

令和元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)
公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究

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を導入した循環式浴槽を洗浄する必要性

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	枝川亜希子	地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所
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	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
研究協力者	茶山 忠久	ケイ・アイ化成株式会社 機能性薬品部
研究協力者	藤井 明	株式会社ヘルスビューティー
研究協力者	斎藤 利明	株式会社ヤマト 温浴事業部
研究協力者	小坂 浩司	国立保健医療科学院 生活環境研究部

研究要旨

pH9 以上の高 pH の温泉水に対して、次亜塩素酸ナトリウムが消毒剤として使用されると、高 pH 等が理由で消毒効果が減弱し、レジオネラ属菌の増殖が問題となることがある。これを回避すべく、高 pH においてもレジオネラ属菌への消毒効果が発揮される、モノクロラミン消毒の活用が進められている。ところがモノクロラミンを長期に使用すると、浴用水中の従属栄養細菌数が増加することがある。そこで本研究では、従属栄養細菌数の増加の再現と、洗浄・消毒の必要性について検討した。協力を得た 2 箇所の営業施設はいずれも高 pH の温泉水を循環利用している施設で、モノクロラミン消毒を行い、洗浄、消毒、換水をしながらか 6~7 週間の試験を行った。入浴中のモノクロラミン濃度が 3~6 mg/L、週に 1~3 回の完全換水と浴槽の清掃、ろ過器の 10~30 分間の逆洗、10~

20 mg/Lの高濃度消毒を行った。浴用水は、レジオネラ属菌、大腸菌群ともに陰性であったが、従属栄養細菌数は増加した。モノクロラミン消毒はレジオネラ属菌の制御に有用だが、従属栄養細菌数が増加する問題が再現され、循環式浴槽には、より強力な洗浄・消毒が必要と考えられた。

A. 研究目的

昔の入浴施設は、毎日の洗浄と換水が行われ、塩素消毒はされていなかった。ところが浴槽水を連続的に使用し続ける循環ろ過の方法が導入されるようになり、いつしか洗浄や換水の頻度が週1回程度（あるいはさらに低頻度）と、衛生管理の状態が悪化していった様である。レジオネラ属菌による集団感染が生じて循環式浴槽の問題が明らかとなり、緊急避難的に遊離塩素消毒が導入された¹⁾。ところが高pHの温泉水等では遊離塩素消毒の効果が減弱し、レジオネラ属菌が検出され、必ずしも遊離塩素消毒だけでは解決できない場合が指摘された。

遊離塩素消毒に代わって、モノクロラミン消毒であれば、高pHであっても消毒効果が得られて、レジオネラ属菌の不検出が維持可能となった^{1,2)}。ところが、従属栄養細菌数が増加し、バイオフィルムの蓄積が懸念されている³⁾。ろ過器に蓄積する汚れは逆流洗浄（逆洗）により除き、浴槽も週に1回の完全換水と清掃が現行の指針では最低限求められているが⁴⁾、果たしてそれで足りているかが問題となる。ろ過器のろ材が交換されることは稀であり、ヒトの垢の汚れが蓄積している。

本研究では、三重県内と山梨県内の温泉営業施設の協力を得て、実地試験を行った。いずれの温泉においても、pH9～10の高pH

の温泉を利用している。入浴中のモノクロラミン消毒に加えて、定期的なろ過器の逆洗、浴槽の洗浄、高濃度のモノクロラミン消毒を行い、従属栄養細菌数の上昇が防がれるよう、管理の徹底に努めた。

B. 研究方法

施設1 高pH温泉水を用いた大容量浴槽

(1) 対象施設

三重県内のpH9.5の温泉水（表1）を利用する施設において、男女の浴槽がそれぞれ連通管で接続されている循環系統内容量約30m³の浴槽（写真1・2）を研究対象とした。同施設は砂ろ過方式であり、毎営業日に逆洗処理を行うとともに、週1回の休館日に完全換水および浴槽清掃を行っている。

