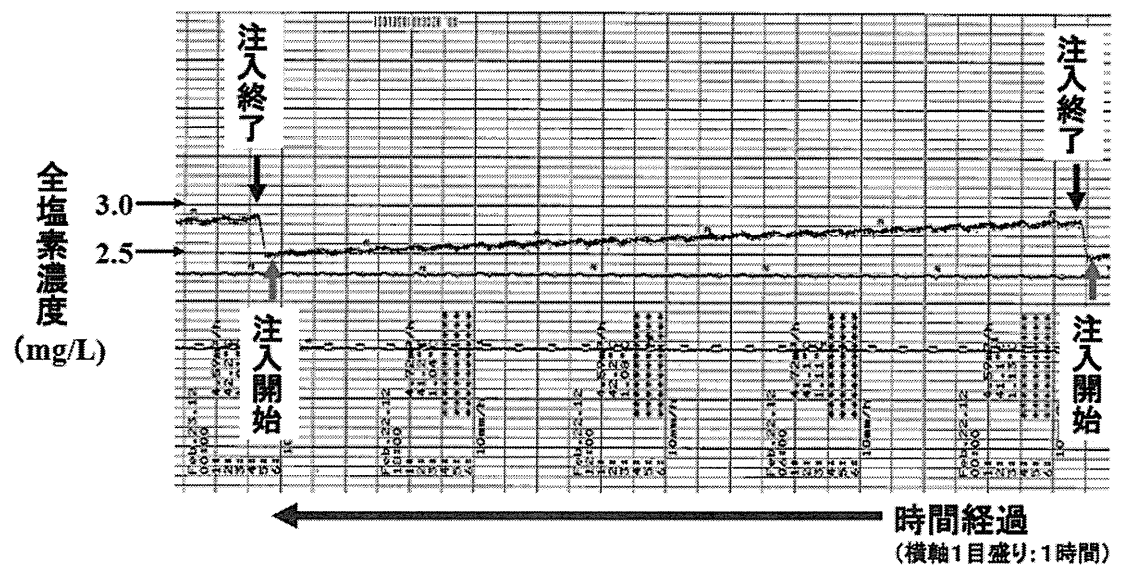


図 2. 無試薬型全塩素計で測定した全塩素濃度の記録（チャート紙）

表 1. モノクロラミン発生装置の設計基準

	通流量(最大)	通流量(最大)
水道水	1200mL／分	72L／時間
12%次亜塩素酸ナトリウム液 (%は W/W, 比重 1.15, Cl2 分子量=71)	6.8mL／分	0.41L／時間
20%塩化アンモニウム液 (%は W/V, NH4Cl 分子量=53.5)	7.6mL／分	0.46L／時間
モノクロラミン (asCl ₂) 生成量	0.94g／分	56g／時間
本モノクロラミン液の塩素：アンモニウムのモル比は、 1：2.2 モノクロラミン濃度は、約 780mg/L		
参考：モノクロラミン生成の反応式 $\text{NaClO} + \text{NH}_4\text{Cl} \rightarrow \text{NH}_2\text{Cl} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$		

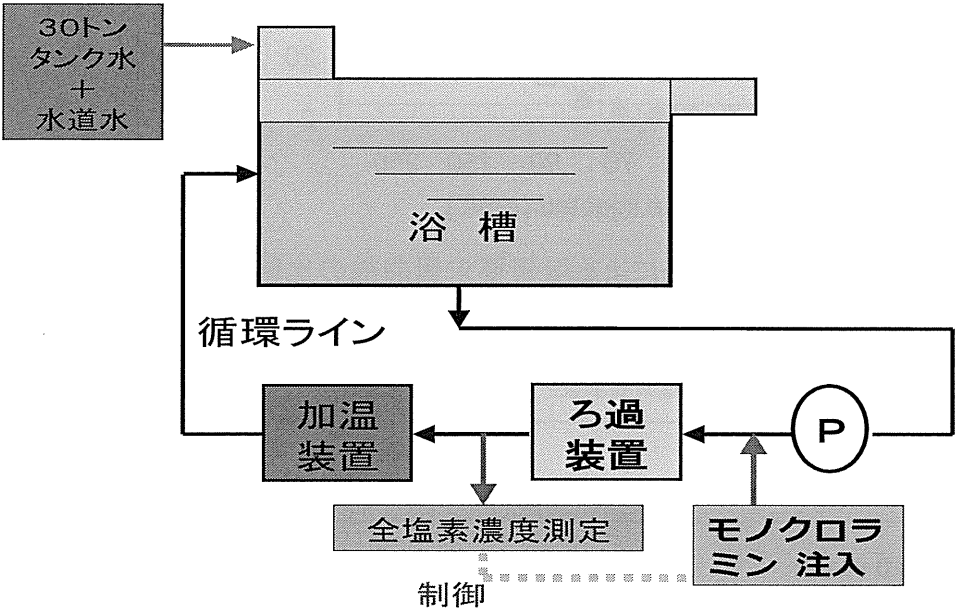


図 3. 大浴槽のモノクロラミン注入・制御フロー図

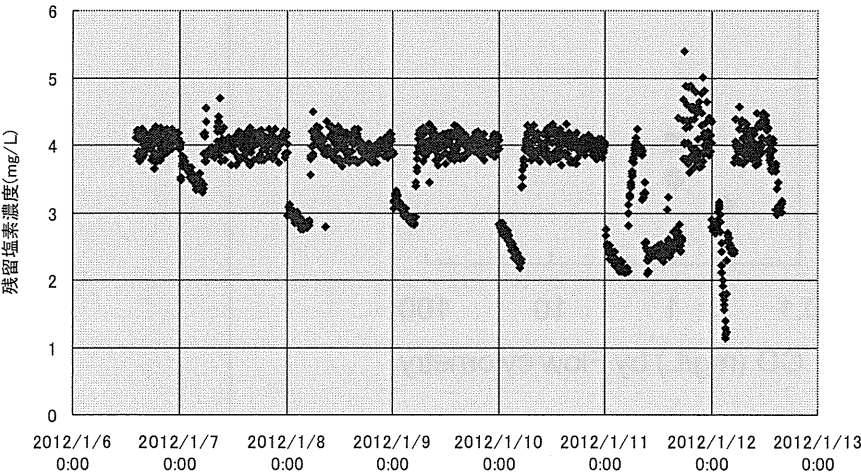


図 4. 大浴槽の残留塩素濃度の測定結果

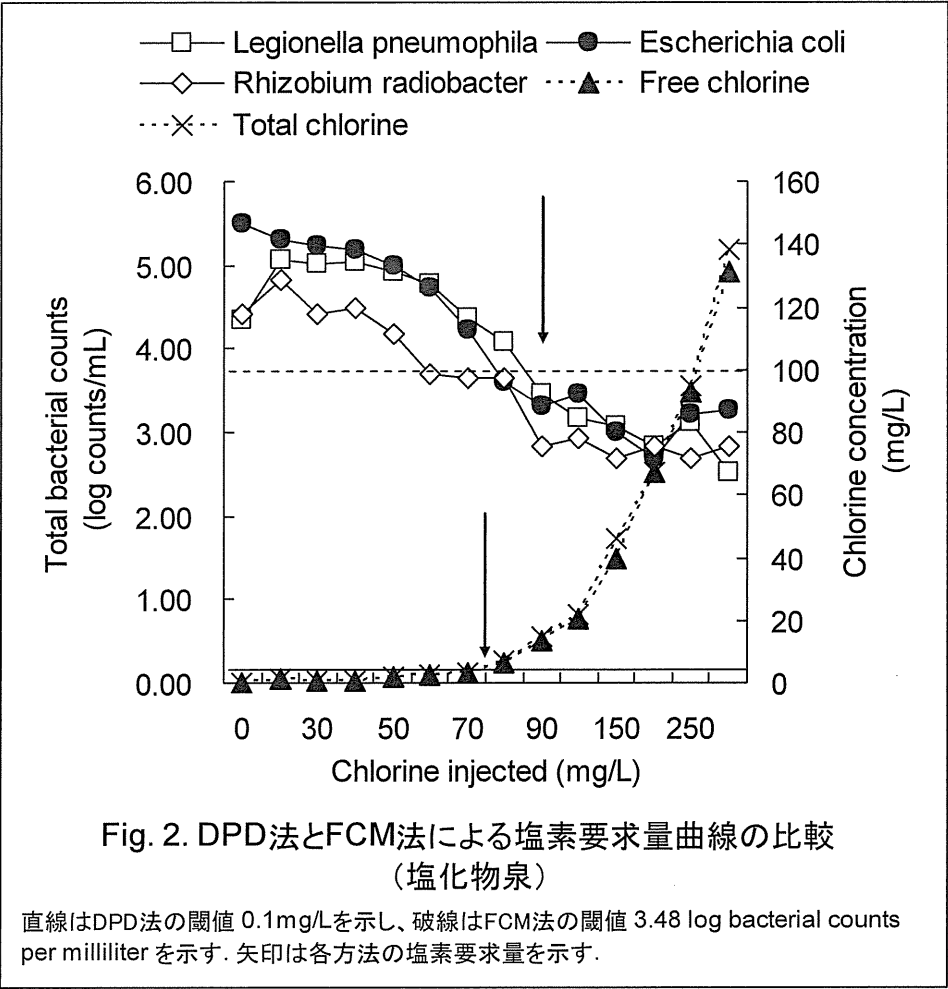


図 5.

