

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  
公衆浴場の衛生管理の推進のための研究  
令和6年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 泉山 信司

令和7（2025）年 3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
公衆浴場の衛生管理の推進のための研究-----	4
泉山 信司	
II. 分担研究報告	
1. アルカリ性温泉 (pH10) におけるモノクロラミンの消毒効果と 菌叢に与える影響-----	63
柳本 恵太、高村 知成、山上 隆也、土屋 邦男、田中 慶郎、 杉山 寛治、茶山 忠久	
2. 入浴施設におけるレジオネラ汚染の実態調査および 分子疫学的解析の活用-----	73
黒木 俊郎、陳内 理生、中嶋 直樹	
3. 電解生成オゾンを用いた温浴施設循環ろ過器の消毒・洗浄試験-----	81
泉山 信司、石井 清隆、木村 哲也、小森 正人	
4. 薬湯の循環ろ過器をオゾンで逆洗浄する試み-----	94
田栗 利紹、井上 浩章、木村 哲也、小森 正人、小田 康雅、 下田 貴宗、蔡 国喜	
5. フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した 衛生管理の推進に関する研究-----	102
田栗 利紹、前川 純子、中西 典子、平塚 貴大、井上 浩章、 縣 邦雄、新道 欣也、鳥井 良太、木村 哲也、小森 正人、 山本 哲司、細川 賢人、小田 康雅、下田 貴宗、蔡 国喜	
6. 高濃度塩素消毒の洗浄効果を迅速に評価する FCM 細菌数の方法-----	117
田栗 利紹、井上 浩章、小田 康雅、下田 貴宗、蔡 国喜	
7. レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡便な検査法の開発-----	125
金谷 潤一、井上 浩章、枝川 亜希子、小池 真生子、 西澤 尚文、三谷 康正、花輪 由記、大島 萌愛	
8. 保健所、衛生部局による公衆浴場でのレジオネラ症対応、 監視指導の実態-----	133
小坂 浩司、黒木 俊郎、沢田 牧子	

9.	入浴施設の衛生管理の手引きの改定-----	164
	黒木 俊郎、小坂 浩司、前川 純子、陳内 理生、金谷 潤一、 枝川 亜希子、中西 典子、田栗 利紹、倉 文明、五十嵐 日菜、 大森 恵梨子、武藤 千恵子、大橋 美至、中嶋 直樹、平塚 貴大、 尾崎 淳朗、烏谷 竜哉、木村 千鶴子、平井 真太郎、 浅野 由紀子、尾崎 吉純、佐々木 麻里、杉本 貴之、 緒方 喜久代、中臣 昌広、小森 正人、藤井 明、縣 邦雄、 石森 啓益、福田 隆志	
10.	浴槽水の糞便汚染指標細菌の変更の妥当性の検討-----	248
	黒木 俊郎、枝川 亜希子、中西 典子、前川 純子、工藤 剛、 武藤 千恵子、梅津 萌子、高久 靖弘、鍋田 信吾、小松 頌子、 烏谷 竜哉、佐々木 麻里、緒方 喜久代、太田 奈保美	
11.	浴槽水における大腸菌検査法の検討-----	261
	中西 典子、小松 頌子、武藤 千恵子、梅津 萌子、高久 靖弘、 佐々木 麻里	
12.	国内から参加可能な英国のレジオネラ外部精度管理（UKHSA および FAPAS）への参加と検査精度に関連する国際的な現状-----	271
	枝川 亜希子、前川 純子、井上 浩章、縣 邦雄、杉山 順一、 安齋 博文、小池 真生子	
13.	レジオネラ属菌の新規検査法の検討-----	283
	淀谷 雄亮、工藤 剛、中川 佳子、近 真理奈、武藤 千恵子、 梅津 萌子、高久 靖弘、長埜 朗夫、本宮 恵子、小野田 早恵、 鈴木 史恵、高橋 美穂、西里 恵美莉、湯澤 栄子	
14.	<i>Legionella pneumophila</i> ST23 臨床分離株の分子疫学解析-----	294
	前川 純子、佐伯 歩	
15.	分子疫学解析法の活用と環境水における NGS を用いた網羅的解析-----	301
	中西 典子、野本 竜平、小松 頌子、藤永 千波、平塚 貴大	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表-----	309



討を進めた。保健所の職員を対象にアンケート調査を行い、21自治体36保健所等から回答を得た。衛生対策やレジオネラ症対策に関する全国共通の資料の提供が求められていること、また、地域の情報等を追加できるよう加工可能な電子データでの提供が強く求められていることがわかった。寄せられた意見や要望に応じて、入浴施設の衛生管理の手引きの簡易版、Q&A集、内容を短く平易にまとめたパンフレットを作成した。総合衛生管理プログラムの理解と入浴施設への導入に向けて、解説用スライドと動画を作成した。

④培養検査の向上に以下を検討した。近年、各種水環境の糞便汚染指標は大腸菌群から大腸菌に移行しており、浴槽水の糞便指標を大腸菌に移行することを検討した。実際の浴槽水における大腸菌の検出状況を定量・定性試験により調査した。容易ではないレジオネラ属菌の培養検査の精度向上を目的に、外部精度管理への参加の一般化と検査精度の安定化を目指した。地衛研の外部精度管理への参加を支援して、2024年度はUKHSAのEQA *Legionella* isolation scheme、2023年度はFeraのFAPAS *Legionella* spp. in Environmental Water Proficiency Testの外部精度管理に、各年55機関が参加した。レジオネラ属菌の新規培養検査法であるレジオラート/QT法の有用性を確認するため、外部精度管理に参加し、冷却塔水の検査を行い、平板培養法と遜色ない結果を得た。

⑤分子疫学の高度化について以下の成果を得た。国内外で臨床から高頻度に分離されて、従来のSequence-based typing (SBT)法による型別では区別できなかったSequence Type (ST)の一つである*L. pneumophila* ST23の全ゲノム解析を行ない、高解像に識別できた。*L. pneumophila* ST2398を中心とした過去の集団事例のPFGE、MLVA、SBT、ゲノム解析による型別の結果は、対応して矛盾せず、SNV (Single Nucleotide Variant)数が30~42個は近縁であった。ST354は、Gubbinsによる組換え領域の除去の有無でSNV数が大幅に変化し、除去しなかったとしても疫学的に関連性のない株間のSNV数が小さいことがあり、状況に応じた疫学的判断が必要と考えられた。

