

平成 30 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）
公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究
研究代表者 前川 純子（国立感染症研究所 細菌第一部）

分担研究報告書

モノクロラミン消毒のアルカリ性温泉への応用

研究分担者	泉山 信司	国立感染症研究所 寄生動物部
研究分担者	長岡 宏美	静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
研究協力者	柳本 恵太	山梨県衛生環境研究所 微生物部
研究協力者	山上 隆也	山梨県衛生環境研究所 微生物部
研究協力者	植松 香星	山梨県衛生環境研究所 微生物部
研究協力者	久田 美子	山梨県衛生環境研究所 微生物部
研究協力者	森 康則	三重県保健環境研究所 衛生研究課
研究協力者	赤地 重宏	三重県保健環境研究所 微生物研究課
研究協力者	永井 佑樹	三重県保健環境研究所 微生物研究課
研究協力者	西尾 正也	花王株式会社 ハウスホールド研究所
研究協力者	山本 哲司	花王株式会社 ハウスホールド研究所
研究協力者	八木樹里奈	花王株式会社 ハウスホールド研究所
研究協力者	杉山 寛治	株式会社マルマ 研究開発部
研究協力者	田中 慶郎	株式会社マルマ PC 営業部
研究協力者	市村 祐二	ケイ・アイ化成株式会社 機能性薬品部

研究要旨

pH が高い温泉施設では従前より遊離塩素による消毒が困難であったが、これまでの研究成果としてモノクロラミン消毒であれば有効なことが実験的に明らかになってきた。本研究では pH8 から 10 の 3 浴場施設にモノクロラミン消毒を適用し、改めてその効果を確認した。モノクロラミンは高濃度溶液の保存ができないので現場調製を要するが、機械的に行うには初期投資が問題となる。そこで手投入の方法を用意して、うち 2 施設に適用して消毒が可能であることを確認した。モノクロラミン消毒の普及を企図して、一般利用者と業者向けの解説に、次の Web ページを用意した

(https://sites.google.com/view/legionella-resgr/monochloramine_index)

A. 研究目的

レジオネラ症の報告数は年々増加しており、2018 年の速報値では 2,000 件を超えている。レジオネラ症の主な感染源は公衆浴場等の浴槽水とされ、次亜塩素酸ナトリウム（塩素）による浴槽水の消毒が指導されているが、鉄、マンガン、アンモニア態窒素が存在している場合や、特に

高 pH の浴槽水では消毒効果が減弱し、レジオネラ汚染に苦慮している¹⁾。

結合塩素の一種であるモノクロラミンは、従来の遊離塩素消毒に代わる消毒法として期待されている^{2)~4)}。これまでに毎日換水している pH10 のアルカリ性温泉においてもモノクロラミン消毒の有効性を確認しているが、例数がまだ少なく、

さらなる実績が求められている。モノクロラミンは高濃度溶液の保存がきかないことから現場調製を要するが、経済的な負担のある自動装置だけでなく、初期投資が抑えられる手投入があればより好ましい。モノクロラミンの単語は、臭気の原因となる(有機)クロラミンと混同される恐れがあり、モノクロラミン消毒の詳細について、一般利用者や事業者の理解を得ることも必要になってきた。例えば、モノクロラミン自体に臭気はほとんどなく、遊離塩素消毒に比べていわゆる塩素臭がしないことが利点であるといったことである。

そこで本研究では、多様な温泉施設の規模や形態を考慮しつつ、高 pH の温泉、換水頻度の低い温泉や、小規模な温泉での検証を進めることを目的とした。加えて、これまで得られた成果を平易な文章にまとめて、WEB ページにアップロードし、普及に資することも企図した。

B. 研究方法

当該研究では3営業施設の協力を得た。いずれの施設においても、利用者への配慮として、モノクロラミン消毒を実施している旨を掲示した。

施設 1 pH10 の公衆浴場に自動装置

pH10 の温泉水を使用している公衆浴場に、協力を依頼した(表 1)。試験対象は男湯女湯それぞれ 1 つの浴槽(同一系統、容量約 26 m³)のみとし、他は従来の遊離塩素消毒で管理した。浴槽は循環式で、常時少量の源泉水が供給されていた。モノクロラミン生成装置(ケイ・アイ化成)を設置し、6 週間の実証試験を行った。モノクロラミン濃度は 3 mg/L を下回らないよう、タイマー式の一定量添加で管理した。浴槽水の全残留塩素を、毎日正午と 14 時頃に測定した。週に 1 回の完全換水をしており、それにあわせて 15~20 mg/L の高濃度のモノクロラミンで一晩配管を消毒した。消毒後はチオ硫酸ナトリウムにより塩素を中和し、排水した。試験前に 1 回、期間中は週に 1 回、浴槽水の採水と配管のふきとりを行った。調査期間中に 1 日で 50 名弱の利用客の入浴があった。