ろ過器の逆洗浄は、毎営業日の営業時間外に行った。ろ過器（容量約5m³直径約1.8m×高さ約2mの円筒状目視による概寸）に対して、毎分100～200L程度の流速で30分程度、浴用水をろ過の逆方向に通水し、洗浄水は排水した。浴用水の減少分は、後から新たな温泉水を補給した。

(2) モノクロラミンの濃度管理

対象施設のろ過器導入前に、次亜塩素酸ナトリウム製剤（ケイミックスSP）とアンモニウム製剤（レジサイド いずれもケイ・アイ化成株式会社製）によって用時調製されたモノクロラミン溶液を、循環ろ過系統

内に添加した。注入頻度は、浴用水のモノクロラミン濃度が、常時およそ 3~6 mg/L (ppm) の範囲で推移することを意図して設定した。モノクロラミン濃度がこの管理濃度範囲に入らない場合は、手動操作によって追添加し、濃度調整を図った。施設による濃度測定は、全塩素濃度を測定することにより行われた。

さらに、週 1 回、循環配管内の高濃度モノクロラミン消毒、洗浄と完全換水を行った。具体的には、モノクロラミンを追加して、濃度を 10~15 mg/L に上昇させ、循環ろ過及び逆洗処理を行った。具体的には毎営業日の逆洗浄と同様に、毎分 100~200 L 程度の流速で浴用水を 30 分ずつ、ろ過の順方向、および逆方向に通水し、逆方向の洗浄水は排水した。消毒後、浴用水は全て排水し、浴槽をタイル用ポリッシャーで洗浄した。営業開始前日に新たな温泉水を補給し、営業開始 3 時間半前にモノクロラミンを添加、循環させ、営業開始直前にはモノクロラミン濃度が管理濃度範囲であることを確認した。

(3) 各種測定

各種微生物試験は、定法に従い実施した。すなわち、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休館日前日の営業中に採水し、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、GVPC 寒天培地で 36°C、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°C、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°C、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°C 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2 週3回換水する高pH温泉水を用いた浴槽

(1) 対象施設

山梨県内の pH10 の温泉水 (表 3) を有する一日の入浴者数が約 500~1000 人程度の施設において、男女の浴用水が同一系統の 15~20m³ の内湯を対象とした。ろ過器 (容量約 1.5 m³、直径約 1 m×高さ約 2 m の円筒状、目視による概寸) の逆洗は毎日深夜 3 時と早朝 6 時に 5 分間ずつ計 10 分間実施された。週に 3 回、浴用水の完全換水と、清掃が行われた。浴槽水採水は週に 1 回営業日の営業開始前に行った。

(2) モノクロラミンの濃度管理

施設 1 と同様に用時調製されたモノクロラミン溶液を同様の濃度範囲になるよう循環ろ過系統内に添加した。毎日の初期添加で 4.1mg/L 相当を添加し、残存濃度は 0~2.4 mg/L (算術平均 0.5 mg/L 程度) となり、その後は注入頻度を調整して常時およそ 3

～6 mg/L の範囲で設定した。施設による濃度測定は、全塩素濃度を測定することにより行われた。週 1 回、完全換水時に浴槽水のモノクロラミン濃度を 15～20 mg/L に調整し、1 時間または一晩中消毒を行った。

(3) 各種測定

各種微生物試験と塩素濃度測定は、施設 1 同様に、定法に従い実施した。

C. 研究結果および考察

施設 1 高 pH 温泉水を用いた大容量浴槽

本研究における浴用水中のモノクロラミン濃度を図 1、浴用水の微生物学的検査結果を表 2 に示す。

浴用水中のモノクロラミン濃度は、ほぼ安定的に推移していることが認められた。入浴客の増加に伴って温泉水の足し湯をした場合に管理濃度範囲よりも若干低くなる傾向が見られたが、この場合も即座に手動操作によって追添加を行うことにより、短時間で管理濃度範囲に回復した。