研究分担者氏名・所属研究機関名、及び職名

枝川 亜希子・大阪健康安全基盤研究所

主幹研究員

金谷 潤一・富山県衛生研究所 主任研究員

黒木 俊郎・岡山理科大学 教授

小坂 浩司・国立保健医療科学院

上席主任研究員

田栗 利紹・長崎県環境保健研究センター 次長

中西 典子・神戸市健康科学研究所 副部長

前川 純子・国立感染症研究所 主任研究員

柳本 恵太・山梨県衛生環境研究所 主任研究員

淀谷 雄亮・川崎市健康安全研究所 技術職員

陳内 理生・神奈川県衛生研究所 主任研究員

#### A. 研究目的

公衆浴場は、適温の湯でレジオネラ属菌等の病原性微生物が増殖し、レジオネラ属菌による集団感染が繰り返された。衛生向上を目的とする公衆浴場において、衛生低下の問題が生じた(2002年 宮崎県他)。浴場施設の塩素消毒が緊急避難的に導入されたが、高 pH(8~)での消毒効果の不足や、塩素臭の敬遠から消毒が不徹底等に陥る(2022年 福岡県)。公衆浴場における感染事故に加えて、昨年度は冷却塔等の環境の汚染源を疑う事故まで生じており、生活環境中の汚染源対策が広く求められている(2021年 広島県、2022年 兵庫県、2023年 宮城県・大阪府)。

先の研究班の成果として、一般的な遊離塩素ではなく、結合塩素(モノクロアミン)の消毒によって、消毒の不足や塩素臭の回避が可能となった。成果は厚労省通知「公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について(令和元年9月19日生食発0919第8号)」となり、自治体条例への反映が始まった。本研究は浴場施設の衛生向上と推進、さらに他の管理や対策方法の選択肢を増やすことを目的とする(図0)。

以降、1から15まである課題内容別に、A.目的、B.方法、C.結果および考察、D.結論を記載した。この数字は分担研究報告書の順番に対応しており、図表の番号もこれに対応させた。

#### A1. アルカリ性温泉(pH10)におけるモノクロアミンの消毒効果と菌叢に与える影響

公衆浴場はもっぱら遊離塩素消毒が行われるが、遊離塩素とアンモニアの反応により生成される結合塩素のモノクロアミンはレジオネラ属菌に対する有効性が確認されている<sup>1)</sup>。ただしモノクロアミンの連用により、*Mycobacterium phlei*等の雑菌が増加し、16S rDNA コピー数の増加や、菌叢の変化が認められている<sup>24)</sup>。*M. phlei*は非結核性抗酸菌の一種であり、感染報告の例はほぼないが、バイオフィルム形成防止の観点からも、増殖に対しては注意が必要である。我々はこれまでにその様な病原細菌に類するものの増加が他にも生じるのか、モノクロアミン消毒が菌叢に与える影響に注意を払ってきた。本研究ではアルカリ性温泉におけるモノクロアミン消毒の例数を増やししながら、消毒効果や菌叢に与える影響を検討した。

#### A2. 入浴施設におけるレジオネラ属菌による汚染の実態調査および分子疫学的解析の活用

レジオネラ属菌による汚染に苦慮する浴場施設を、2015年から追跡調査してきた。遊離塩素濃

度を高く保つ対策等を実施することで、清浄化を目指していた。以前は8か所中の5か所(最大3,000 CFU/100 mL)からレジオネラ属菌の検出があったところ、2019年度は3か所(10~300 CFU/100 mL)、2021年度は1か所(20 CFU/100 mL)の検出まで軽減されていた<sup>5)</sup>。本報告はさらなる低減と、分子疫学による詳細な把握を目的とした。

#### A3. 電解生成オゾン水を用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒・洗浄試験

ろ過器を有する循環式浴槽はレジオネラ属菌に汚染されやすく、「公衆浴場における衛生等管理要領等について」において、「1週間に1回以上、ろ過器を十分に逆流洗浄(以下、逆洗)して汚れを排出するとともに、ろ過器及び循環配管について、適切な方法で生物膜を除去、消毒」とされている<sup>6)</sup>。「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」では、循環配管に2~3%の過酸化水素や5~10 mg/Lの高濃度塩素を用いる方法が紹介されている<sup>7)</sup>。「レジオネラ症防止指針」では、ろ過器に対して、1週間に1回以上の頻度で5~10 mg/Lの高濃度塩素を使用した逆洗が推奨されている<sup>8)</sup>。しかし、大容量のろ過器には、多量の薬液と外付けタンク等を必要としたり、中和排水等の後処理が必要であったり、多くの労力やコスト負担が避けられない。そこで過酸化水素や塩素以外の方法として、オゾンに着目した。オゾンは、空気(酸素)の無声放電<sup>9)</sup>や水の電気分解<sup>10)</sup>により必要量を現場で生成できて、多量の薬剤を搬入するための労力は不要となる。

これまでの検討で、複数のろ過器に電解オゾン水を適用してレジオネラ属菌による汚染を抑制できたことから、スケールアップを目標とした。本年度は、男女2つのジェット浴槽を1つのろ過器でろ過している大型ろ過器(有効容量≒ろ材充填量

1.8m<sup>3</sup>)を試験対象とした。当該ろ過器への汚濁量は非常に多く、またジェット循環により浴槽水へ溶存酸素が絶えず供給されるため、ろ過器内に生物膜が多量に蓄積していることが想定された。「レジオネラ症防止指針」では、ジェット浴槽のろ過器に対して、毎日1回以上の頻度で5~10 mg/L 高濃度塩素を使用した逆洗を推奨しているが、当該スーパー銭湯では未実施であり、このような条件下であっても通用するのか興味を持たれた<sup>11)</sup>。令和4~5年度と同様の方法で電解オゾン水の消毒・洗浄効果について検討した。

#### A4. 薬湯の循環ろ過器を、電解オゾン水を用いて逆洗する試み

生物膜の発生が強く懸念される循環式浴槽のろ過器では、汚れや生物膜の除去に、通常のろ過とは逆方向に水を送る、逆洗作業が行われる<sup>12)</sup>。これまで逆洗時に、強い酸化力が期待できるオゾン水を注入することで、生物膜を剥離し強く消毒する方法の有効性を報告してきた<sup>13)</sup>。本研究ではさらなる事例の追加として、レジオネラ属菌に苦慮している薬湯のろ過器に電解オゾン水を用いて対策を試みた。薬湯と循環ろ過の組み合わせは、無機塩などを使うものであれば問題は少ないのかもしれないが、意図して有機物を多く入れる場合はろ過器を汚染する負荷となって、衛生管理が非常に難しくなると心配される。実際、過去のフローサイトメリー法による調査で継続的に高い細菌数が確認されており、薬湯システムの回収槽水や逆洗水の消毒効果が十分でないと思われた<sup>30)</sup>。そこで、当該システムには塩素より強い殺菌力が期待できるオゾンを適用して消毒を強化することとした。