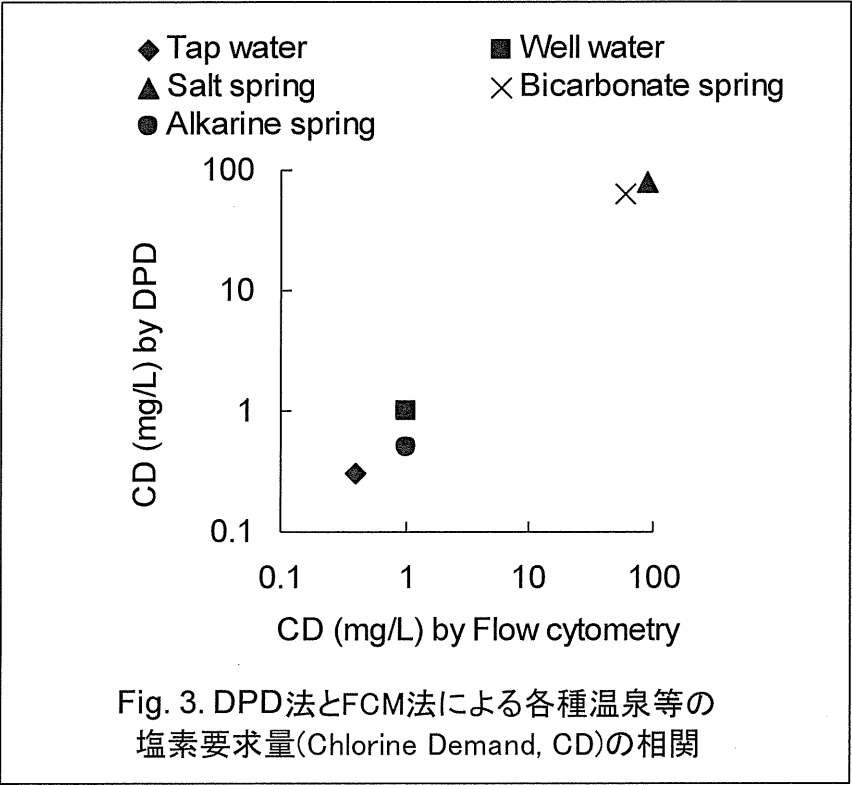


図 6.

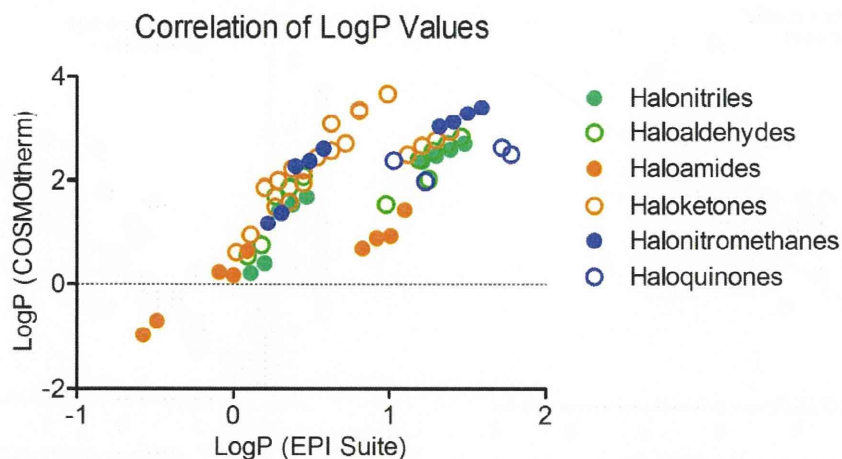


図 7. DFT/COSMO-RS 法と EPI Suite で推算した LogP 値の相関

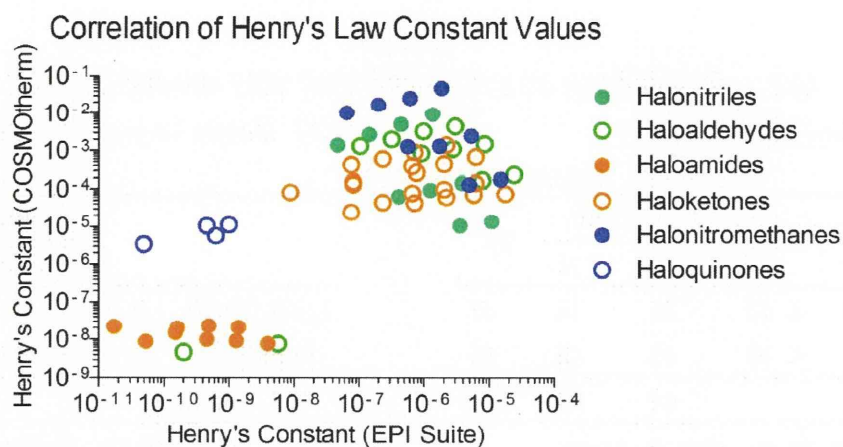
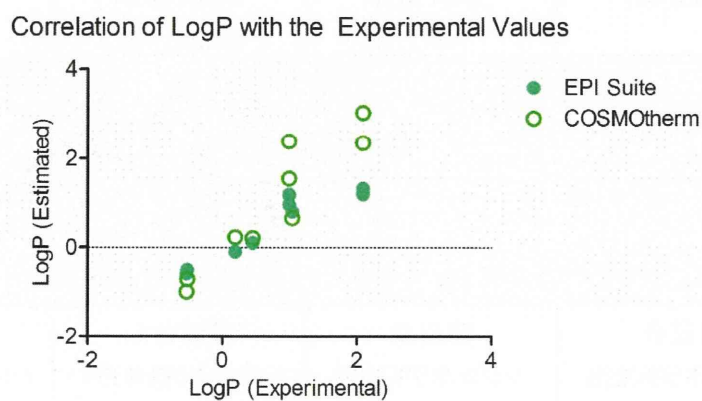
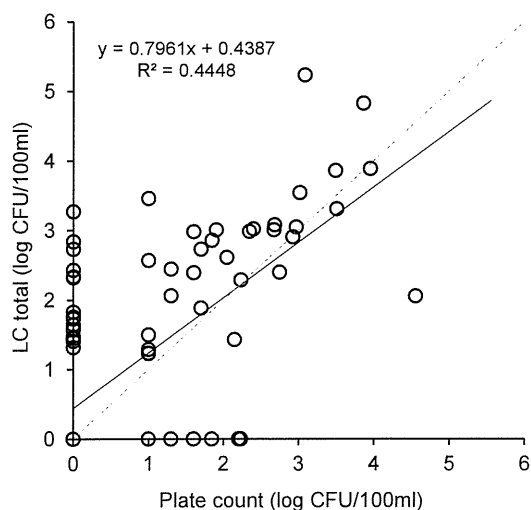


