

平成 25 年度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
「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における
衛生管理手法に関する研究」
分担研究報告書

「公衆浴場の衛生管理等に関する検討」

研究代表者	倉 文明	国立感染症研究所
研究分担者	黒木俊郎	神奈川県衛生研究所
研究分担者	森本 洋	北海道立衛生研究所
研究分担者	磯部順子	富山県衛生研究所
研究分担者	烏谷竜哉	愛媛県立衛生環境研究所
研究分担者	緒方喜久代	大分県衛生環境研究センター

研究要旨

厚生労働省は、入浴施設に関連したレジオネラ属菌感染症を防ぐために、通知等をもって旅館ならびに公衆浴場等における入浴施設の衛生管理の徹底を図っている。一方、厚生労働科学研究費補助金事業の研究班では、入浴施設の衛生管理やレジオネラ属菌の検出法等に関する検討を重ね、多くの成果が得られている。そこで、本研究班ではワーキンググループを立ち上げ、これまでに実施された研究の成果等を踏まえ、入浴施設の衛生管理やレジオネラ属菌の培養法等について、活用が期待される研究成果を整理した。検討した内容は、1) 消毒法、2) 検査法(迅速検査法、斜光法、検査法の標準化)、3) 洗浄効果の簡易判定法、4) レジオネラ属菌汚染の指標とした。

A. 研究目的

公衆浴場においてレジオネラ属菌の感染を予防するためには、レジオネラ属菌の定着・増殖を防ぐことを目的とした入浴施設の衛生管理が不可欠である。厚生労働省は、関連する通知等をもって、旅館ならびに公衆浴場等におけるレジオネラ症防止対策の徹底を図っている。こうした通知に基づいて公衆浴場等の入浴施設の衛生管理が実施され、レジオネラ症発生の予防が行われて

いる。その一方で、さらなる衛生管理の向上を目指し、厚生労働科学研究費補助金研究事業において、国立研究機関と地方衛生研究所、大学、民間機関等の研究者により、これまでに種々の調査研究が行われてきている。そこで、本研究班ではワーキンググループを立ち上げ、これまでの研究成果の中から、その活用の提言に向けて、衛生管理のさらなる向上に必要となることが期待される成果を整理し、レジオネラ症発生の

予防に貢献することを目的として、本検討を実施した。

B. 研究方法

ワーキンググループには、本研究班の研究分担者である森本洋（北海道立衛生研究所）、黒木俊郎（神奈川県衛生研究所微生物部）、磯部順子（富山県衛生研究所）、烏谷竜哉（愛媛県立衛生環境研究所）および緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）が参加した。検討の際には、研究代表者の倉文明（国立感染症研究所細菌第一部）と情報共有を図り、必要に応じて研究班に参加する研究者に意見を求めた。

まず、レジオネラ症発生の予防を目的として、公衆浴場等の入浴施設の衛生管理等について、これまでに厚生労働科学研究費補助金事業により国立感染症研究所、国立医薬品食品衛生研究所および地方衛生研究所等の研究者が参加して実施した研究の成果を抽出した。これらの成果を、厚生労働省の発出した通知等の内容と照らし合わせ、現在の入浴施設等の状況を勘案しながら、衛生管理に有効な内容を取り上げ、活用されることを提案した。研究成果の内容を参照した研究事業を表1に示した。

C. 研究結果

レジオネラ症発生の防止を目的とした公衆浴場等の入浴施設における衛生管理に関連した研究班がこれまでに報告した成果の中で、今後積極的に活用されることが強く望まれる項目について、グループ内で協議を行った。衛生管理への活用が期待される

研究成果として以下の項目を取り上げた。

項目：1) 消毒法、2) 検査法（迅速検査法、斜光法、検査法の標準化）、3) 洗浄効果の簡易判定法、4) レジオネラ属菌の汚染の指標としての浮遊菌のATP測定。

それぞれの項目について、以下に概要と提案の内容を示す。

1) 消毒法について

浴槽水の消毒は現行では遊離残留塩素による消毒が奨められている。遊離残留塩素は濃度管理や取り扱いが容易である、幅広い病原微生物に有効であるといった長所がある一方で、消毒効果はpHの影響を受けやすい、化学的に不安定である、フミン質等により消費されやすい、温泉を利用する浴槽水の泉質を変えてしまう、特有の臭気が発生するといった短所がある。そこで、遊離残留塩素に代わる塩素系消毒剤としてモノクロラミンが取り上げられた。モノクロラミンによる浴槽水の消毒効果は、「公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究」（平成19～21年度 研究代表者 遠藤卓郎）および「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22～24年度 研究代表者 倉文明）の研究班で検討された。