#### A5. フローサイトメリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究

レジオネラ属菌は培養検査が標準の検査法と

して用いられるが、7~10日間を必要とする専門性の高い検査であるために、現場の日常的な指標として衛生管理に反映させるにはかなりの努力を要する。迅速な検査法として、フローサイトメリー法<sup>14)</sup>、遺伝子検査法<sup>15)</sup>およびATP法<sup>16)</sup>等の非培養検査法を検討してきた。検査の結果を施設衛生管理者と共有し、対話により消毒や細菌汚染による衛生状態等への施設の理解を促すことで、公衆浴場の衛生管理の向上に繋げられることを期待している。本研究では迅速な検査法を活用して、入浴施設、現場施設の調査・予防・改善につなげる実施例を蓄積する。

#### A6. 高濃度塩素消毒の効果を迅速に評価する、FCM法による細菌数の測定

フローサイトメリー(FCM)法は、さまざまな分野で各種細胞の解析に利用される方法で、浴槽水への応用では、細菌数を測定することで、レジオネラ属菌のリスク判定の指標となりうることが示されてきた<sup>17,18)</sup>。本研究では、浴場現場での迅速な生物膜対策として、FCM法による細菌数の応用を進めた。今回、高濃度塩素消毒の効果を迅速に評価することを目標としたが、洗浄消毒が生物膜対策として重要であること、消毒の程度や頻度が施設の衛生管理にとっては大事なことがあった。すなわち消毒の十分・不十分を現場で迅速に判定すべく、実際に温浴施設(2施設)においてFCM法で細菌数を測定し、持ち帰って測定したレジオネラ属菌の遺伝子検査法、平板培養法の結果と比較することで、現場適用が十分に可能であることを確認した。

#### A7. レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡便な検査法の開発

浴槽水などを対象としたレジオネラ属菌の検査は、濃縮検体を用いた平板培養法が広く普及して

いる。しかしながら、レジオネラ属菌は発育が遅く、検査結果が判明するまでに7~10日を要する。そのため、培養法と相関する遺伝子検査法は、浴槽水の衛生状態を的確に、かつ早期に把握する点から重要な方法である。近年、モバイル型のリアルタイムPCR装置が普及し始めており、採水現場で直接のレジオネラ属菌の遺伝子検出による、迅速な結果の還元も可能な状況となりつつある。このモバイル型装置を使用したqPCR法(モバイルqPCR法)について、平板培養法や他の遺伝子検査法(qPCR法およびLAMP法)との相関を検討した。モバイルqPCR法を現場でより簡便に行えるよう、これまでのプロトコルがさらに改良された、微細流路チップを用いたろ過濃縮・簡易DNA抽出法で試験した。

#### A8. 保健所、衛生部局による公衆浴場でのレジオネラ症対応、監視指導の実態

保健所、衛生部局は、公衆浴場の事業者に対して、衛生管理に係る監視指導を行う立場を担っている。公衆浴場の衛生管理の向上には、消毒や検出法だけでなく、事業者への適切な監視指導等も重要と言える。実態としては、不適切な衛生管理体制や、適正な情報や人材の不足によって、不十分な管理状況となっている部分がある。この状況の一端を確認するため、管内の許可施設等に対する監視指導状況の調査を実施することとした。なお、本調査は監視実態の把握のため行うものであり、各組織や個人の問題点を調べるものではない。

#### A9. 入浴施設の衛生管理の手引きの改定

入浴施設の衛生管理の技術的助言として、厚生労働省から「公衆浴場における水質基準等に関する指針」、「公衆浴場における衛生等管理要領」、「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策

マニュアル」、並びに「感染症の予防の総合的な推進を図るための基本的な指針」に基づく「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」が発出されている。これらは衛生管理の方向性を示しているが、具体的・詳細な管理方法は示していない。そのため、入浴施設の監視指導の現場からの、具体的な内容を示してほしいとの強い要望に対応して、入浴施設の衛生管理の手引き(以下、手引き)が作成されている。この手引きに対して、簡易版、チェックシートや記録票の例示、Q&Aの作成、説明動画の作成などの多くの要望が寄せられている。本年度は、入浴施設の衛生管理の手引き改定の検討会(以下、検討会)及び入浴施設の衛生管理の手引き改定ワーキンググループ(以下、WG)において簡易版とQ&A集の内容を協議し、これらを作成した。さらに、入浴施設の営業者が手引きの内容を理解しやすいようにすることを目的として、パンフレットを作成した。また、総合衛生管理プログラム(以下、管理プログラム)の必要性に関する動画を作成した。

#### A10. 浴槽水の糞便汚染指標細菌の変更の妥当性の検討

水環境の糞便汚染指標細菌は長らく大腸菌群とされてきた。しかし、大腸菌群と大腸菌の迅速定性および定量検査法が近年開発されたことで、水道水をはじめとする種々の水環境の指標細菌が大腸菌群から大腸菌へと変更されている(水質基準に関する省令 厚生労働省令第101号 平成15年5月30日)。大腸菌群には糞便由来ではなく環境に由来する細菌が含まれていることから、大腸菌群の存在が糞便汚染の実態を正しく反映していないことが以前から指摘されており、大腸菌を選択的に検出することを可能にする検査技術が開発されたことが移行の大きな理由となっている。

浴槽水の糞便汚染指標は現行では大腸菌群とし、検査法は「下水の水質の検定方法等に関する省令(昭和37年厚生省・建設省令第1号)別表第1(第6条)」に規定する大腸菌群数の検定方法に準じて実施し、基準は1個/mL以下とされている。ところが、下水の水質の検定方法が令和7年4月1日からデソキシコレート寒天培地培養法から特定酵素基質寒天培地培養法に変更されることとなった。そこで、浴槽水の糞便汚染指標細菌の検査法を、下水の水質の検定方法の変更と同様にすることが妥当であるか、あるいは別の検査法を適用するかを検討することとした。さらに、変更した際の大腸菌の基準の設定についても協議した。

#### A11. 浴槽水における大腸菌検査法の検討

浴槽水の糞便汚染指標を大腸菌群から大腸菌に変更することは、前述の通りに妥当性が検討された。大腸菌群には糞便由来の細菌の他、水系や土壌に生息する自然由来の細菌も含まれ、指標性は低いというのが今日の国際的な理解となっている。そして今日では、特定酵素基質培地を用いることで大腸菌を簡便かつ迅速に検出できるようになった<sup>19)</sup>。本研究では、実際の浴槽水における大腸菌群と大腸菌の検出状況を調査した。

#### A12. レジオネラ属菌の培養検査の外部精度管理(UKHSA および FAPAS)への参加と、検査精度に関連する国際的な現状

浴槽水を対象としたレジオネラ属菌の検査は、地方衛生研究所(以下、地衛研)、保健所、民間検査機関を含め多くの機関で実施されている。公衆浴場等の浴槽水のレジオネラ属菌の基準値は、厚生労働省の通知により、培養法で「検出されないこと(10 CFU/100mL 未満)」と定められている。培養法の検査結果は、行政指導の根拠となることに加え、日常的な衛生管理を行う上での重要な