図 8. DFT/COSMO-RS 法と EPI Suite で推算したヘンリー定数の相関

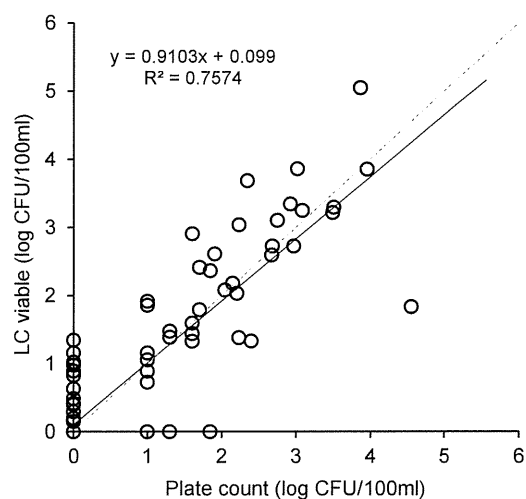


[EPI Suite]
 $r = 0.938$, Slope = 0.74
 [COSMOtherm]
 $r = 0.932$, Slope = 1.38

図 9. LogP 実験値と推定値相関



(1) LC 法 Total Legionella



(2) LC 法 Viable Legionella

図 10. 平板培養法と LC 法との比較 (ATP 5000 RLU 未満、n=108)

表 2. 平板培養法と LC 法との比較 (ATP 5000 RLU 未満、n=108)

(1) Total Legionella (総菌)

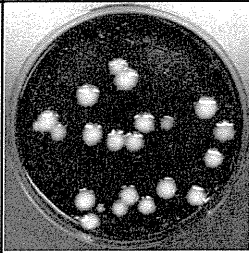
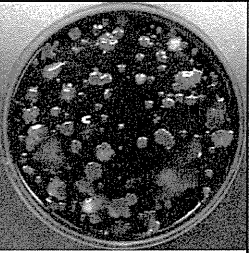
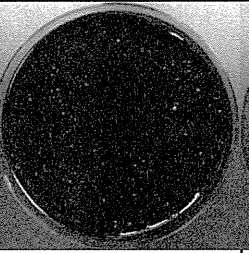
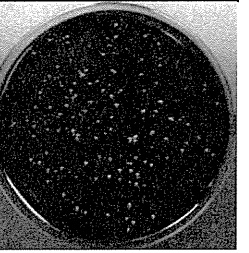
CFU/100ml)				
	Plate count		計	
	≥ 10	< 10		
LC法 Total	≥ 10	31	16	47
Legionella	< 10	13	48	61
計		44	64	108

感度 70.5% 特異度 75.0%

(2) Viable Legionella (生菌)

CFU/100ml)				
	Plate count		計	
	≥ 10	< 10		
LC法 Viable	≥ 5	34	7	41
Legionella	< 5	10	57	67
計		44	64	108

感度 77.3% 特異度 89.1%

前処理	酸処理 5分	熱処理	熱酸処理	酸処理 20分
	pH2.2、5分	50℃、20分	50℃、20分 pH2.2、5分	pH2.2、20分
平板培養				
	雑菌多 レジオネラ不検出	雑菌多 レジオネラ不検出	雑菌なし レジオネラ発育遅い	雑菌なし レジオネラ発育良好 3,100 CFU/100ml

(写真は WYO α 3 日目)

図 11. ろ過器逆洗水のレジオネラ検出結果

水質：pH 8.3、低張性アルカリ性冷鉱泉、遊離残留塩素濃度 1.0 mg/L

ATP 16,450 RLU/10ml、従属栄養細菌数 8.1×10^6 CFU/ml、一般細菌数 8.3×10^6 CFU/ml

表 3. ろ過器逆洗水を用いた LC 法前処理の比較（レジオネラ属菌 3, 100 CFU/100ml）

LC 前処理			LC コピー数		LC 定量値 (CFU/100ml)		
濃縮	前処理	5% Chelex	0h	18h	Total 総菌	Viable 生菌	生菌 下限値
1000 倍	酸処理 (5分)	無	0	0	< 10	0	0
	熱処理		0	0	< 10	0	0
	熱酸処理		0	0	< 10	0	0
	酸処理 (20分)		0	0	< 10	0	0
	酸処理 (5分)	有	0	33	< 10	1	0
	熱処理		15	49	19	1	0
	熱酸処理		0	29	< 10	1	0
	酸処理 (20分)		3	13	< 10	0	0
100 倍	酸処理 (5分)	無	39	65	540	7	< 10
	熱処理		79	0	990	0	< 22
	熱酸処理		34	15	470	0	< 9
	酸処理 (20分)		20	58	270	10	< 5
	酸処理 (5分)	有	474	288	6,500	0	< 130
	熱処理		435	177	5,400	0	< 120
	熱酸処理		393	987	5,400	160	< 110
	酸処理 (20分)		525	6,444	7,200	1,600	< 140