研究により得られた具体的内容：結合型塩素であるモノクロラミンは化学的に安定で、濃度管理は遊離残留塩素よりも容易である。遊離残留塩素濃度0.2～0.4ppmの殺菌効果に匹敵させるには、モノクロラミン消毒では、結合塩素量として2～3mg/L程度に保つことが望ましい。これにより、ろ過器を含む浴槽施設内のレジオネラ属菌および宿主アメーバを消毒することが可能である。生物膜の生成を抑制することもでき

る。

2) 検査法について

(1) 迅速検査法

培養法によるレジオネラ属菌の検出には通常7日間程度の日数を要する。これでは、入浴施設等の衛生管理の適正性を判断するには時間がかかりすぎる。そこで、短時間でレジオネラ属菌の汚染・生息・存在の有無を判定できる迅速検査法が必要となった。迅速検査法に関する検討は、「循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究」(平成16~18年度 研究代表者 遠藤卓郎)、「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」(平成19~21年度 研究代表者 倉文明)および「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22~24年度 研究代表者 倉文明)において行われた。

研究により得られた具体的内容：レジオネラ属菌のDNAの抽出・回収を効率的に行い、検出感度が高く、操作が簡便な普及型の迅速検査法が入手可能になっている。迅速検査法は以下の目的で使用することが想定される。

1. 患者発生時の感染源調査(原因究明)
2. 改善措置後の陰性確認検査(営業再開の目安)
3. 洗浄効果の判定(陰性証明)等

迅速検査法には、菌の生死に関わらず遺伝子を検出する方法(生菌死菌検出法)と、生菌由来の遺伝子のみを検出する方法(生菌検出法)の2種類がある。市販の迅速検査法キットのほとんどは、前者(生菌死菌

検出法)の、死菌由来の遺伝子も増幅対象とするため、遺伝子検査法が陽性でも培養検査法が陰性になる場合があるが、採水当日に結果が判明し、死菌の存在を潜在的なリスクとして評価することが可能である。

生菌検出法は、液体培養による生菌の選択的増殖と化学修飾による死菌由来DNAの増幅抑制を組み合わせたもので、研究レベルの調査や行政対応等に適した検査法と想定される。この方法では採水翌日に培養検査結果の予測が可能となるが、菌数が少ない場合には培養検査と食い違う場合がある。研究班の成果を取り入れたLC-EMA-qPCR法キットが市販されている。

(2) 検査法の標準化

レジオネラ属菌の培養検査の技術の向上を図り、検査を実施する機関間の検査技術のレベルを均等化するために、研究班において外部精度管理実施の検討を行った。その検討において、個々の機関において実施されている検査の内容を調査するとともに、検査レベルの差が生じる原因を追及した。その結果、検査で使用する選択培地の種類、試料の濃縮法や前処理法、鑑別法等が実施機関により様々であることが明らかとなり、それが検査レベルの差と関連している可能性が浮かび上がった。そのため、検査法を標準化することが必要となり、検査法の標準化については「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22~24年度 研究代表者 倉文明)において検討された。

研究により得られた具体的内容：培養検査法は各工程において種々のオプションがあり、これが検査結果のばらつきの原因の

一因とされている。今後導入することが推奨される検査法として、「検体採取から検査実施」、「ろ過濃縮法」、「冷却遠心法」、「前処理」、「培養」の各工程ごとの標準的方法を提唱した。「検体採取から検査実施」では、採水容器、採水量、塩素の中和処理を定め、確実な採水を求めている。濃縮法は「ろ過濃縮法」および「冷却遠心法」を併記しているが、「ろ過濃縮法」を推奨している。さらに、ろ過濃縮に使用するメンブランフィルターの材質と孔径を定めた。「前処理」として酸および加熱による処理に加え、無処理検体の検査実施を求めた。「培養」では、濃縮検体とともに非濃縮検体の検査実施、集落観察に後述の斜光法を導入することを提唱した。