データであることから、高い精度が求められる。そのため、検査機関は各施設で標準作業手順書(SOP)を作成し、その方法に沿って外部精度管理に参加して検査精度を確認している。外部精度管理の実際は、外部で用意された模擬試料を各施設の SOP に従って検査し、自他施設の結果を比較する。評価方法はZスコアが用いられ、Zスコアの絶対値2以内が良好範囲内とされる。本研究は、外部精度管理への参加の一般化と検査精度の安定化を目指し、地衛研の外部精度管理への参加支援を検討している。2024年度は、英国健康安全保障庁(UKHSA:UK Health Security Agency)のEQA *Legionella* isolation scheme(以下、UKHSA)、2023年度は英国食料環境研究庁(Fera:The Food and Environment Research Agency)のFAPAS *Legionella* spp. in Environmental Water Proficiency Test(以下、FAPAS)への参加を進めた。加えて、国際規格の認定など、検査精度に関連する国際的な現状について情報収集を行った。

#### A13. レジオネラ属菌の新規検査法の検討

レジオネラ属菌の検査においては平板培養法が広く用いられているが、検体の濃縮、分離培地の選択、加えてコロニーの鑑別などに熟練を要する等、検査手技の安定性が課題となっている。近年の水質管理に使用されているレジオラート/QT法は、専用培地(*legiolert*)と検体を専用トレイ(*Quanti-Tray*)に封入して培養するもので、これにより *L. pneumophila* を選択的に検出・定量できる検査法であり、上記の問題が無くて済む。今回は外部精度管理への参加と、冷却塔水検体への適用を検討した。

#### A14. *Legionella pneumophila* ST23 臨床分離株の分子疫学解析

レジオネラ症の主要な起因菌である *L.*

*pneumophila* は、土壌、浴槽水など環境中に広く生息している。レジオネラ症患者の感染源を特定するには、患者と感染源と疑われる入浴施設等の分離株から、同一性を分子疫学により確認する。これまで用いられてきた Sequence-based typing (SBT)法の型別法は、同じ遺伝子型(ST)が高頻度に分離されることがあり、それでは感染源特定の判断が困難となるため、他の分子疫学の方法が必要であった。近年に普及した全ゲノム解析は、より高い解像度の手法であることが示されている<sup>20, 21)</sup>。

国内外で臨床から高頻度に分離される ST23 は、散発事例や集団感染事例を引き起こし、国内では 2000 年、2002 年、2015 年に発生した公衆浴場集団感染事例の起因菌でもあった<sup>22, 23)</sup>。さらに、冷却塔水を感染源とした事例も存在するが、散発事例での感染源は不明なことが多い<sup>22, 24)</sup>。本研究では ST23 の全ゲノム解析を行い、解像度の向上を企図した。

#### A15. 分子疫学解析法の活用と環境水における NGS を用いた網羅的解析

感染源の特定には、患者分離株と、推定感染源とされる環境分離株の一致を確認する。この分子疫学の方法として、パルスフィールドゲル電気泳動法(pulsed-field gel electrophoresis, PFGE法、製造中止が決定)、塩基配列の多型解析(Sequence based typing, SBT法)、反復配列多型解析法(Multilocus variable-number tandem-repeat analysis, MLVA法)などが使われてきた。一方でゲノムシーケンサーの普及に伴って全ゲノム解析により、全ゲノム配列から菌株の同一性を確認する方法も利用できるようになってきた。本研究では全ゲノム配列から、従来法の妥当性の確認や、より高解像な解析手法の確立と、比較するための基礎データの蓄積を目指している。

この目的に、過去の集団感染で分離された *L. pneumophila* SG1 ST2398 と関連株、それから散発的な SG2 ST354 の複数の分離株のゲノム解析を行うこととした。

特に ST354 は Gubbins による組み換え領域の除去について検討を加えた。*L. pneumophila* のゲノムは組み換えが頻繁に起こりやすく<sup>25, 26)</sup>、解像度に大きく影響する可能性があった。

#### B. 研究方法

研究班を①消毒洗浄、②迅速検査法、③保健所衛生部局との連携、④培養検査の向上、⑤分子疫学の大きく分けて 5 分野に編成し、これらの成果により直接あるいは間接的に衛生管理の向上と推進が得られることを目指した。研究分担者 10 名、研究協力者多数の参画を得て、研究を遂行した(図 0、表 0)。地衛研・保健所や民間企業を通じて、現場施設の支援、協力や参加を得た。感染研と地衛研で形成するレファレンスセンターの協力を得て、患者株や環境株の収集解析を行った。

#### B1. アルカリ性温泉 (pH10) におけるモノクロロミンの消毒効果と菌叢に与える影響

協力を得た対象施設は、消毒に影響を与える物質をほとんど含まない、pH9.8 の源泉水を利用していた。試験対象浴槽は約 5 m<sup>3</sup> の露天風呂とした。入浴者数は 1 日に 100~300 名程度で、浴槽水の循環ろ過系統を有しており、1 週間に 1 回の換水と清掃をしていた。モノクロロミン生成装置を設置し、概ね 3~5 mg/L の範囲となるように一定の注入量を設定した。各種測定は定法に従い、採水はモノクロロミン導入前後の 4 週間に週 1 回、配管消毒 4 日後からの、営業開始前に実施した。

PCR 用試料の一部は、浴槽水 1L をろ過した後、死菌の影響を抑制するための DNA 修飾色素

(PMAxx、Biotium)で処理した。PMAxx 処理および非処理フィルターから DNeasy PowerWater Kit (QIAGEN)を用いて DNA 抽出を行った。16S rDNA コピー数の定量は Clokie らの方法により行った<sup>27)</sup>。同遺伝子の V3-V4 領域を対象として、アンプリコンシーケンスによる菌叢解析を行った(生物技研)。菌叢の割合は、モノクロラミン消毒導入前後と PMAxx 処理の有無別にそれぞれ 4 週間分のデータを平均した。病原性細菌の種類については、少なくとも 1%以上の存在割合の範囲に病原菌としての報告があるかを確認した。

## B2. 入浴施設におけるレジオネラ属菌による汚染の実態調査および分子疫学的解析の活用

神奈川県内の入浴施設 1 か所において、2 つの浴室(浴室1 および2)の浴槽、湯口、カーン、シャワー、配管末端放水部、ろ過器、地下および高置貯湯槽から、計 18 試料を採水した。培養検査は定法により行った。SBT 法は、European Working Group of *Legionella* Infections (EWGLI)の方法に従い、7 つの遺伝子領域(*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, *neuA*)の PCR-Seq による塩基配列から型別(Sequence type)した<sup>28)</sup>。全ゲノム解析は、取得したリードデータ(Rhelixa)から、snippy (<https://github.com/tseemann/snippy>)を用いて SNV を検出、Gubbins を用いて推定組み換え領域を除去してから、PopART でネットワーク図を作成した<sup>29,52)</sup>。