施設 2 pH10 の公衆浴場で手投入

pH10 の温泉水を使用している公衆浴場に、協力を依頼した(表 2)。当該研究では現場での簡便なモノクロラミンの調製方法として、図 1 の方法を考案した。具体的には、アンモニア系顆粒と次亜塩素酸系顆粒を十分量の水道水に溶解し、生成したモノクロラミンを浴槽水に加えた。モノクロラミン濃度は 1 時間に 1 回測定を行い、3 mg/L を下回らないよう濃度を管理した。試験前に 1 回、4 日間の試験期間中は毎日、採水と配管のふきとりを行った。施設の浴槽は複数あるが、試験対象は露天風呂(容量約 3 m³)とし、他の浴槽水は従来の遊離塩素消毒で管理した。調査期間中に 1 日で 100~200 名の利用客の入浴があった。なお、浴槽水は循環式で、毎日換水し、清掃が行われた。

施設 3 pH8 の温泉施設で手投入

施設と同一敷地内から湧出するナトリウム - 塩化物温泉を原湯として用いている(表 3)。同温泉水には、約 4~5 mg/L のアンモニウムイオンが含まれ、遊離塩素消毒が困難な水質であった。試験は 5 日間実施した。1 日目の朝から 5 日目の夜まで、同一温泉水による循環ろ過を継続し、手投入のモノクロラミンを用いて、浴槽水内のモノクロラミン濃度を 3 mg/L 以上を目安に調整した。この施設では通常、浴槽に温泉水を継ぎ足しながら利用していたが、本研究期間中は継ぎ足しを停止し、換水も行わないこととした。浴槽の大きさは 5.6m³ で、調査期間中に 100 名前後の利用客の入浴があった。浴槽水を、每晚営業終了後(PM11:00 過ぎ)に採取した。

分析方法

微生物試験用の水試料はチオ硫酸ナトリウムを添加した滅菌容器に採水し、細菌培養用は冷蔵、アメーバ培養用は常温にて搬送・保存した。レジオネラ属菌は、0.20 μm フィルターでろ過濃縮した 100 倍濃縮液を、ふきとり検体は懸濁した原液を、それぞれ熱処理または酸処理し、

GVPC 寒天培地で 36、7 日間培養した。大腸菌群は浴槽水 100 mL を EC ブルー100P「ニッスイ」、一般細菌数は標準寒天培地を用いて 36、24 時間培養した。従属栄養細菌数は、R2A 寒天培地を用いた混釈培養の 42、14 日間で求めた。アメーバは、浴槽水原液および 1,000 × g、5 分間で 50 倍に遠心濃縮した浴槽水から、大腸菌塗布無栄養寒天培地を用いて、42 で 14 日間培養した。

pH(ガラス電極式 pH メーター、堀場)、遊離残留塩素と全残留塩素(DPD 法によるポケット残留塩素計、HACH 社)、モノクロラミン(インドフェノール法によるポケットモノクロラミン・アンモニア計、HACH 社)の測定を行った。アンモニア態窒素は、上記ポケットモノクロラミン・アンモニア計、あるいはインドフェノール法により波長 640 nm の吸光度(紫外可視分光光度計、SHIMADZU UV-2450)から測定した。施設 3 では TOC(全有機炭素計、SHIMADZU TOC-V CPH)も測定した。

C. 研究結果および考察

施設 1 pH10 の公衆浴場に自動装置

湯温は 40 前後、pH は 9.42 ~ 10.06 であり、実証試験前における遊離残留塩素は 1 mg/L 程度、ただし全残留塩素濃度は 2.5 mg/L であった(表 4)。試験管内では、遊離塩素消毒に比べて、モノクロラミン消毒は安定であった(図 2)。ただし、180 分間で 3 ~ 4 mg/L 低下しており、全く消費されないわけではなかった。