また、微生物学的検査の結果、6 週間の実地試験期間を通じて、レジオネラ属菌、一般細菌、大腸菌群はいずれも陰性であった。この結果は、本研究の条件下において、モノクロラミン消毒が、レジオネラ属菌、一般細菌、大腸菌群の殺菌に十分な効果があることを示している。

一方、従属栄養細菌についてはいずれも陽性であった。従属栄養細菌数は一般細菌数より多く、浴槽の汚れをより高感度に検査できると考えられた。従属栄養細菌の制御のために、10～15 mg/L の高濃度モノクロラミン消毒を行ったが、それでも従属栄養細菌数が上昇した。本研究で行った消毒方法では従属栄養細菌の制御までには至ら

ず、汚れの残留と微生物の増殖が生じてしまったと考えられた。

施設 2 週 3 回換水する高 pH 温泉水を用いた浴槽

浴用水中のモノクロラミン濃度を図 2、浴用水の微生物学的検査結果を表 4 に示す。浴用水中のモノクロラミン濃度はほとんどの測定において 3～6 mg/L の範囲にあり、安定して濃度を維持することができた。試験期間前半はやや低い濃度になることもあったが、複数回の添加時間の微調整により、後半は 3 mg/L を下回らなかった。

微生物学検査の結果、遊離塩素管理時および 7 週間の実地試験期間を通じて、レジオネラ属菌、アメーバ、大腸菌群はいずれも検出下限値未満または陰性であった。一般細菌数については、遊離塩素管理時よりも実地試験期間の方が若干少ないか、同程度であった。週 3 回換水のアルカリ性温泉において、モノクロラミン消毒はこれらに対して効果が期待できると考えられた。

一方で、施設 1 と同様に従属栄養細菌数が上昇し、遊離塩素管理時より多かった。試験開始時に設定していた 15～20mg/L、1 時間の高濃度モノクロラミンによる消毒では増加を抑制できなかった。消毒時間を一晩に延長し、直後の第 5 週では 1/100 程度に減少したものの、第 6 週以降は再び同様のオーダーにまで増加した。一度増加してしまった従属栄養細菌の抑制は困難であった。

逆洗の時間は、施設 1 では毎日 30 分間に対して、施設 2 では毎日 10 分間に留まった。例数が少ないので確たる事は言えないが、一般細菌数や従属栄養細菌数が施設 2 の方

が桁違いに多かった。残留した汚れの量(逆洗の時間等)によるのかもしれない。または、施設 2 では営業開始前の浴槽水にモノクロラミンを添加し、管理濃度範囲で安定した直後に採水を行っていた。接触時間が不足したのかもしれない。

モノクロラミン消毒は、従来の衛生管理工程を省略できるものではなく、今なお洗浄が大切であると考えられた。

D. 結論

2 箇所の温泉施設の協力を得て、6~7 週間にわたるモノクロラミン消毒の現地試験を行った。モノクロラミン濃度はほぼ安定的な濃度推移が認められ、レジオネラ属菌、大腸菌群ともに陰性で、一般細菌数も低く抑えられた。高 pH の温泉水であっても、モノクロラミン消毒はレジオネラ属菌の抑制が可能であることを改めて確認した。一方、従属栄養細菌数はいずれの施設でも増加した。モノクロラミン消毒は浴槽水を連続使用するための方法ではなく、循環式浴槽には、より強力な洗浄方法が必要と考えられた。

E. 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. 泉山信司, 長岡宏美, 他「モノクロラミン消毒のアルカリ性温泉への応用」、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 30 年度分担研究報告書
4. 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長、「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」の改正について、薬生衛発 1217 第 1 号