## B3. 電解生成オゾン水を用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒・洗浄試験

試験対象としたろ過器は、男女のジェット浴槽(源泉水、11 m<sup>3</sup>×2、42°C、pH7.5)を併せてろ過している(図 3-1)。先の試験と同様に、営業終了後、逆洗前のろ過器(有効容量=ろ材充填量 1.8m<sup>3</sup>、直径約 1.4m×高さ約 1.2 m)に対して、電解オゾン

水を毎日供給した(図 3-2)。協力を得た当該スーパー銭湯は、試験期間中、年末年始や連休等の繁忙期を含めると、1 日に 1,000~2,000 人の入館者数があった。ジェット浴槽は施設の中心的な浴槽であることから、ろ過器への汚濁量は日常的に非常に多いと考えられた。オゾン供給前の状況を調べるために、オゾン供給を開始する 263 日前(2022 年 11 月 12 日)より水質分析を開始し、この日を試験開始日とした。

電解オゾン水は、施設で使用している井水を活性炭で塩素除去した後、市販のオゾン生成電極で電気分解することにより生成した。電極は昨年度と同じ電極(オゾンバスターインダストリー、オゾンマート製)を用いた。オゾン濃度は、消毒効果に不足を感じたことから、0.5 から 1.5 mg/L へと段階的に変更した。始動スイッチを一度押すだけで、ろ過器下部のドレン口より電解オゾン水を供給し、タイマー制御により一定時間経過後停止する。ろ過器の逆洗の際にその始動スイッチの押下を施設担当者へ依頼して、逆洗時のろ過器に電解オゾン水を毎日供給した。井水の供給量の制限から、流量は 26L/min、供給時間はろ過器容量分(1.8m<sup>3</sup>)を供給する 70 分間(=1800L÷26L/min)とした。

電解オゾン水の効果を調べるため、週 1 回の頻度で浴槽水および逆洗水を採水し、レジオネラ属菌他を定法に従い測定した。浴槽水の採水は、汚染が最も高くなる換水前と、ジェット循環配管からの汚染を考慮に入れた換水後も行った。逆洗水の採水は、電解オゾン水の供給を開始する前の逆洗水(換水前オゾン無し逆洗水)と、電解オゾン水開始後は浴槽からの汚染を考慮に入れて換水前後(換水前オゾン有逆洗水、あるいは換水後オゾン有逆洗水)に行った。グラフ中のレジオネラ属菌の濃度の 1 CFU/100 mL は不検出(検出限界 10 CFU/100 mL)を表している(図 3-3)。

B4. 薬湯の循環ろ過器を、電解オゾン水を用いて逆洗する試み

1 日の入浴者数が千人規模の営業施設の協力を得て試験を実施した。それぞれの循環系統に回収槽があり、週 1 回の清掃・消毒が行われていた。生物膜対策として、週 1 回の頻度で 20 mg/L×1 時間の高濃度塩素による洗浄と、年 3 回の配管の化学的洗浄が行われていた。なお、当該浴槽水は毎日換水されていた。

電解オゾン水の発生装置を設置した薬湯は、井水に入浴剤や生薬などを入れていた。ろ過器は単独の循環系統でその大きさは約 100 L、浴槽水の水量は約 3 m<sup>3</sup> であった。試験前の消毒は、次亜塩素酸ナトリウムにより残留塩素濃度 1.0~2.0 mg/L と高めに管理されていたが、回収槽の存在や薬湯の影響により、ろ過器内の強い汚染が懸念された。

ろ過器の消毒に、電解オゾン水を使用した<sup>13)</sup>。電解オゾン水の注入は、流量を 10 L/min、オゾン濃度を約 1.2~1.8 mg/L、注入時間を 20 分(200 L)で行った。月~土曜日の営業終了後、ろ過器の逆洗時に、毎日電解オゾン水の注入を実施した。毎週日曜日に高濃度塩素洗浄を行い、その日は電解オゾン水を注入しなかった。採水は、土曜日夜の逆洗時に行った。浴槽水は逆洗後に毎日換水されており、採水時は営業終了後の有機物等が最も蓄積した状態で行い、電解オゾン水の効果を最も評価しやすいタイミングと期待した。

電解オゾン水の処理を開始して3ヶ月が経過すると、排水からレジオネラ属菌が検出されて効果が認められにくくなった。そこで電解オゾン水の消毒効果がより強く発揮されることを期待して、ろ過器内の水を一旦排水した後から、電解オゾン水を注入する方式に変更した(以降、排水オゾン処理という)。その後も微量のレジオネラ属菌が検出される傾向は変わらなかったために、電解オゾン

水の開始から 8 か月後にろ材を交換したが、それでもレジオネラ属菌が検出された。その汚染源を究明して改善に至った経緯は既に報告したとおりである<sup>32)</sup>。即ち、電解オゾン水の開始から約 10 ヶ月後に汚染源が循環排水口の上蓋にあることを発見、対処した。

調査全般にわたって月 1~2 回の頻度で逆洗水を採水、検査したが、浴槽水の安全性を確認するために、一時、浴槽水も検査した。詳細な採水の操作は、次のとおり実施した。即ち、逆洗前に予め検水の遊離塩素濃度を測定し、ろ過器内水を排水した。電解オゾン水の発生装置を稼働させたら、半自動的に逆洗を開始して、逆洗中の電解オゾン水のオゾン濃度を測定した。20 分間の電解オゾン水の注入後に、逆洗水を採水した。浴槽水を詳細に検査する場合、当日 19:00 の遊離塩素濃度の測定と同時に検水を採取した。採水した検水は冷蔵で実験室に運び入れ、非培養検査(ATP 法、FCM 法、遺伝子検査法)と培養検査法(平板培地とレジオラート)を実施した。

B5. フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究

4 つの入浴施設(以下 O 施設、P 施設、Q 施設、R 施設)の協力を得た。フローサイトメトリー法、遺伝子検査法、塩素濃度測定、ATP 法等を用いて、4 つの施設と丁寧な対話を行った。

各種検査は定法により行った。塩素濃度(DPD 法、Hach 又は柴田科学)、ATP 濃度(ルミテスター PD-30 とルシパック A3 Water(液体測定用)、キッコーマンバイオケミファ)、細菌数(RF-500 又は miniPOC、Sysmex-Partec)、レジオネラ属菌の遺伝子コピー数(Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit、タカラバイオ)、EMA-qPCR 法による生菌に相当する遺伝子コピー数(Viable *Legionella* Selection Kit for PCR Ver. 2.0)、生菌数

(GVPC 培地、ピオメリュー、あるいはレジオラート、アイデックス)、従属栄養細菌数(R2A 培地)等を測定した。顕微鏡観察に共焦点レーザー顕微鏡(LSM880、Zeiss 社製)を使用した。顕微鏡の観察試料は、SYTO9(Thermo Fisher Scientific 社製)、Rhodamine Concanavalin A (Vector Laboratories 社製)を用いて蛍光染色した。