モノクロラミン消毒試験の 6 日目に薬液不足、30 日目に停電、多くの入浴者の一度の入浴などの影響があり、全残留塩素濃度が 3 mg/L を下回ることがあった(図 3)。モノクロラミンは遊離塩素と比較して安定性はあったが、源泉水が常時供給されていたことから、濃度が低下する時間帯が生じた。濃度確認が 12 時と 14 時の 2 回は少なく、より高頻度な測定が必要と考えられた。費用をかけられるほど高性能な自動化が可能だが、費用を抑えた簡易な装置での維持管理は厄介であった。

モノクロラミン濃度が一時的に低下することはあったが、レジオネラ属菌は試験期間中の全ての浴槽水、配管ふきとり検体において検出されなかった。レジオネラ属菌増殖の温床となるアメーバ、衛生指標菌である大腸菌群についても、全て不検出であった。一般細菌数と従属栄養細菌数は、実証試験前と比較すると、濃度低下があった試験 6 日目に一時増加したものの、その後は適切な濃度管理や一晩での高濃度モノクロラミン消毒により、10 CFU/mL 未満を維持することができた(表 4)。

施設 2 pH10 の公衆浴場で手投入

湯温は 40 前後、pH は 9.85 ~ 10.94 であり、実証試験前における遊離残留塩素は 0.6 mg/L であった(表 5)。

浴槽水のモノクロラミン濃度は午前中 1 回、午後 2 回の追添加により、いずれの試験日においても 3 mg/L 以上を 10 時間維持することができた(図 4)。手投入によっても、モノクロラミン消毒を維持できた。

レジオネラ属菌は実証試験前の浴槽水から 100 CFU/100mL 検出されたが、試験期間中には全ての浴槽水において検出されなかった(表 5)。また、配管ふきとり検体については全ての検体でレジオネラ属菌は検出されなかった。さらに、レジオネラ属菌増殖の温床となるアメーバ、衛生指標菌である大腸菌群については、全て不検出であった。一般細菌数と従属栄養細菌数は、実証試験前後を比較すると、いずれも全ての検体において減少した。

施設 3 pH8 の温泉施設で手投入

モノクロラミン濃度は、日によって添加量とタイミングを検討しながら、営業時間内は 3 mg/L 以上を維持するようにした(図 5)。源泉の pH は 7.3 と低かったが、時間の経過とともに 8.5 まで上昇した(表 6)。

モノクロラミン消毒中のレジオネラ属菌は、いずれも陰性であった(表 6)。しかしながら、同一検体中の一般細菌数、従属栄養細菌数は、経

日的な菌数の増加が認められた。レジオネラ属菌以外の何らかの細菌が、モノクロラミンに対して一定の抵抗性を有し、増加したと示唆された。

モノクロラミンの濃度管理に伴って、pH の上昇、アンモニウムイオン濃度の上昇、TOC の上昇がそれぞれ認められた。これらの濃度上昇は、モノクロラミンの添加と、入浴者の垢に由来するものと考えられた。浴槽水中の有機物濃度が高くなれば、その有機物を捕食する細菌の増殖リスクが考えられる。換水や洗浄等の衛生管理に留意する必要があると考えられた。

以上の通り、pH8 から 10 の浴槽水において、機械的な添加と手投入のいずれによっても、モノクロラミン消毒はレジオネラ属菌を抑制し、遊離塩素管理に比較して、衛生状態を良好に維持できた。換水頻度が低くても、レジオネラ属菌を抑制できていたが、雑菌の増殖、すなわちバイオフィルムの蓄積が心配されることから、洗浄はしっかり行う必要があると考えられた。

これまで本研究で得られた成果を、一般利用者と営業者に向けて平易な表現で記述し、Web ページで公開した。アドレスは、以下の通り、https://sites.google.com/view/legionella-res-gr/monochloramine_index Google 検索で「レジオネラ研究班 google sites」と入れると、トップヒットしている(2019 年 3 月 13 日時点)。モノクロラミン消毒の活用が期待される。

D. 結論

pH8 から 10 のアルカリ性の浴槽水において、モノクロラミン消毒の実績を積むことができた。装置による機械的な生成と、手投入のいずれにおいても、モノクロラミン濃度の維持と、レジオネラ属菌の抑制が可能であった。換水頻度が低い場合は特に、雑菌の増殖、すなわちバイオフィルムの蓄積が心配され、換水と洗浄を徹底する必要性が示唆された。モノクロラミン消毒の活用を期待して、Web ページに解説を用意した。