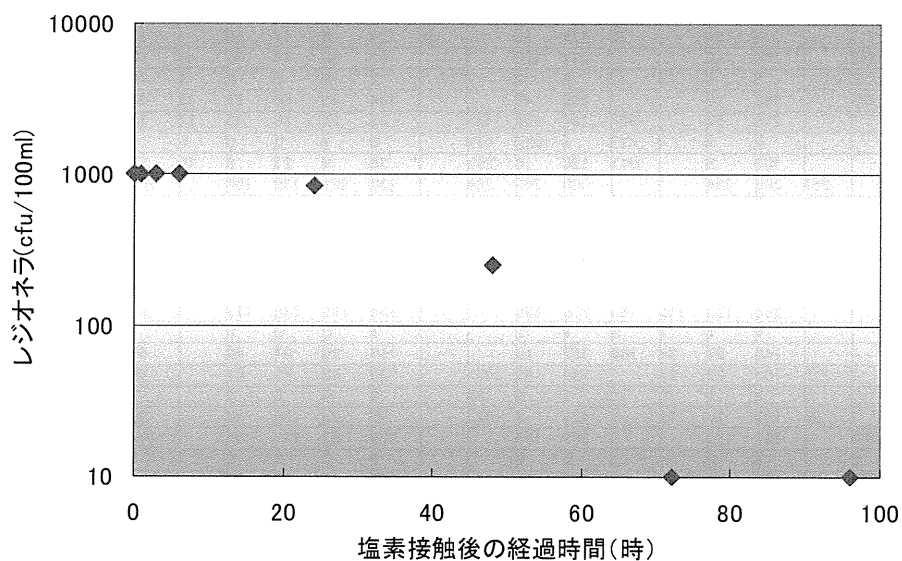


図12 塩素接触後の経過時間とレジオネラ検出状況

回収率の分布

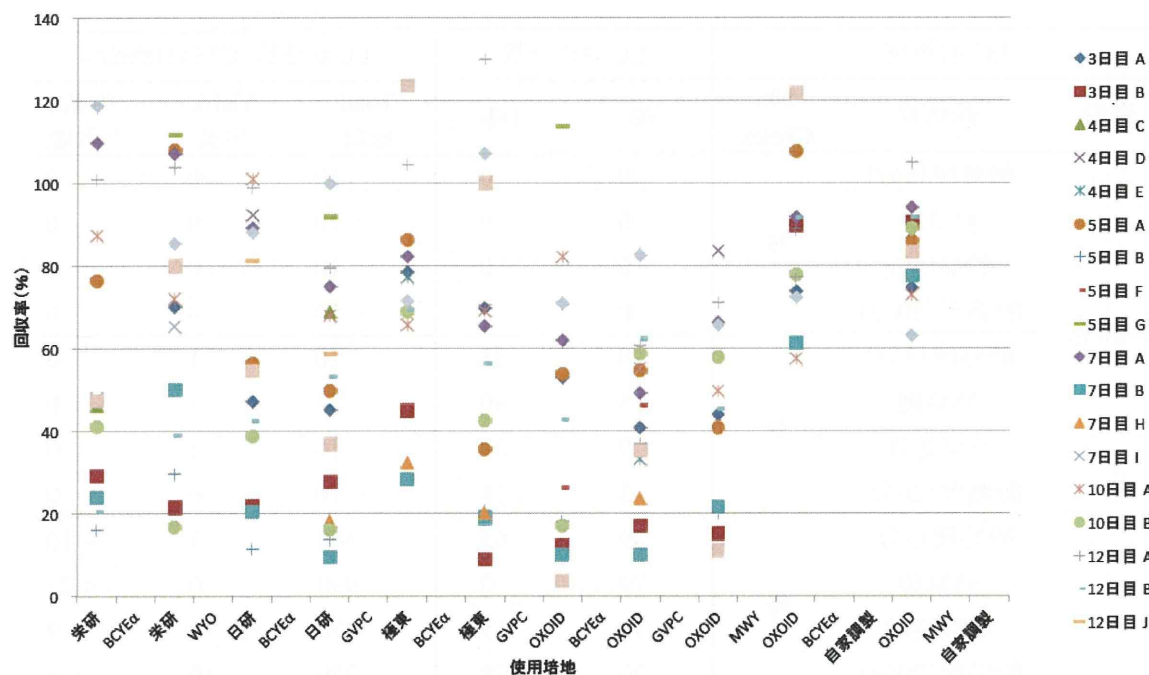


図 13. プレ精度管理回収率の分布（保存 0～14 日目試料）

表 4. 全参加施設によるプレ精度管理検査結果（コロニー数：培養 3 日目）

使用 培地	検査 検体	試 料 作 製 後 の 日 数																			
		3日目		4日目		5日目				7日目				10日目		12日目			14日目		
		A	B	C	D	E	A	B	F	G	A	B	H	I	A	B	A	B	J	A	B
栄研 BCYEα	直接	289	55	108			257	139			176	130		192	124	85	110	49		54	38
	非濃縮	5	0	0			4	0			2	0		2	0	0	2	0		0	0
	濃縮	135	16	50			196	22			193	31		92	108	35	111	10		64	18
栄研 WYO	直接	120	42				103	68		68	111	50		152	75	30	55	41		34	10
	非濃縮	1	0				1	0		0	2	0		1	1	0	0	0		1	0
	濃縮	84	9				111	20		76	119	25		99	54	5	57	16		29	8
日研 BCYEα	直接	245	189		242		266	159			211	200			103	80	81	66	43	50	55
	非濃縮	2	0		2		1	2			2	2			2	5	0	0	1	0	0
	濃縮	115	41		223		150	18			188	41			104	31	80	28	35	44	30
日研 GVPC	直接	164	72	93			215	59		<99>	160	105	<143>		56	25	34	15	17	13	19
	非濃縮	2	0	2			2	1		<1>	1	0(0)	<1>		0	1	0	0	0	0	0
	濃縮	74	20	64			107	8		<91>	120	10	<26>		38	4	27	8	10	13	7
極東 BCYEα	直接	318	287			257	305	284			308	269	264		230	221	136	154		101	93
	非濃縮	3	3			1	6	2			4	0	1		1	2	2	4		1	2
	濃縮	249	129			198	263	196			253	76	85		151	152	142	107		72	115
極東 GVPC	直接	241	135				231	78			179	74	230		123	40	47	39		28	16
	非濃縮	2	0				2	0			3	0	0		2	0	0	0		0	0
	濃縮	168	12				82	16			117	14	46		85	17	61	22		30	16
Oxoid BCYEα	直接	255	115				266	150	145	160	270	190			134	171	138	117		93	108
	非濃縮	2	0				1	1	1	3	1	1			1	0	0	0		1	0
	濃縮	135	14				143	27	38	182	167	19			110	29	97	50		66	4
Oxoid GVPC	直接	241	47			279	196	38	97		246	80	<240>		136	63	91	61		46	34
	非濃縮	4	0			0	1	1	0		1	0	<3>		3	0	0	1		1	0
	濃縮	98	8			92	107	14	45		121	8	<57>		75	37	55	38		38	12
Oxoid MWY	直接	294	173		267		289	110			207	153			204	83	131	106		116	82
	非濃縮	2	1		3		2	0			0	0			1	0	0	0		1	0
	濃縮	129	26		223		118	22			137	33			101	48	93	48		76	9
Oxoid BCYEα	直接	342	308				277	324			287	287			225	234	182	181		116	115
	非濃縮	1	4				2	5			5	1			2	1	1	4		3	0
	濃縮	252	276				298	288			263	176			129	182	140	166		84	140
Oxoid MWY	直接	279	302				283	340		<115>	237	226			192	200	147	142		116	126
	非濃縮	2	3				3	1		<2>	2	5			0	0	0	1		0	1
	濃縮	208	273				243	263		<89>	223	175			140	178	154	130		73	105

○は参加施設独自のデータであるため参考値として扱う

表 5. 2009 年度に収集した臨床分離株(43 株)

NIIB 番号	分離年	性別	感染源(推定、と記載していない場合は環境分離株とPFGE一致)	種名	血清群	ST (Sequence Type)	flaA	pilE	asd	mip	mompS	proA	neuA	同じSTの報告があるか(2012年2月現在)
2642	2006	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外
2646	2010	女	院内感染(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外
2685	2010	男	院内感染(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外
2727	2010	女	不明(調査実施するも水系感染の疑いなし)	<i>L. pneumophila</i>	1	1	1	4	3	1	1	1	1	国内11例目、国外
2630	2010	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	507	2	3	5	10	2	1	6	国内3例目
2615	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	120	2	3	5	11	2	1	6	国内外
2623	2008	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	120	2	3	5	11	2	1	6	国内外
2683	2010	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	120	2	3	5	11	2	1	6	国内外
2733	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	120	2	3	5	11	2	1	6	国内12例目、国外
2731	2010	男	砂が貯留した船底の修理(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	973	2	3	5	15	2	1	6	無
2624	2008	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	876	2	3	6	15	51	1	6	無一国内
2638	2010	男	不明(塗装業)	<i>L. pneumophila</i>	1	876	2	3	6	15	51	1	6	国内2例目
2628	2009	男	足湯(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	23	2	3	9	10	2	1	6	国内外
2639	2006	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	23	2	3	9	10	2	1	6	国内9例目、国外
2743	2011	女	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	23	2	3	9	10	2	1	6	国内10例目、国外
2643	2007	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	384	2	3	9	10	2	1	10	国内5例目
2684	2010	男	不明(千葉、東京、大阪、札幌に滞在)	<i>L. pneumophila</i>	1	384	2	3	9	10	2	1	10	国内6例目
2730	2009	男	浴槽水(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	384	2	3	9	10	2	1	10	国内7例目
2625	2008	男	塵埃感染(推定、エアコン)	<i>L. pneumophila</i>	1	905	2	3	9	13	56	5	6	無
2640	2006	男	仕事環境(推定、土木作業員)	<i>L. pneumophila</i>	1	891	2	3	18	13	2	5	6	国外1例
2632	2010	男	浴槽水(推定、老人施設)	<i>L. pneumophila</i>	1	882	2	10	3	21	9	14	9	無
2648	2009	男	公衆浴場シャワー水	<i>L. pneumophila</i>	1	954	3	6	1	10	14	11	6	無
2614	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	609	3	13	1	1	14	9	1	国内4例目、国外1
2610	2010	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	42	4	7	11	3	11	12	9	国内5例目、国外
2616	2009	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	129	6	6	15	28	4	14	11	国内外環境のみ臨床分離株初
2613	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	763	6	10	19	28	19	4	11	国外1例
2611	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	644	6	10	20	10	9	14	11	国内2例目
2627	2008	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	566	6	10	20	13	21	14	11	国内2例目
2631	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	59	7	6	17	3	13	11	11	国外多、国内2例目
2629	2009	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	353	8	10	6	15	51	1	6	国内4例目
2728	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	138	10	12	7	3	16	18	6	国内10例目
2732	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	138	10	12	7	3	16	18	6	国内11例目
2641	2006	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	739	12	8	11	2	10	12	2	国内土壌のみ臨床分離株初
2617	2009	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	1	288	12	8	11	16	29	12	2	国外1例
2644	2008	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	1	947	23	10	15	21	30	14	9	無
2609	2010	女	不明	<i>L. pneumophila</i>	3	93	3	10	1	28	14	9	13	国外10例、国内同一県内
2637	2010	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	3	93	3	10	1	28	14	9	13	国外多、同一県内5例目
2647	2010	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	5	1032	3	13	1	6	14	9	38	無
2682	2010	男	不明	<i>L. pneumophila</i>	5	-	8	6	34	9	53	8	NA	国外
2645	2008	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	6	242	3	10	1	28	1	9	3	国外1例
2634	2010	男	温泉(推定)	<i>L. pneumophila</i>	6	537	3	13	1	28	12	9	3	国内2例目
2651	2010	男	旅行(推定、出張)	<i>L. pneumophila</i>	10	-	3	4	1	28	14	9	NA	無
2735	2011	男	温泉(推定、溺水)	<i>L. londiniensis</i>										

表 6. *L. pneumophila* 血清群1環境分離株の遺伝子型別(15 株)