省力化配管洗浄は、施設 Q と R において実施した。助剤の追加でフェントン反応を応用した過炭酸ナトリウムによる洗浄方法(花王)で、従来の過酸化水素や過炭酸ナトリウムを用いる方法より少ない洗浄剤の量で、従来同様の洗浄効果が得られる工夫がなされている。

モノクロミン消毒は、添加装置(アクアス)を設置済みの施設 Q において、適用拡大を試みた。既報の通り<sup>32)</sup>、循環式浴槽に供用して、濃度を安定して保てており、レジオネラ属菌の不検出、臭気を感じない、濃度管理に要する労力の著しい軽減効果を得ていた。他の循環系統でもモノクロミン消毒を行うため、同じ井水を利用する他の循環系統へ、既存の消毒装置に制御装置と分配装置を増設した。最終的に、ジェット浴 18 t、野外にある歩行浴 25 t、サウナと併設する冷水浴 8 t、さらに薬湯 6 t を消毒した。添加装置は 3 系統あり、(毎日換水の)ジェット浴と薬湯をそれぞれ独立した 2 つの系統とし、3 系統目に(換水 7 日間隔で濃度安定の)歩行浴と冷水浴を接続して分配先を手動切り換えとした。水質検査は月 1 回の間隔で採水して、ATP 法、FCM 法、従属栄養細菌数の検査、レジオネラ属菌の培養検査法および遺伝子検査法を実施した。

#### B6. 高濃度塩素消毒の効果を迅速に評価する FCM 法による細菌数の測定

合計 149 検体の高濃度塩素洗浄後の浴槽水試料を全国各地の温浴施設等から収集した。それら

の FCM 法による細菌数の測定と、遺伝子検査法(qPCR、EMA-qPCR または LAMP)および平板培養法によるレジオネラ属菌の検査結果を比較した。

茨城県内の 2 ヶ所の温浴施設(A、B)において現地での FCM 法による測定を実施した。施設 A は天然温泉で茶褐色の濁質を含んでおり、日頃より遊離塩素処理されている。定期的にレジオネラ属菌の検査を実施しており、過去に源泉タンクからレジオネラ属菌が平板培養法で検出されたことがある。施設 B は井水の沸かし湯で濁質等は特に見られず、日頃より遊離塩素処理されている。定期的にレジオネラ属菌の検査を実施しており、検出された記録は見られない。

生物膜対策として用いられる 10 mg/L×2 時間の消毒後の採水を推奨しているが、基本的に施設衛生管理者に作業を任せているため採水時の消毒状態は必ずしも一定ではない。各施設では、高濃度塩素消毒後に中和して換水し、残留塩素濃度を測定したのちにチオ硫酸ナトリウム入り滅菌ポリ容器に採水して、冷蔵状態で検査施設に持ち込み、搬入後 24 時間以内に検査に供した。

可搬式フローサイトメーターとして、miniPOC (Sysmex-Partec 社製)を使用した<sup>31)</sup>。Gate 内の細菌数 1,000 cells/mL は今回の基準値とせず、遺伝子検査および平板培養法検査結果と比較して別に基準値を設定した。qPCR 法は、Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit(タカラバイオ)を用いた<sup>33)</sup>。EMA-qPCR 法は、Viable *Legionella* Selection Kit for PCR Ver. 2.0(タカラバイオ)および LED Crosslinker 12(タカラバイオ)を用いた。LAMP 法は Loopamp®レジオネラ検出試薬キット E を用いた(栄研化学)。レジオネラ属菌の培養検査は ISO 11731 に準拠したろ過濃縮法により行い、培地は GVPC α 培地(日研生物)を使用した。

#### B7. レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡

## 便な検査法の開発

公衆浴場から採水した浴槽水 30 検体、シャワー水 8 検体、カラン水 8 検体を用いた。モバイル qPCR 法には濃縮前の検水を用いた。フィルター吸引ろ過により 100 倍濃縮液を用意して、培養試験、LAMP 法、qPCR 法に使用した。モバイル qPCR 法に、微細流路チップを用いたろ過濃縮・簡易 DNA 抽出法を組み合わせ使用した。すなわち、微細流路チップ(ピリビューチップ、ゴーフォトン)を固定治具(ゴーフォトン)にセットし、検水 40 mL をシリンジでフィルターろ過した<sup>34)</sup>。滅菌水で洗浄後、カネカ簡易 DNA 抽出キット version2(カネカ)を用いて DNA を抽出した。なお、44 検体を対象に実施したが、4 検体はフィルターが詰まってる過できなかったため、40 検体(浴槽水、シャワー水・カラン水:陽性 13、陰性 27)と比較した。qPCR 反応は、PicoGene<sup>®</sup> *Legionella* spp. Kit(ゴーフォトン)および PicoGene<sup>®</sup> PCR1100(ゴーフォトン)を用いて実施し、レジオネラ属菌の遺伝子およびインターナルコントロールを検出した。なお、このモバイル qPCR 法の成績は、他の検査と同様に試験室で行い、現場では行ったものではない。標的遺伝子が検出された場合(Ct 値 42 未満)を陽性と判定した。LAMP 法は、Loopamp レジオネラ検出試薬キット E(栄研化学)を使用した。標的遺伝子が検出された場合を陽性と判定した。qPCR 法は、Lysis Buffer for *Legionella*(タカラバイオ)で DNA を抽出後、Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit(タカラバイオ)を使用した。標的遺伝子が検出された場合(Ct 値 45 未満)を陽性と判定した。

## B8. 保健所、衛生部局による公衆浴場でのレジオネラ症対応、監視指導の実態

令和 5 年度国立保健医療科学院短期研修環境衛生監視指導研修受講者と本研究班関係の保健

所等職員の、保健所・衛生部局の職員を対象にアンケート調査を行い、21 自治体 36 保健所から 36 回答を得た。

アンケート内容は以下の通り。(1)環境衛生担当部署に係る情報 3 問、(2)監視指導に係る規定等について 3 問、(3)監視指導に係る状況等について 8 問、(4)浴槽水のレジオネラ属菌等に係る対策について 8 問、(5)所管内のレジオネラ症患者の対応状況について(近年 3 年間;令和 2~4 年度)6 問、(6)環境衛生監視員に対する研修等について 6 問、(7)事業者に対する対応状況 5 問。

表における構成比は小数点以下第 2 位を四捨五入しているため、合計しても必ずしも 100%とはならない。また、複数回答を求める設問においては、構成比を算出していない。