E. 謝辞

本研究にご協力いただいた営業施設、管轄保健所衛生課に深く感謝します。

F. 参考文献

1. 杉山寛治, 小坂浩司, 泉山信司, 懸邦雄, 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, (2010), 109~115
2. 杉山寛治, 長岡宏美, 佐原啓二, 神田隆, 久保田明, 懸邦雄, 小坂浩司, 前川純子, 遠藤卓郎, 倉文明, 八木田健司, 泉山信司: モノクロラミン消毒による掛け流し式温泉のレジオネラ対策, 防菌防黴, 45, (2017), 295~300
3. 長岡宏美, 泉山信司, 八木田健司, 「社会福祉施設の入浴設備におけるモノクロラミン消毒実証試験と浴槽水から分離される従属栄養細菌について」, 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「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究(研究代表者、前川純子)」より、平成 28 年度分担研究報告書
4. 田中忍, 中西典子, 野本竜平, 有川健太郎, 濱夏樹, 岩本朋忠, 温泉水におけるモノクロラミン消毒効果の検証, 神戸市環境保健研究所報, 第 46 巻, 39-42 頁, 2018

G. 研究発表

誌上発表

なし

口頭発表

1. 柳本恵太, 堀内雅人, 杉山寛治, 田中慶郎, 市村祐二, 山上隆也, 植松香星, 久田美子, 泉山信司: pH10 のアルカリ性温泉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 45 回年次大会, 2018 年 11 月, 東京都
2. 柳本恵太: 県内の公衆浴場におけるモノ

クロラミン消毒検証について、山梨県衛生環境研究所感染症等研修会、2018年11月1日

知的所有権の取得状況
特許申請、実用新案登録、その他
なし

表1 施設1の源泉成分

項目	分析値	項目	分析値
pH	9.93	※硫黄	< 0.1 ppm
アンモニア態窒素	< 0.1 ppm	チオ硫酸イオン	2.5 ppm
総鉄イオン	0.1 ppm	塩化物イオン	7.6 ppm
マンガンイオン	< 0.1 ppm		

※硫化水素 (H₂S)、硫化水素イオン (HS⁻)、硫化物イオン (S₂⁻) の合計値

表2 施設2の源泉成分

項目	分析値	項目	分析値
pH	10.17	遊離硫化水素	< 0.1 ppm
アンモニア態窒素	< 0.1 ppm	チオ硫酸イオン	< 0.1 ppm
鉄 () イオン	0.03 ppm	硫化水素イオン	< 0.1 ppm
マンガンイオン	0.01 ppm		

表3 施設3の源泉成分

項目	分析値	項目	分析値
pH	7.3	硫黄	< 0.1 ppm
アンモニア態窒素	3.3 ppm	チオ硫酸イオン	< 0.1 ppm
総鉄イオン	4.5 ppm	塩化物イオン	4,025 ppm
マンガンイオン	2.3 ppm		