(3) 斜光法

レジオネラ属菌の培養検査では、培養時間が長いため、少しでも短い日数で寒天平板上のレジオネラ属菌の集落を形態観察により他の菌種と区別し、迅速かつ容易に鑑別・同定することが可能になることが望まれていた。しかし、通常の観察法により平板培地上の集落を区別することは検査の経験を要する。そこで、寒天平板上の集落の鑑別を容易にするために斜光法が開発された。培養検査法への斜光法の導入については、「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」(平成 19~21 年度 研究代表者 倉文明)および「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 22~24 年度 研究代表者 倉文明)において検討された。

研究により得られた具体的内容：斜光法

は平板上の集落に斜め上から観察用の光を当てて実体顕微鏡により集落を観察し、レジオネラ属菌の特徴的な外観から他の菌と形態的に鑑別する方法である。培養の早期に特徴が現れるため、簡易に迅速で的確な鑑別と計数が可能になる。実際に、検査を実施している地方衛生研究所に試行的に導入したところ、その有効性が証明され、斜光法を広く普及させることが望まれた。

3) 洗浄効果の簡易判定法について

浴槽におけるレジオネラ属菌の汚染を取り除き、その増殖を抑えるためには、浴槽の洗浄・消毒により浴槽の壁面や床の表面の生物膜を取り除くことが極めて有効である。しかし、洗浄・消毒の適正性は容易に判定することは困難であった。そこで、浴槽の洗浄効果の簡易判定法としての ATP ふき取り検査が提案された。ATP ふき取り検査の評価は、「掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究」(平成 17~18 年度 研究代表者 井上博雄)において行われた。

研究により得られた具体的内容：ATP 拭き取り検査を行うことにより、浴槽壁等の生物膜の残存量を現場で迅速に確認できることを報告した。浴槽壁等の 10cm 四方を専用綿棒で拭き取った時の清浄度基準値(1000RLU)が提案されており、この値以上であれば拭き取り試料中のレジオネラの検出率が有意に増加することが確認された。この方法を利用すると、汚染場所が特定でき、洗浄効果が確認できるため、洗浄方法の最適化が可能となる。さらに、高圧洗浄に頼るよりもブラシ主体の洗浄が効果的で、またブラシ後の高濃度塩素消毒が有効であ

り、目地は洗浄しにくいというデータが得られた。

4) レジオネラ属菌汚染の指標としての浴槽水中の浮遊菌の ATP 測定について

遊離残留塩素やその他の消毒法を実施している浴槽であっても、消毒剤の濃度等の調整不良等によりレジオネラ属菌が増殖することがある。そのため、日常的にレジオネラ属菌の汚染・増殖の有無を監視することは、入浴施設の衛生管理に HACCP の要素を取り入れるという観点からも優先されるべき事項であり、レジオネラ症発生の予防のために重要な課題である。ところが、レジオネラ属菌の汚染・増殖の有無を判定するための培養検査には日数を要する、遺伝子検出のための迅速検査法は短時間で結果が得られるが特別な試薬と設備を要するといった問題があり、入浴施設において日常的に手軽に実施できる検査ではない。こうした背景から、泉質の成分を分析する中で、短時間培養検査としての一般細菌数がレジオネラ属菌汚染の指標となることが、掛け流し式温泉について「温泉の泉質等に対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究」(平成 18 年度 研究代表者 倉文明)において定量化された。

さらに、入浴施設の現場において日常的にレジオネラ属菌の汚染・増殖の有無をリアルタイムに判定することができる簡易検査法として、浴槽におけるレジオネラ属菌の増殖の指標として浮遊菌の ATP 測定の導入が検討された。この測定法の評価は、「掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究」(平成 17～18 年度 研究代表者 井上博雄)および「迅

速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」(平成 19～21 年度 研究代表者 倉文明)において行った。

研究により得られた具体的内容：浴槽水の ATP 値は浴槽水中の菌類の増殖の指標であり、レジオネラ属菌の検出の有無と有意に関連していることが明らかとなった。浴槽水の ATP 量を迅速簡易測定器で測定することでレジオネラ属菌の増殖の指標とすることが報告されています。日常の浴槽水の管理に有効な手段となる。