NIIB番号	由来	由来	分離日ある い搬入日	ST	flaA	pilE	asd	mip	mompS	proA	neuA	ST備考
NIIB2766	噴水	福岡市	2001/8/13	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2767	噴水	福岡市	2001/8/14	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2769	修景水	福岡市	2003/3/5	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2770	修景水	福岡市	2003/3/5	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2771	修景水	福岡市	2003/3/19	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2772	修景水	福岡市	2003/3/19	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2773	修景水	福岡市	2003/8/6	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2774	修景水	福岡市	2003/8/13	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2768	噴水	福岡市	2001/8/15	876	2	3	6	15	51	1	6	国内臨床2株
NIIB2753	噴水	宮崎県	2004/4/12	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2725	修景水	新潟市	2007/8/27	493	3	13	1	28	14	9	11	国外で臨床2、環境1
NIIB2833	公衆浴場シャワー水	荒川区	2011/11/9	1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数
NIIB2823	公衆浴場シャワー水	荒川区	2011/10/18	1144	2	10	15	12	9	14	11	新規
NIIB2649	公衆浴場シャワー水	文京区	2009/10/29	954	3	6	1	10	14	11	6	新規(感染源として臨床分離株と一致)
NIIB2841	河川水(水道原水)	神奈川県		1	1	4	3	1	1	1	1	国内外の臨床・環境株多数

表 7. 水溜まりの採水地点ごとの*Legionella*属菌の分離率と菌数

地点	陽性数 / 検体数	陽性検体の <i>Legionella</i> 属菌数 (cfu/100ml)		
		≤ 10-99	100-1,000	1,000 ≤
A	4 / 12	3	0	1
B	5 / 12	2	3	0
C	7 / 12	4	3	0
D	7 / 12	2	5	0
E	7 / 12	5	2	0
F	3 / 9	2	1	0
合計	33 / 69	18	14	1

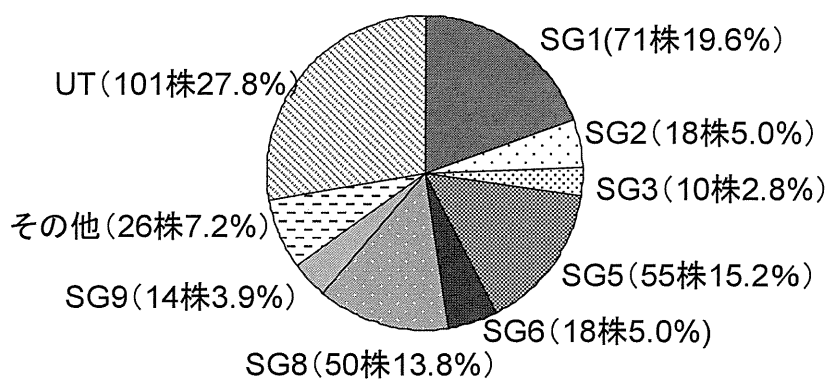


図 14. 水溜まりから分離された *Legionella* 属菌の血清群

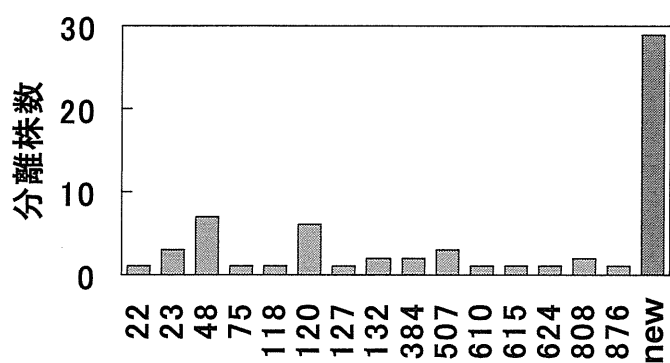


図 15. 水溜まりから分離された *L. pneumophila* SG1 の SBT による ST 別頻度

表 8. ウオッシャー液のLegionella属
菌数

菌数	検体数
10 未満	21
10 – 99	4
100 – 999	3
> 1000	3
合計	31

表 9 患者由来レジオネラ株

No	年齢	性別	分離年月	血清群	ST	PFGE	症状
1	64	男	2007.10	1	595	未実施	発熱、咳嗽、呼吸困難、肺炎
2	69	男	2007.10	1	593		発熱、呼吸困難、意識障害、肺炎
3	59	男	2008.09	1	609		発熱、頭痛、呼吸困難、意識障害、肺炎
4	79	男	2008.09	1	609		発熱、呼吸困難、肺炎
5	55	男	2008.09	1	594		発熱、咳嗽、意識障害、肺炎
6	37	男	2009.07	1	550		発熱、下痢、咳嗽、意識障害
7	54	男	2009.08	1	23		発熱、呼吸困難、肺炎
8	58	男	2010.01	1	609		発熱、肺炎
9	69	男	2010.05	1	42		発熱、意識障害、肺炎
10	55	女	2011.07	1	1077		発熱、胸部異常影(糖尿病あり)、呼吸困難
11	78	男	2011.10	1	120		発熱、呼吸困難、肺炎
12	78	男	2011.11	1	検査中		腹痛、呼吸困難、意識障害、肺炎、多臓器不全
13	91	男	2011.11	1	1077		発熱、咳嗽、肺炎
14	69	男	2011.12	1	1077		発熱、咳嗽、意識障害、肺炎
15	63	男	2011.06	2	354	未実施	発熱、咳嗽、肺炎から死亡(糖尿病あり)
16	66	男	2008.06	3	93	同一	発熱、咳嗽、肺炎
17	58	女	2008.07	3	93		胸部異常影、症状無し
18	79	男	2008.08	3	93		胸部異常影、症状無し
19	60	女	2010.04	3	93		発熱、呼吸困難、肺炎
20	74	男	2010.07	3	93		発熱、肺炎
21	77	男	2011.07	3	93		胸部異常影、症状無し
22	59	女	2011.09	3	93		胸部異常影、症状無し

M 1 2 3 4 5 6 7 M 9 10 11 12 M

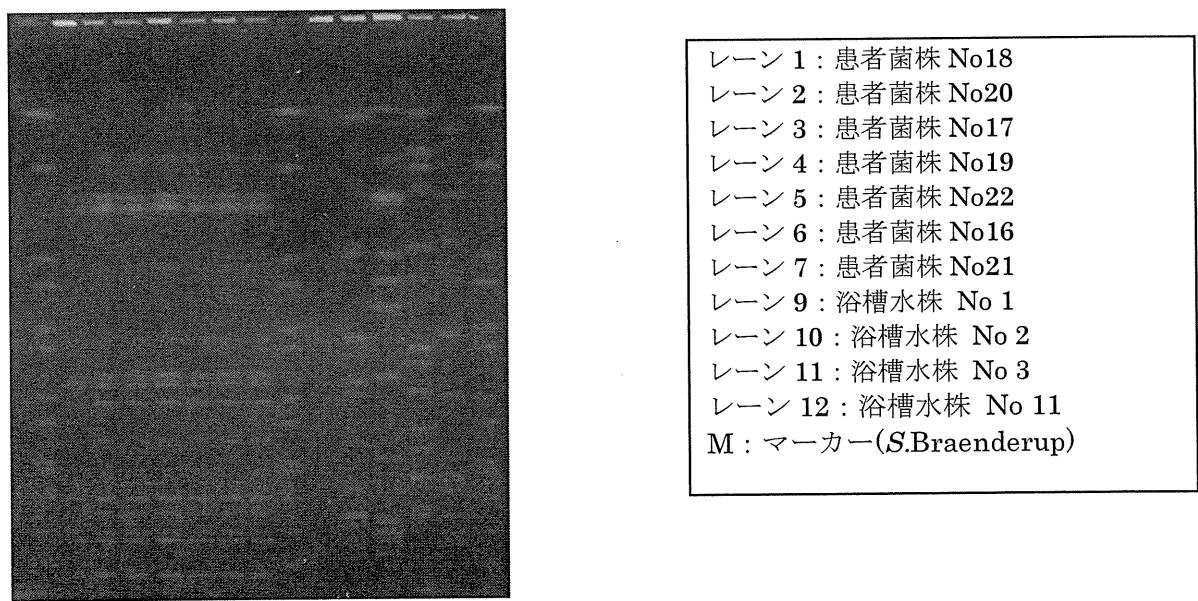


図 16. 患者および浴槽水由来 *L. pneumophila* 血清群 3 の PFGE 解析

表 10. 浴槽水等から検出された抗酸菌の同定結果

分類	菌種名	菌株数	由来内訳 (株)			
			関東	中部	北陸	九州
I群菌	<i>M. asiaticum</i>	1		1		
	<i>M. kansassi</i>	5	1	4		
	<i>M. simiae</i>	2	1	1		
II群菌	<i>M. gordonae</i>	15	9	4	1	1
	<i>M. intermedium</i>	1	1			
	<i>M. scrofulaceum</i>	1		1		
III群菌	<i>M. avium</i>	19	3	5	7	4
	<i>M. intracellulare</i>	2	2			
	<i>M. terrae</i>	5	3	2		
IV群菌	<i>M. fortuitum</i>	3	1	1		1
	<i>M. mucogenicum</i>	1	1			
	<i>M. peregrinum</i>	2		1		1
	<i>M. phlei</i>	5		1	1	3
	同定作業中	3				3
合計		65	22	21	9	13