硫化水素 (H₂S)、硫化水素イオン (HS⁻)、硫化物イオン (S₂⁻) の合計値

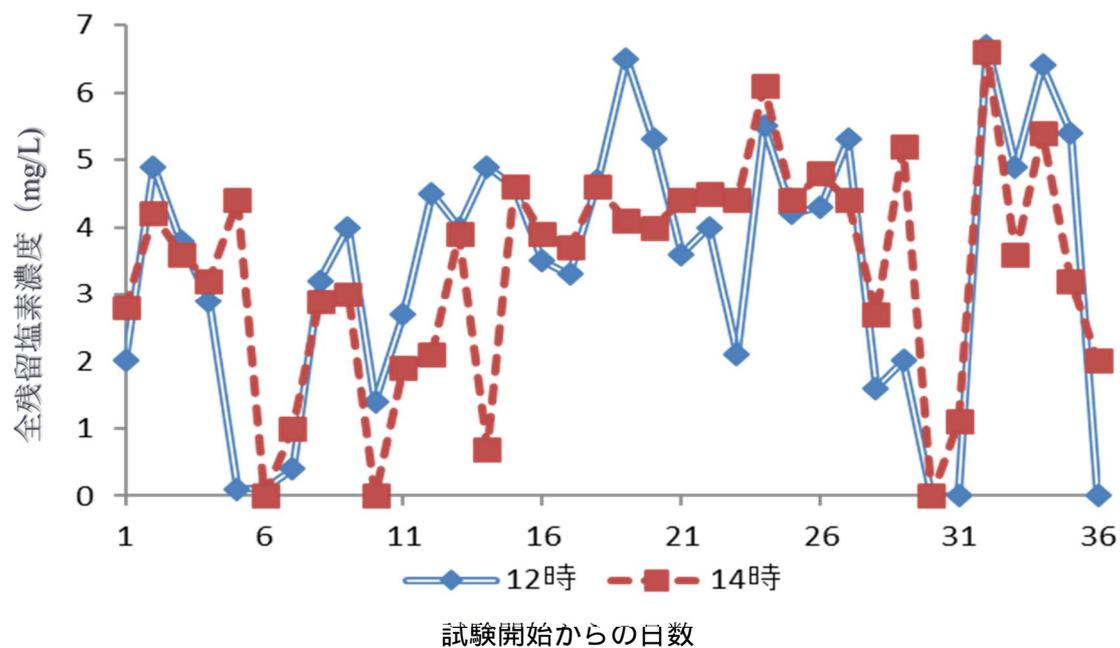


図3 施設1浴槽水の全残留塩素濃度の推移

表4 施設1における各種検査結果

検査項目	モノクロラミン 導入前 (10/15)	採水1回目 (10/22)	採水2回目 (10/29)	採水3回目 (11/5)	採水4回目 (11/12)	採水5回目 (11/26)
レジオネラ属菌数 (CFU/100 mL)	<10	<10	<10	<10	<10	<10
レジオネラ属菌 (ヘアキャッチャー配管ふきとり)	不検出	-	不検出	不検出	不検出	不検出
アメーバ数 (/ 50 mL)	0	0	0	0	0	0
大腸菌群 (/ 100 mL)	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
一般細菌数 (CFU/mL)	0	1	1	2	0	0
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	5	370	6	6	4	4
pH	9.95	9.42	9.57	9.96	9.97	10.06
遊離残留塩素 (mg/L)	1.05	0.05	0.03	0.02	0.1	0.05
全残留塩素 (mg/L)	2.5	1.1	2.8	4.0	4.7	5.8
モノクロラミン (mg/L)	-	1.21	3.06	4.60	4.4	3.86
アンモニア態窒素 (mg/L)	-	3.0	1.7	3.9	0.93	8.7