D. 考察

厚生労働省は、「建築物等におけるレジオネラ症防止対策について(平成 11 年 11 月 26 日付生衛発第 1679 号厚生省生活衛生局長通知)」、「公衆浴場における衛生等管理要領等について(平成 12 年 12 月 15 日生衛発第 1811 号厚生省生活衛生局長通知)」、「公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について(平成 15 年 2 月 14 日付健発第 0214004 号厚生労働省健康局長通知)」、「レジオネラ症を予防するために必要な措置に関する技術上の指針(平成 15 年 7 月 25 日厚生労働省告示第 264 号)」等により公衆浴場等におけるレジオネラ症の発生を予防するための対策として、衛生管理の内容を示している。

衛生管理の基本は 微生物の繁殖及び生物膜等の生成の抑制、設備内に定着する生物膜等の除去、エアロゾルの飛散の抑制としている。これらに加えて、衛生管理の適正性を判断するために、年 1 回以上のレジオネラ検査が必要としている。これら

の概要を表 2 に示した。これまで入浴施設の衛生管理は厚生労働省の通知に基づいて実施され、レジオネラ症の発生を予防してきている。

レジオネラ症の発生を予防するための種々の検討を行った厚生労働補助金事業での研究班では、予防対策をさらに確実にを行うための調査研究や検討を行い、研究報告書により提案・提言を行ってきた。今回、ワーキンググループを立ち上げ、これまでの研究班の成果が公衆浴場等の衛生管理に導入されることを改めて提言するための検討を行った。ワーキンググループにより成果として取り上げられたのは、塩素系薬剤による消毒法、レジオネラ属菌検査法、洗浄効果の簡易判定法、レジオネラ属菌汚染の指標としての浴槽水中の浮遊菌の ATP 測定であった。これらの成果が、入浴施設の衛生管理の向上に活用されることが期待される。

E. 結論

厚生労働科学研究費補助金研究事業において、国立研究機関と地方衛生研究所、大学、民間機関等の研究者により実施された、入浴施設におけるレジオネラ症発生の予防のための研究の成果を整理し、今後の入浴施設における衛生管理の向上のために活用が期待される研究成果をまとめた。具体的には、1) 消毒法、2) 検査法(迅速検査法、斜光法、検査法の標準化)、3) 洗浄効果の簡易判定法、4) レジオネラ属菌汚染の指標としての浴槽水中の浮遊菌の ATP 測定とした。これらの成果が入浴施設の衛生管理に活用され、入浴施設関連のレジオ

ネラ症の発生が予防されることが期待される。

F. 参考文献

なし

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表2 公衆浴場等の入浴施設におけるレジオネラ症発生予防のための対策の概要

微生物の繁殖及び生物膜等の生成の抑制

構造、設備上の措置

60 以上にするための加熱装置の設置、塩素系消毒装置の設置

循環する浴槽水の注入口の設置位置

回収槽水の浴用不使用、

維持管理上の措置

消毒(浴槽水の消毒は遊離残留塩素濃度を0.2~0.4ppmに保つ)、ろ過器の直前に塩素系薬剤を投与、温度管理(貯湯槽水は60 以上)、

毎日換水(少なくとも1週間に1回以上の完全換水)

設備内に定着する生物膜等の除去

ろ過器・循環配管の消毒、清掃、貯湯槽の清掃・消毒

エアロゾルの飛散の抑制

打たせ湯・シャワー水の制限、気泡発生装置・ジェット噴射装置の空気取り入れ口の設置位置、

レジオネラ属菌検査

年1回以上の検査の実施

表 1 研究成果を参照した *Legionella* 感染発生予防のための入浴施設等の衛生管理に関する研究事業

研究課題名	実施年度	研究代表者名
循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究	平成 16～18 年度	遠藤卓郎
掛け流し式温泉における適切な衛生管理手法の開発等に関する研究	平成 17～18 年度	井上博雄
温泉の泉質等に対応した適切な衛生管理手法の開発に関する研究	平成 18 年度	倉 文明
公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究	平成 19～21 年度	遠藤卓郎
迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究	平成 19～21 年度	倉 文明
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 22～24 年度	倉 文明