F. 研究発表

誌上発表

1. 森 康則、永井佑樹、赤地重宏、杉山寛治、田中慶郎、茶山忠久、西 智広、濱口真帆、吉村英基、泉山信司、次亜塩素酸ナトリウム消毒を阻害する高アルカリ温泉水に対するモノクロラミン消毒の現地検証—三重県津市の榊原温泉における検討—、温泉科学、2019, 69, 90-102.
2. 杉山寛治、「講座、環境水からのレジオネラ・宿主アメーバ検出とその制御 8 浴槽のレジオネラ対策 1 浴槽のどこで、どのように増えるのか」、日本防菌防黴学会誌、2019, 47, 83-89.
3. 杉山寛治、「講座、環境水からのレジオネラ・宿主アメーバ検出とその制御 9 浴槽のレジオネラ対策 2 浴槽水の各種消毒方法の効果」、日本防菌防黴学会誌、2019, 47, 117-123.
4. 杉山寛治、「講座、環境水からのレジオネラ・宿主アメーバ検出とその制御 10 浴槽のレジオネラ対策 3 モノクロラミンによる消毒方法について、日本防菌防黴学

会誌、2019, 47, 159-166.

5. 枝川亜希子、「講座、環境水からのレジオネラ・宿主アメーバ検出とその制御 12 レジオネラ属菌の宿主となる自由生活性アメーバ、日本防菌防黴学会誌、2019, 47, 229-232(2019)
6. 井上浩章、枝川亜希子、「講座、環境水からのレジオネラ・宿主アメーバ検出とその制御 13 アメーバ共培養法を用いたレジオネラ属菌の検出、日本防菌防黴学会誌、2019, 47, 273-277.

口頭発表

1. Mori, Yasunori., Nagai, Yuki., Akachi, Shigehiro., Nishi, Tomohiro., Hamaguchi, Maho., Yoshimura, Hideki., Sugiyama, Kanji., Tanaka, Yoshirou., Sayama, Tadahisa., Izumiyama, Shinji. Field test of monochloramine disinfection for alkaline hot spring water that cannot sufficiently be disinfected with sodium hypochlorite because of its high pH - A case study in Sakakibara hot spring area of Tsu City, Mie Prefecture -. The 72th Annual Meeting of the Japanese Society of Hot Spring Sciences. Taichung, November 2019.
2. 森 康則、赤地重宏、永井佑樹、吉村英基、泉山信司、温泉付随ガス分離設備の

レジオネラ属菌による汚染実態と対策、日本温泉科学会、2019年11月、台湾、台中市

3. 小倉 徹、植園健一、枝川亜希子、泉山信司、松田宗大、松田尚子、藤井 明、モノクロラミン管理下の浴槽循環ろ過装置内のろ材バイオフィームに対する各種消毒剤の消毒効果の検討、日本防菌防黴学会、2019年9月、大阪府
4. 松田宗大、枝川亜希子、泉山信司、小倉徹、植園健一、松田尚子、藤井 明、循環式浴槽から分離された *Mycolicibacterium phlei* に対するモノクロラミンの殺菌効果、日本防菌防黴学会、2019年9月、大阪府
5. 藤井明、渡邊貴明、松田宗大、松田尚子、小倉徹、植園健一、枝川亜希子、泉山信司、薬湯使用時におけるモノクロラミン消毒の有用性評価、第46回建築物環境衛生管理全国大会、2019年1月、東京都
6. 藤井明、松田宗大、小倉徹、小倉諒太、植園健一、枝川亜希子、泉山信司、モノクロラミン管理下の循環浴槽におけるろ材付着バイオフィームに対する各種消毒剤の効果、第47回建築物環境衛生管理全国大会、2020年1月、東京都