## B9. 入浴施設の衛生管理の手引きの改定

WG(ワーキンググループ)および検討会(入浴施設の衛生管理の手引き検討会)において、簡易版と Q&A 集を検討した。検討会のメンバーはこれまでと同様に、自治体の本庁あるいは保健所の環境衛生部署に所属し、入浴施設の監視指導に当たっている自治体職員とし、入浴施設の現場における監視指導の経験を活かした内容を手引きに盛り込むことを目指した。WG のメンバーは、これまでと同様に研究班に所属する研究分担者と研究協力者の一部で構成した。

簡易版は、案を作成した後に検討会においてオンラインの会議において内容を協議した。WG では、検討会で簡易版案を修正した後にさらに内容を精査し、修正を加えた。Q&A 集の作成は、検討会においてオンラインで内容を協議した。検討会での協議に並行して、WG においてもメールの交換により Q&A 集案の内容を協議した。

パンフレットの作成は、研究協力者の中から、検討会と WG とは別に新たなグループを立ち上

げて、手引きの概要を平易に解説するパンフレットを作成した。グループメンバーから素案に対する意見を聴取し、修正を加えた。

手引きに記載されている管理プログラムの解説スライドをパワーポイントで作成し、説明動画を作成した。

#### B10. 浴槽水の糞便汚染指標細菌の変更の妥当性の検討

平成 18 年度の研究班(平成 18 年度 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:研究代表者 井上博雄(掛け流し式温泉研究班)、および平成 18 年度 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:研究代表者 倉文明(温泉の泉質研究班))において実施された浴槽水の大腸菌群・大腸菌汚染実態調査のデータに基づいて大腸菌群数と大腸菌数の比率を計算した。

現在の浴槽水の大腸菌群・大腸菌汚染の実態も調査した。3 自治体の 137 入浴施設から浴槽水を 1 検体ずつ採取した。各検体はチオ硫酸ナトリウムを添加したポリ容器に採取し、冷蔵で輸送し、検査を開始するまで冷蔵で保管した。検査法は、現行法と特定酵素基質培地法による定量法および定性法とした。現行法として、検水 1mL を 2 枚のデソキシコレート寒天培地に混和し、35°C で 20 時間培養した。培養後、コロニーの色調に基づいて、プレート 2 枚の平均値から大腸菌群数を算出した。定量法で用いる特定酵素基質寒天培地は、アキュディア™XM-G 寒天培地(島津ダイアグノスティクス)あるいは ES Colimark Agar(栄研化学)とした。検体 1mL を混釈し、35°C で 20 時間培養後に判定した。コロニーの色調に基づいて、プレート 2 枚の平均値から大腸菌・大腸菌群数を算出した。定性法の検査には、特定酵素基質培地である EC ブルー 100P(島津ダイアグノスティクス)または

Colilert (IDEXX)を用いた。あらかじめ培地が分包されたボトルに検水を 100mL 添加あるいは検体 100 mL に培地の 1 包を添加し、35~36°C で 24 時間培養後、青~青緑色/黄色の呈色および蛍光の有無により大腸菌群および大腸菌の判定を行った。定量法の大腸菌の基準を「1 個/mL 以下」、「1 個/mL 未満」、「不検出」の 3 通りと、定性法の基準を「不検出」とそれぞれ設定し、それらによる判定結果と現行法による大腸菌群の基準「1 個/mL 以下」の判定結果との比較をフィッシャーの正確確率検定 (OpenEpi サイト: [https:// www.openepi.com](https://www.openepi.com))により検定した。

残留塩素濃度が基準値未満(遊離残留塩素濃度<0.4mg/L または結合塩素濃度<3mg/L)の浴槽水と基準値以上(遊離残留塩素濃度 $\geq$ 0.4mg/L または結合塩素濃度 $\geq$ 3mg/L)の浴槽水に分け、それぞれの大腸菌群あるいは大腸菌の検出率の差の検定を、フィッシャーの正確確率検定を OpenEpi サイトを利用して行った。

欧米においては水浴場の水や浴槽水の水質基準は、recreational water にかかる基準とされている。今回の浴槽水の糞便汚染指標細菌の対象を大腸菌群から大腸菌への移行に伴う基準の検討に際して参考とするために、欧米の基準やその根拠に関連した文献等を調査した。

#### B11. 浴槽水における大腸菌検査法の検討

入浴施設 126 施設の実際の浴槽水を、大腸菌・大腸菌群の検査に用いた。なお一部試料は、前述の妥当性の検討と重複するものがあるが、集計タイミングが異なり、重複しないものもあった。

大腸菌検査の特定酵素基質寒天培地は、ES コリマーク寒天培地(栄研化学)、アキュディア™XM-G 寒天培地(島津ダイアグノスティクス)、クロモアガー™ECC 寒天培地(関東化学)、クロモカルトコロフォーム寒天培地(Merck)、Pro•media ア

ガートリコロール(エルメックス)、EC ブルー100P「ニッスイ」(島津ダイアグノスティクス)または Colilert (IDEXX)から、いくつかを選んで使用した。現行の大腸菌群試験にデソキシコレート寒天培地 (Merck)を使用した。

定量試験は、検体 1 mL を混積培養し、コロニーの色調に基づいて菌数を計数し、2枚の平均値を算出した。生育したコロニーの菌種同定には MALDI-TOF MS (Bruker)を用いた。定性試験は、培地と検体 100 mL を混合して、35~36°Cで 24 時間培養後、青~青緑色/黄色の呈色および蛍光の有無を判定した。

B12. レジオネラ属菌の培養検査の外部精度管理(UKHSA および FAPAS)への参加と、検査精度に関連する国際的な現状

2024 年度は UKHSA の G136(2024 年 10 月実施)、2023 年度は FAPAS の LG0124(2024 年 2 月実施)に、地衛研 55 機関が参加した。参加地衛研の募集は、国立感染症研究所と地衛研で構成される「衛生微生物技術協議会レジオネラ・レファレンスセンター」を通じて行った<sup>35)</sup>。検査は、UKHSA および FAPAS に指示された方法に加えて、研究班が指定する方法で並行して行われた。すなわち、UKHSA に指示された方法は、各機関の SOP による環境水の標準的な方法の「前処理あり、選択培地」、研究班が指定する方法として「前処理なし、非選択培地」が行われた。一方、FAPAS に指示された方法は、「前処理なし、非選択培地」、その他の手順は各機関の SOP 通りで行う。研究班が指定する方法として、環境水の標準的な方法である「前処理あり、選択培地」を追加した。レジオネラ属菌の検査は前処理と選択培地への接種により菌数の減少が避けられず、研究班としては研究の参考として、その前後の菌数を把握する目的で測定を追加している。地衛研から収集

したデータと、UKHSA および FAPAS から提供を受けたデータを合わせて解析や課題の抽出を行った。検査精度に関連する国外の現状について、WHO や ESGLI (ESCMID Study Group for *Legionella* Infections)が策定したガイドライン等の情報を収集した。