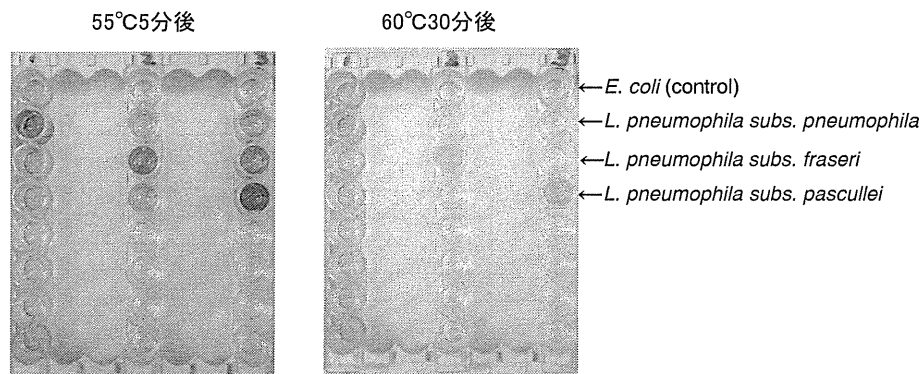


図 17. ハイブリダイゼーション温度と発色時間の検討

表 11. モノクロラミン 24 時間作用試験結果

消毒条件	実 Ct 値	シスト数 (プレート当たり接種量)			
		10	100	1000	
0mg/L 0 分	0	3 / 3	3 / 3	3 / 3	対照
0mg/L 24 時間	0	3 / 3	3 / 3	3 / 3	
3mg/L 5 時間	810	3 / 3	3 / 3	3 / 3	
3mg/L 24 時間	3700	0 / 3	0 / 3	0 / 3	Ct 値 3700 で 3-log 以上の不活化

II. 分担研究報告

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)

平成 23 年度 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

モデル浴槽水におけるモノクロラミン生成・注入・測定の自動化の検証

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： 杉山寛治	静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
研究協力者： 神田 隆	静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
研究協力者： 市村祐二	ケイ・アイ化成株式会社
研究協力者： 江口大介	ケイ・アイ化成株式会社
研究協力者： 泉山信司	国立感染症研究所 寄生動物部
研究分担者： 八木田健司	国立感染症研究所 寄生動物部
研究協力者： 小坂浩司	国立保健医療科学院 水道工学部
研究協力者： 遠藤卓郎	国立感染症研究所 細菌第一部

(研究要旨) アルカリ性 (pH 8.4) の井水の沸かし湯を使った循環ろ過式浴槽モデルにモノクロラミンの生成、注入、測定の自動化装置を設置して、濃度維持と消毒効果を検証した。

モノクロラミンは、水道水の水flow下で 0.6%次亜塩素酸ナトリウム、1%塩化アンモニウムの順に注入し、作成後、ろ過器前に注入した。浴槽水のモノクロラミンの濃度の測定には、濃度が全塩素濃度にほぼ等しいことから、無試薬型全塩素計を用いた。モノクロラミン濃度を一定に保つために以下のような制御を行った。浴槽水のモノクロラミン濃度が下限設定値 (2.5 ppm) を下回った場合、入力信号が入り、送水ポンプが稼動し、次に薬液ポンプが稼動し、生成されたモノクロラミンが連続注入され浴槽水の濃度上昇を図り、本濃度が上限設定値 (2.8 ppm) を上回った場合、入力信号が切れ、薬液ポンプが停止する仕組みである。

循環浴槽水におけるモノクロラミン (全塩素) 濃度は、12 日間にわたる入浴による有機物負荷にかかわらず、ほぼ設定された濃度範囲内に維持された。また、塩素臭の原因となるジクロラミン、トリクロラミンは検出されなかった。入浴者に臭気や肌感覚で違和感はなかった。その間の浴槽水とろ過器内水にはレジオネラ属菌、従属栄養細菌、アメーバは不検出であった。モノクロラミン消毒の自動化は、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循環式浴槽水の新しい消毒法として期待できる結果が得られた。

A. 研究目的

次亜塩素酸ナトリウムによる浴槽水の遊離塩素消毒は、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 (結合塩素) は、遊離塩素より化学的安定性があり、濃

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じず、塩素のように不快な悪臭を発生させない利点を持つといわれている。

わが国の水道では、結合残留塩素による消毒は 0.4 mg/L 以上、著しく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。

平成 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」（研究代表者 遠藤卓郎）において、遊離塩素消毒の難しい 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た。

該研究では、さらに、循環ろ過式モデル浴槽水に手投入による間欠的な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、集毛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た。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た。

モノクロラミン (NH_2Cl) は、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で生成される ($\text{NaClO} + \text{NH}_4\text{Cl} \rightarrow \text{NH}_2\text{Cl} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$)。ただし、生成されたモノクロラミン溶液は保存がきかないため用事調製する必要がある。一方、手投入によりモノクロラミン濃度を一定に保つこともできるが、実施者による塩素濃度測定とそれに応じた追加塩素量の計算など煩雑な作業が求められる。こうした背景の下、モノクロラミンの入浴施設現場への導入普及と事故防止には、自動注入装置の開発が有効と考え、当該研究では、モノクロラミン消毒の自動化装置の開発と、アルカリ泉質の浴槽水を使った循環ろ過式浴槽モデルにおける実証実験を行った。

B. 研究方法

1. 循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミンの生成、注入、測定 of 自動化の検討

循環ろ過式浴槽モデル（静岡県環境衛生科学研究所に設置）は、砂ろ過装置を含む循環配管と浴槽や加温装置からなり、水量は循環系を含め 2m^3 ある。これを最初に洗浄消毒し、pH8.4 の井水を満たしてからモノクロラミン消毒を

開始した。循環流速を $4\text{m}^3/\text{h}$ とし、湯温 40°C に維持した浴槽水に研究所職員が入浴することで有機物汚染を負荷した。

モノクロラミンの濃度は、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、間欠的な手投入で消毒効果が確認できた 3mg/L を採用した。

循環ろ過式の浴槽モデルには、次のような、モノクロラミンの生成、注入、測定の自動化装置を設置した。モノクロラミンは、水道水 $1.6\text{L}/\text{分}$ の水流下で 0.6% 次亜塩素酸ナトリウム ($12.5\text{mL}/\text{分}$)、 1% 塩化アンモニウム ($15\text{mL}/\text{分}$) の順に注入、生成し、ろ過器前の循環配管内に注入した (図 1)。

浴槽水のモノクロラミン濃度の測定は、モノクロラミン濃度にほぼ等しい全塩素濃度を測定できる、無試薬型全塩素計で行った。その測定値が下限設定値の 2.5ppm を下回った場合は、薬液注入の入力信号が入り、水道水の送水ポンプが稼動（希釈水が送水）し、次に薬液ポンプ（次亜塩素酸ナトリウム、塩化アンモニウム）が稼動し、両試薬の混合によって生じたモノクロラミン生成液が浴槽系内に連続注入され濃度上昇を図る。薬液濃度が上限設定値の 2.8ppm を上回った場合には、入力信号は切れ、薬液ポンプの作動が停止する (図 2)。本装置を循環ろ過式浴槽モデルに使用した時の全塩素濃度の経時的な推移をチャート紙に自動記録した。