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

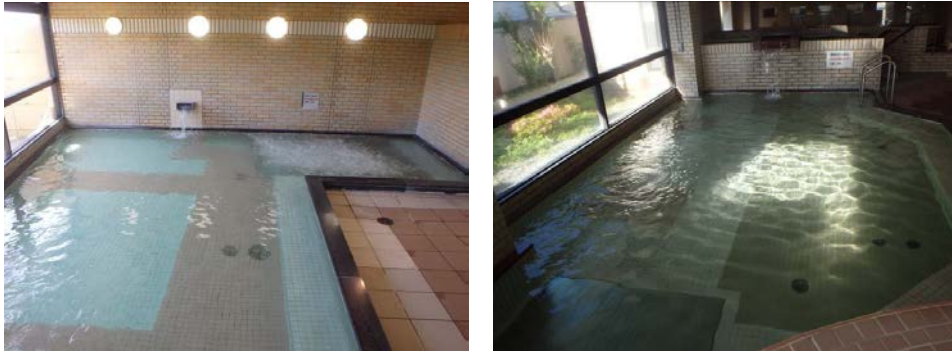


写真 1・2 施設 1 の 2 つの浴槽

2 つの浴槽が連通管でつながった、計 30m³ の循環系水量を有する循環式浴槽

表 1. 施設 1 の温泉水質

陽イオン	mg/kg	陰イオン	mg/kg	非解離成分	mg/kg
Na ⁺	92.5	F ⁻	1.5	H ₂ SiO ₃	52.2
K ⁺	1.1	Cl ⁻	16.1		
Ca ²⁺	0.5	SO ₄ ²⁻	29.5		
		HPO ₄ ²⁻	0.3		
		HCO ₃ ⁻	112.9		
		CO ₃ ²⁻	27.0		
		BO ₂ ⁻	2.0		
合計	94.1	合計	189.3	合計	52.2

※ pH:9.5, 泉温:24.6°C, 分析日: 2010 年 10 月 1 日

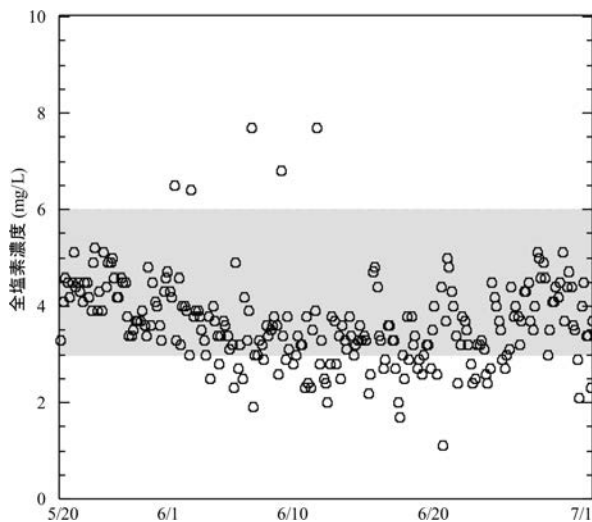


図 1. 施設 1 における浴用水中の全塩素濃度（モノクロラミン濃度）の推移

図のグレー部分は、目標としたモノクロラミン濃度 3～6mg/L の範囲を図示した。

表 2. 施設1における微生物検査の結果

採取日	レジオネラ属菌	一般細菌数	大腸菌群	アメーバ (PFU/mL)	従属栄養細菌数 (CFU/mL)
2019/5/27 (1 週目)	—※1	—	—	—	+ (3,900)
2019/6/3 (2 週目)	—	—	—	—	+ (>100,000)
2019/6/10 (3 週目)	—	—	—	+ (2)	+ (45,700)
2019/6/17 (4 週目)	—	—	—	—	+ (59,300)
2019/6/24 (5 週目)	—	—	—	—	+ (21,250)
2019/7/1 (6 週目)	—	—	—	+ (0.5)	+ (31,400)

※1 —: 陰性(レジオネラは 10CFU/100mL 未満、他の細菌は 1CFU/mL 未満、アメーバは 0.5PFU/mL 未満)

※2 括弧内の数字は菌数又はアメーバ数を示す (CFU: Colony Forming Unit、PFU: Plaque Forming Unit)