* - : 測定なし

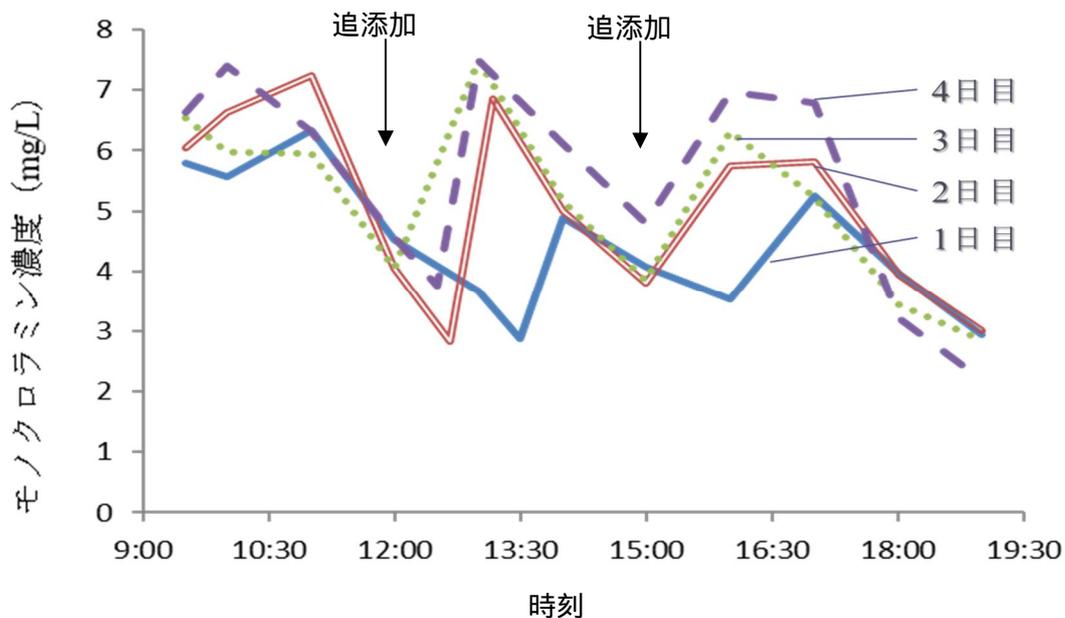


図4 施設2の浴槽水のモノクロラミン濃度

表5 施設2における浴槽水、配管ふきとり検体の検査結果

検査項目	モノクロラミン 導入前 (7/29)	採水1回目 (7/30)	採水2回目 (7/31)	採水3回目 (8/2)	採水4回目 (8/3)
レジオネラ属菌数 (CFU/100 mL)	100	不検出	不検出	不検出	不検出
レジオネラ属菌 (ヘアキャッチャー配管ふきとり)	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
アメーバ数 (/ 50 mL)	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
大腸菌群 (/ 100 mL)	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
一般細菌数 (CFU/mL)	15	1	9	6	5
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	118	0	5	1	9
pH	10.29	10.94	9.85	10.02	9.87
遊離残留塩素 (mg/L)	0.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
全残留塩素 (mg/L)	0.7	3.2	3.4	3	2.3
モノクロラミン (mg/L)	-	2.95	3	2.86	2.19
アンモニア態窒素 (mg/L)	-	0	0	0	0.04

* - : 測定なし

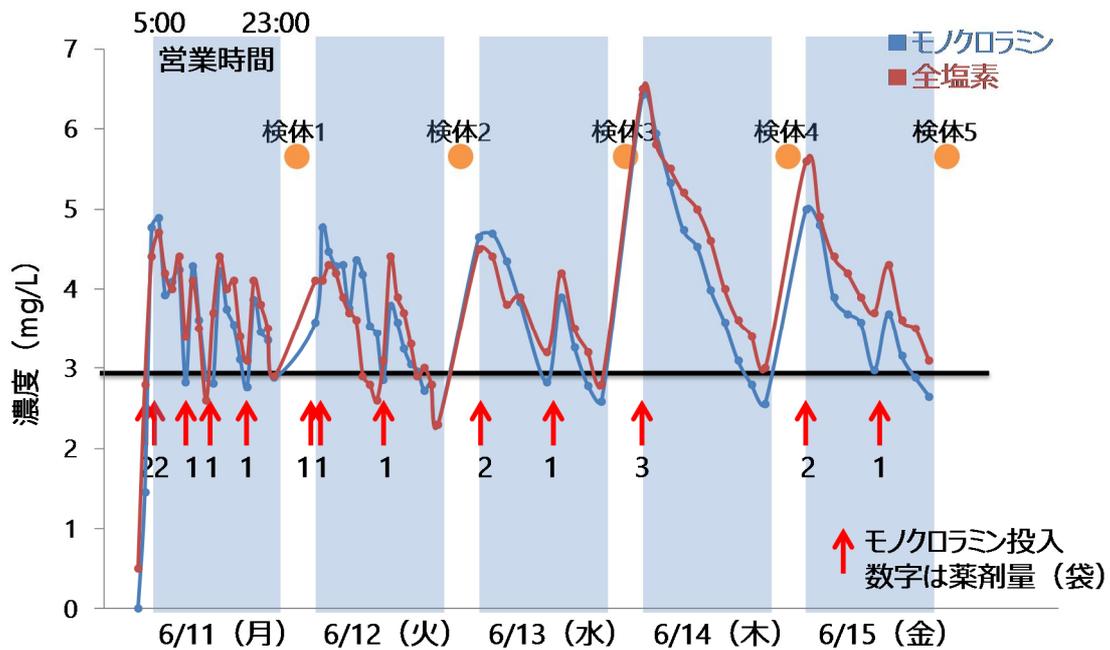


図5 施設3における塩素濃度の推移

表6 施設3における分析結果

日数*	1日後	2日後	3日後	4日後	5日後
pH	8.15	8.34	8.44	8.50	8.54
NH ₄ -N (mg/L)	6.6	7.2	7.7	8.6	8.9
TOC (mg/L)	8.2	10.4	14.1	16.4	19.0
レジオネラ属菌数 (CFU/mL)	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
一般細菌数 (CFU/mL)	不検出	27	16	4	1,080
従属栄養細菌 (CFU/mL)	4	31	14	26	210

日数は、実験開始（モノクロラミン消毒を開始）からの日数を示し、図5の検体1から5に対応する