本浴槽では消毒がなくなると速やかにレジオネラ属菌を含め各種微生物が増殖することを繰り返しており、安全性には十分に配慮して入浴試験を行った。浴槽上部の天井にはドラフトを設置し、換気によるエアロゾル対策に努めた。併せて入浴者による浴槽水の臭気について聞き取り調査を行った。

2. 浴槽水のサンプリングと微生物、水質検査

モノクロラミン濃度を一定濃度に保つように制御し、12 日間の入浴による有機物負荷を行った。この間、定期的に試料を採取し (表 1)、常法に従ってレジオネラ属菌 (GVPC 寒天培地)、

従属栄養細菌 (R2A 寒天培地)、自由生活性アメーバ (大腸菌塗布無栄養寒天培地) を定量した。

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測定に、ポケット残留塩素計 (HACH 社) を併用した。予備実験の結果から、上述の方法で生成されたクロラミン溶液には遊離残留塩素は検出されず、全てが結合型塩素として存在しており、また、そのほとんどがモノクロラミンであることを確認した。

モノクロラミン・ジクロラミン・トリクロラミンの分別定量は、米国の Standard Methods (第 21 版、2005) の DPD を用いた硫酸第一鉄アンモニウム (FAS) による滴定法 (DPD/FAS 滴定法) に準じて行った¹⁾。トリクロラミンの濃度測定は、HS-GC/MS 法 (ヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析法、Agilent 6890N/5975C、Agilent Technologies 社) を併用した。なお、HS-GC/MS 法の定量下限値は $15 \mu\text{g/L}$ で、DPD/FAS 滴定法よりも高感度にトリクロラミンを測定できる。現場で実施できない DPD/FAS 滴定法、HS-GC/MS 法、サリチル酸法による塩素濃度の測定については、消毒副生成物等の測定方法に準じて浴槽水を輸送し、実験室 (国立保健医療科学院) で実施した。すなわち、化学測定用の共栓ビンを用い、空気を入れないよう試料水で容器を満たし、パラフィルムで封じて冷蔵して輸送した。

浴槽へのヒトの入浴に伴う有機物の蓄積を、過マンガン酸カリウム消費量、TOC (全有機炭素) などの水質分析で確認した。

C. 結果および考察

1. 循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミンの生成、注入、測定の自動化の検討

循環浴槽水におけるモノクロラミン (全塩素) 濃度は、12 日間、延べ 11 名の入浴による有機物負荷にかかわらず、ほぼ設定された濃度範囲内で制御されていた (図 3)。塩素濃度の低下は緩やかで、モノクロラミンは遊離塩素に比べ安定と考えられた。濃度の復帰は 10 分程度と素早く行われていた。

また、塩素臭の原因となるジクロラミン、トリクロラミンは検出されなかった (表 2)。トリクロラミンは、さらに、高感度の HS-GC/MS 法によっても生成されていないことが確認された (定量下限値: $15 \mu\text{g/L}$)。トリクロラミンは主要な塩素臭の原因物質であるが、トリクロラミンが不検出という測定結果と、入浴を担当したボランティアから得た「実験期間を通して塩素臭はほとんどなかった」との証言は一致した。また、入浴者で肌感覚の違和感を訴えるものはなかった。

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 3 に示した。入浴に伴う有機物等の増加や、モノクロラミンの追加投入に伴うアンモニア態窒素の増加が観察された。

その間の浴槽水、ろ過器内水のレジオネラ属菌、従属栄養細菌、自由生活性アメーバはいずれも不検出と、モノクロラミン消毒により、レジオネラ属菌等の制御が可能との成績であった (表 4)。

これらの結果から、循環ろ過式浴槽水のモノクロラミン消毒の自動化は、アルカリ泉質の浴槽水の新しい消毒法として期待できると考えられた。

D. 結論

アルカリ泉質の井戸水を使用した浴槽水における循環式浴槽モデルに、モノクロラミンの生成、注入、測定の自動化装置を設置し、モノクロラミン濃度の維持と消毒効果について検証した。浴槽水のモノクロラミン (全塩素) 濃度は、12 日間の入浴による有機物負荷にかかわらず、ほぼ設定された濃度範囲内で制御されていた。また、塩素臭の原因となるジクロラミン、トリクロラミンは検出されなかった。

その間の浴槽水、ろ過器内水のレジオネラ属菌、従属栄養細菌、自由生活性アメーバはいずれも不検出と、モノクロラミン消毒により、レジオネラ属菌等の制御が可能との成績であった。今後は、現場の入浴施設においてモノクロ

ラミン消毒の自動化の検証を行い、レジオネラ対策で苦慮する入浴施設への導入・普及を目指したい。

E. 研究発表

学会発表

1) 杉山寛治, 神田隆, 縣邦雄, 久保田明,

泉山信司, 小坂浩司, 遠藤卓郎, 倉文明
アルカリ泉掛け流し式浴槽に対するモノクロ
ラミンの消毒の導入, 日本防菌防黴学会第 38
回年次大会, 大阪 (2011)