表 3. 施設 2 の温泉水質

項目	分析値	項目	分析値
pH	10.2	硫黄 (mg/kg)	< 0.1
ORP (mV)	-146	総鉄イオン (mg/kg)	< 0.1
一般細菌数(CFU/mL)	1.0×10^2	アンモニア態窒素 (mg/kg)	< 0.1
Cl ⁻ (mg/kg)	1.2	マンガンイオン (mg/kg)	< 0.1
Br ⁻ (mg/kg)	未検出		
I ⁻ (mg/kg)	未検出		
S ₂ O ₃ ²⁻ (mg/kg)	未検出		

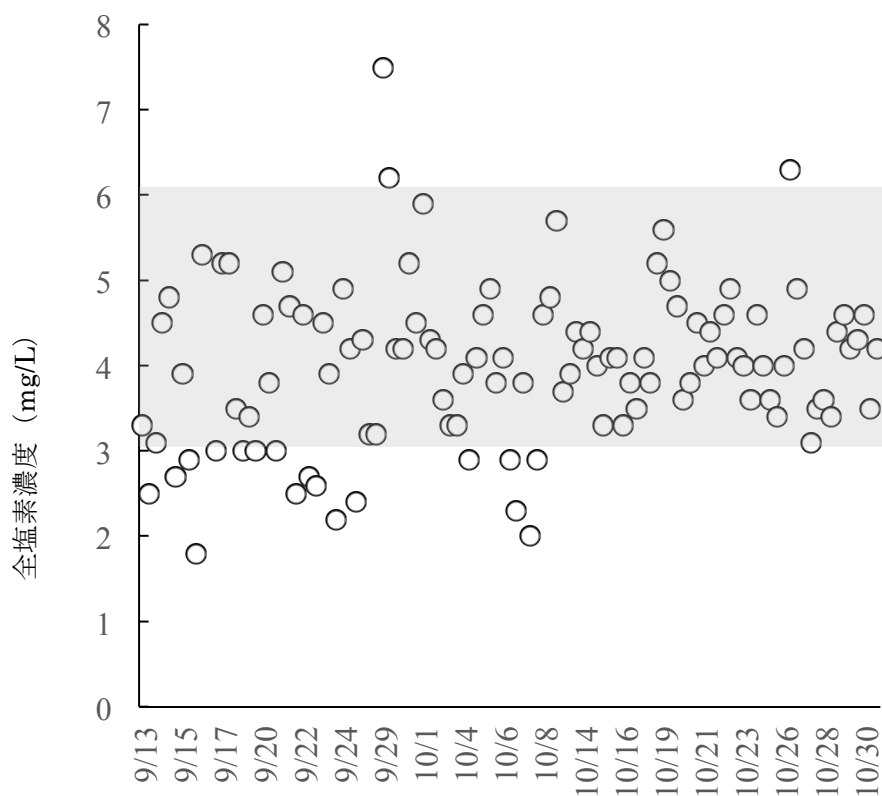


図 2. 施設 2 における浴用水中の全塩素濃度（モノクロラミン濃度）の推移
 図のグレー部分は、目標としたモノクロラミン濃度 3~6mg/L の範囲を図示した。

表 4. 施設 2 における微生物検査の結果

採取日	レジオネラ属菌数 (CFU/100 mL)	レジオネラ属菌 (ヘアキャッチャー配管ふきとり)	大腸菌群 (/ 100 mL)	アメーバ数 (/ 50 mL)	一般細菌数 (CFU/mL)	従属栄養細菌数 (CFU/mL)
2019/9/10 (遊離塩素消毒時)	<10	—※	—	—	52	100
2019/9/17 (第 1 週)	<10	—	—	—	7	93
2019/9/24 (第 2 週)	<10	—	—	—	20	495,000
2019/9/24 (第 3 週)	<10	—	—	—	2	179,000
2019/10/1 (第 4 週)	<10	—	—	—	18	393,000
2019/10/8 (第 5 週)	<10	—	—	—	5	4,670
2019/10/15 (第 6 週)	<10	—	—	—	48	246,000
2019/10/29 (第 7 週)	<10	—	—	—	9	275,000

※ —: 陰性