F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
なし

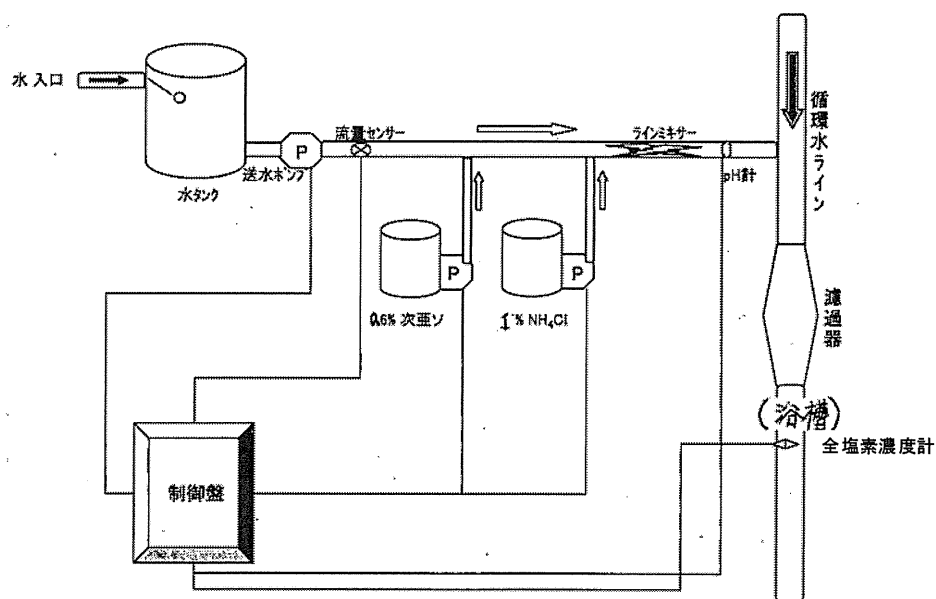


図1 モノクロラミン作成・注入・測定 of 自動化

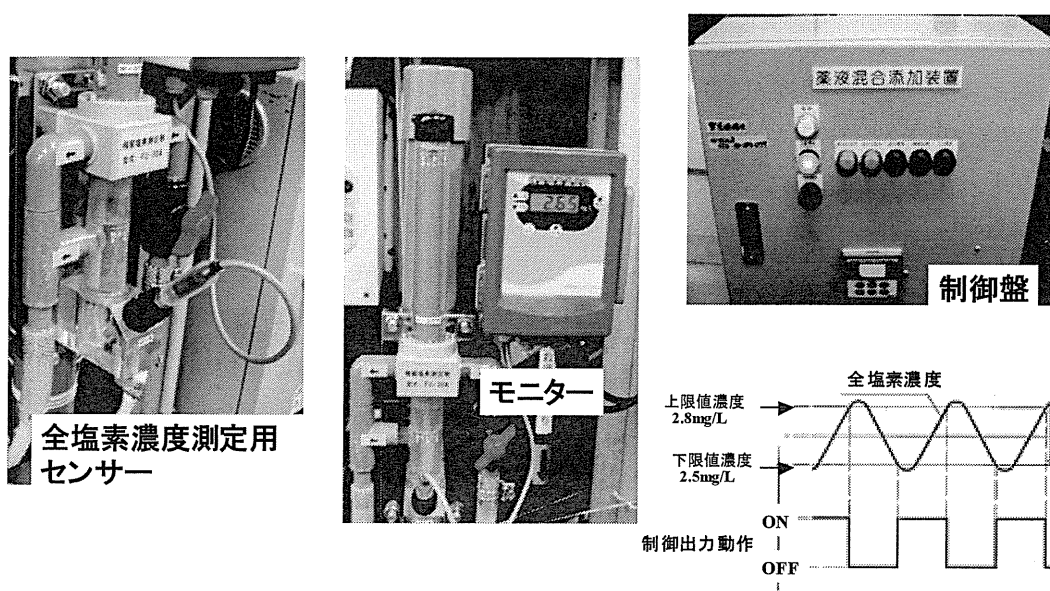


図2 全塩素濃度の測定と制御

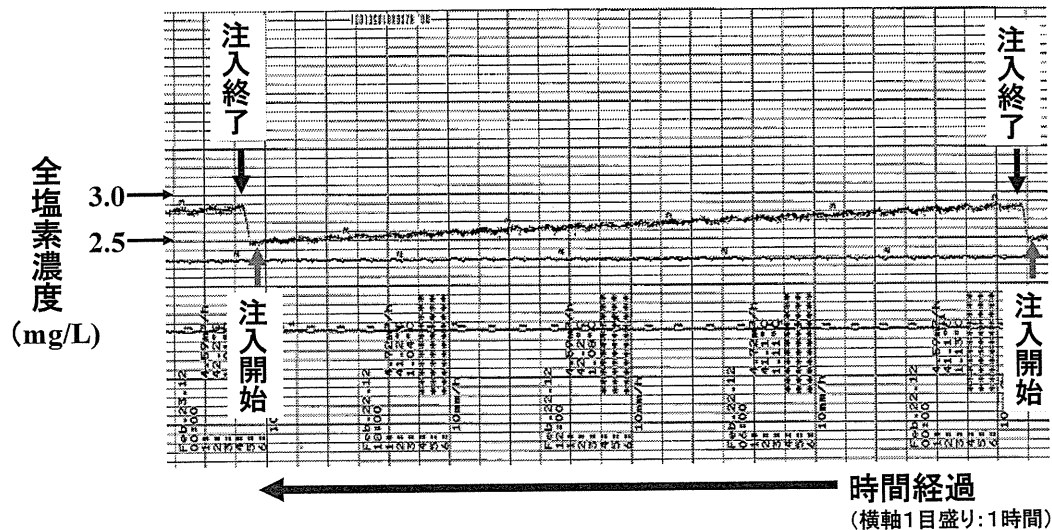


図3 無試薬型全塩素計で測定した全塩素濃度の記録
(チャート紙)

表1 モノクロラミン入浴実験採材計画

	(H.24. 1. 4 ~ 1.16)	浴槽水 (7検体) ・レジオネラ ・従属栄養細菌 ・アメーバ	無試薬型 全塩素計 モニター濃 度記録 (mg/L)	ポケット塩素計測定 ・全塩素濃度測定 ・モノクロラミン濃度 測定 ・残留塩素濃度測定 (mg/L)	水質分析用 浴槽水 (7検体) 500mL	ろ過器内水 (7検体) ・レジオネラ ・従属栄養細菌 ・アメーバ	浴槽水 (4検体) ・モノ、ジ、トリク ロラミン精密測定
1月4日(水)	モノクロラミン注入前	○ B 1	○	○	○ B 1	○ F 1	
"	" 自動注入濃度一定調整時	○ B 2	○	○	○ B 2	○ F 2	
"	濾材、配管、ヘアキャッチャー検査		○				
"	モノクロラミン管理 1日目入浴後	○ B 3	○	○	○ B 3	○ F 3	○ B 3
5日(木)	モノクロラミン管理 2日目入浴前	○ B 4	○	○	○ B 4	○ F 4	
6日(金)	モノクロラミン管理 3日目入浴前	○ B 5	○	○	○ B 5	○ F 5	○ B 5
10日(火)	モノクロラミン管理 8日目入浴前	○ B 6	○	○	○ B 6	○ F 6	○ B 6
16日(月)	モノクロラミン管理 14日目入浴前	○ B 7	○	○	○ B 7	○ F 7	○ B 7
"	濾材、配管、ヘアキャッチャー検査		○				
・モノクロラミン生成用原液 (0.6%次亜塩素素、1%塩化アンモニウム)をタンクに入れておき、切らさない。							
・細菌検査: ハイボ入り1L容器使用。レジオネラ、従属栄養細菌 (42℃)。希釈用の9mL D.W.を準備。							
・全塩素計モニター濃度の記録。井水の5倍希釈液を使った全塩素濃度、モノクロラミン濃度を各HACHデジタル測定器で測定し、記録。							

表2 循環ろ過式浴槽モデルでモノクロアミン自動測定自動注入時の各種塩素濃度測定結果								
	保健医療科学院					現地測定（ポータブル測定器）		
	遊離塩素	モノクロアミン	ジクロアミン	トリクロアミン		遊離塩素	モノクロアミン	全塩素
	DPD/FAS	DPD/FAS	DPD/FAS	DPD/FAS	HS-GC/MS	DPD(HACH)	MC(HACH)	DPD(HACH)
B 3	ND	2.1	ND	ND	ND	0.1	2.97	2.2
B 6	ND	2.2	ND	ND	ND	0.1	3.5	3.3
B 7	ND	2	ND	ND	ND	0.07	3.3	2.9
	ND: 不検出							

表3 浴槽水の有機物等の水質分析成績											
採水日時	試料名	項 目	色度	濁度	pH	電気伝導率	アンモニア態窒素	亜硝酸態窒素	硝酸態窒素	有機物	塩化物イオン
			度	度		mS/m	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
H24.1.4	モノクロアミン注入前	B1	0.5未満	0.1未満	8.3	17.6	0.17	0.01未満	0.44	0.3未満	2.0
H24.1.4	モノクロアミン注入前 自動注入濃度一定調整時	B2	0.5未満	0.1未満	8.3	18.7	0.82	0.01未満	0.42	0.3未満	4.3
H24.1.4	モノクロアミン管理 1日目入浴後	B3	0.5未満	0.1未満	8.4	19.3	1.23	0.01未満	0.40	0.3	6.0
H24.1.5	モノクロアミン管理 2日目入浴前	B4	0.5未満	0.1未満	8.6	19.7	1.32	0.01未満	0.38	0.5	6.6
H24.1.6	モノクロアミン管理 3日目入浴前	B5	0.5未満	0.1未満	8.4	20.7	1.84	0.01未満	0.38	0.7	9.6
H24.1.10	モノクロアミン管理 8日目入浴前	B6	0.5未満	0.1未満	8.7	22.2	2.31	0.01未満	0.41	1.2	12.3
H24.1.16	モノクロアミン管理 14日目入浴前	B7	0.5未満	0.1未満	8.7	24.6	3.27	0.01未満	0.42	1.9	18.2
有機物: TOC=全有機炭素(TOC)の量											

表4 モノクロラミン入浴実験のレジオネラ等検査結果(2012.1.4~1.16)

検査日	実験工程	検体	レジオネラ属菌 (CFU/100ml)	従属栄養細菌 (CFU/ml)	アメーバ (/50ml)
1月4日	モノクロラミン注入前	B1	<10	<10	0
	モノクロラミン注入前	F1	<10	<10	0
1月4日	モノクロラミン自動注入濃度一定調整時	B2	<10	<10	0
	モノクロラミン自動注入濃度一定調整時	F2	<10	<10	0
	モノクロラミン自動注入濃度一定調整時	ろ材	<10	<10	0
	モノクロラミン自動注入濃度一定調整時	HC	<10	<10	0
1月4日	モノクロラミン管理1日目入浴後	B3	<10	<10	0
	モノクロラミン管理1日目入浴後	F3	<10	<10	0
1月5日	モノクロラミン管理2日目入浴前	B4	<10	<10	0
	モノクロラミン管理2日目入浴前	F4	<10	<10	0
1月6日	モノクロラミン管理3日目入浴前	B5	<10	<10	0
	モノクロラミン管理3日目入浴前	F5	<10	<10	0
1月10日	モノクロラミン管理8日目入浴前	B6	<10	<10	0
	モノクロラミン管理8日目入浴前	F6	<10	<10	0
1月16日	モノクロラミン管理14日目入浴前	B7	<10	<10	0
	モノクロラミン管理14日目入浴前	F7	<10	<10	0
	モノクロラミン管理14日目入浴前	ろ材	<10	<10	0
	モノクロラミン管理14日目入浴前	HC	<10	<10	0