B13. レジオネラ属菌の新規検査法の検討

検査機関 5 施設において UKHSA の外部精度管理に参加し、sample A 及び sample B の 2 検体について、レジオラート/QT 法及び平板培養法の検出を比較した。レジオラート/QT 法は 10 mL プロトコルに従い n=2 で実施して、陽性ウェル数から専用の最確数表を用いて most probable number (MPN) 値を求めた。平板培養法は定法に従い、各施設の方法(無処理・酸処理・熱処理、またはその組み合わせ)で行った。

冷却塔水検体は、各機関に搬入された計 62 検体を対象とした。レジオラート/QT 法は 10 mL プロトコル(無処理と酸処理の 2 通り)で実施した。酸処理は、検体 10 mL に対し、あらかじめ滅菌水 10 mL で溶解した×20 前処理剤 (IDEXX Pre-treatment reagent)を 0.5 mL 加えて 5 分間の後、15% KOH を 0.3 mL 加えて中和した。レジオラートの粉末を 90 mL の滅菌水で溶解し、検体全量を加えよく攪拌した後、Quanti-Tray/legiolert に封入し 37°C で 7 日間培養した。陽性ウェルの一部は GVPC 寒天培地等の培地に塗布し、36°C で培養し、レジオネラ属菌を分離した。

B14. *Legionella pneumophila* ST23 臨床分離株の分子疫学解析

日本国内で 2000 年から 2023 年までに分離された *L. pneumophila* ST23 の 78 株(臨床分離株 61 株ならびに環境分離株 17 株)を用いた。これには 3 事例の公衆浴場集団感染事例の分離株(9 株

(2000年)、9株(2002年)、4株(2015年))が含まれる。菌株 DNA からライブラリを調製後、MiSeq あるいは NovaSeq (Illumina) を用いてリードデータを取得した。系統解析に、クラスタリングパイプラインである *Legionella Clustering* (LegioCluster) pipeline (version 1.0.0) を用いた<sup>25)</sup>。本パイプラインでは、基準配列が自動的に選択される。識別力を高めるために、SNP (Single Nucleotide Polymorphism) に加えて、ME (mutation events; SNP+insertion+deletion イベント) が検出される。1~100塩基の挿入または欠失が単一の indel イベントとして定義される。すべての分離株の SNP と ME をペアワイズ比較した表 (SNP マトリックスならびに ME マトリックス) から、Prim のアルゴリズムに従い、Minimum Spanning Tree (MST) 図を作成される。各分離株の 2 株間 SNP ならびに ME を詳細に検討した<sup>36)</sup>。

#### B15. 分子疫学解析法の活用と環境水における NGS を用いた網羅的解析

過去に入浴施設で発生した集団感染の一事例について、詳細な解析を行った<sup>57)</sup>。患者 22 名から分離の 51 株と、浴槽水や浴槽ふき取りから分離の環境株 43 株中、ゲノム解析には一部の 32 株を用いた。ゲノム解析に供した菌株の内訳は、*L. pneumophila* SG1 ST2398 株が 13 株 (患者由来 10 株と環境由来 3 株)、ST2399 が 8 株 (患者由来 6 株、環境由来 2 株)、環境由来である ST2401 が 1 株、ST601 が 2 株、*L. pneumophila* SG8 が 2 株、SG11 が 6 株である。

散發例の *L. pneumophila* SG2 ST354 の 23 株をゲノム解析に使用した。内訳は、2022 年 7 月に発生した散發例の patient1 の 1 株 (KL2335) と、2022 年 11 月に発生した散發例の同一患者 (patient2) から分離された 14 株 (KL2436-00~KL2436-13)、事例とは全く関係のない入

浴施設 A と B で、それぞれ経年的に分離された 5 株 (KL1194, KL1286, KL1653, KL1880, KL2643) と 3 株 (KL1182, KL1399, KL1884) である。

菌株 DNA から QIAseq FX DNA Library kit (QIAGEN) を用いて DNA ライブラリを調製し、MiSeq reagent Kit v.3 を用いてリードデータを取得した。SNV (Single-nucleotide variant) 解析は、既報に従い実施した<sup>37)</sup>。すなわち、BactSNP によりコールされた SNV から、Snippy によるコア領域の推定、Gubbins による組換え領域の除去に加え、繰返し領域の除去を行った<sup>38,39)</sup>。Reference 配列として *L. pneumophila* str. Paris 株 (Accession no.; CR628336.1) を用いた。

#### (倫理面への配慮)

病原体の取り扱い、国立感染症研究所の病原体取扱管理規定にしたがった。利益相反委員会の指導・管理に従って、研究協力関係にある企業等について、研究班内で情報共有を行った。開示すべき企業からの経済的利益は受けていない。

#### C. 結果および考察

##### C1. アルカリ性温泉 (pH10) におけるモノクロロミンの消毒効果と菌叢に与える影響

モノクロロミン導入前の全 4 検体から *Legionella pneumophila* 血清群 1 (および型別不能) が検出され、定量値は 70~300 CFU/100 mL であった (表 1-1)。モノクロロミン導入後は、浴槽水のレジオネラ属菌が抑制され、良好な衛生状態が得られることを再確認できた。浴槽水中の一般細菌数 (300~5,000 → 不検出~14 CFU/mL) と従属栄養細菌数 (400~24,000 → 1~4 CFU/mL) は大幅に減少した。これまでの実証試験では、従属栄養細菌数が増加した施設があった一方で、増加のない施設も

あった<sup>3,4,53</sup>)。増加しない施設の共通点は一日の入浴者数が比較的少数(100~300名)であり、汚染の負荷量と洗浄の頻度や程度、バイオフィルムの蓄積の有無が関連していると考えられた。

浴槽水中の16S rDNAコピー数は、モノクロラミン導入前後で有意な変化はなく、PMAxx処理サンプルでは非処理サンプルと比較し1/10~1/60程度に減少した(図1-1)。

浴槽水の菌叢解析の結果、モノクロラミン導入前のPMAxx非処理サンプルでは、温泉、湖や土壌などの自然環境中に存在する<sup>40-44</sup>) *Porphyrobacter* 属菌、*Pseudomonas alcaligenes*、*Aquidulcibacter* 属菌、*Tepidimonas fonticaldi*、*Acidovorax lacteus* が優占種であった(図1-2)。導入後は、これらの割合は大きく減少し、ヒトの皮膚の常在菌<sup>45</sup>)である *Staphylococcus* 属菌や *Corynebacterium tuberculostearicum* の存在割合が増加するなど菌叢が変化したが、病原菌として報告されている細菌の割合は増加しなかった。

## C2. 入浴施設におけるレジオネラ属菌による汚染の実態調査および分子疫学的解析の活用

2022~2024年における調査結果を表1に示した。遊離塩素濃度は2023年まで高値に維持されていたが、施設の方針に変更があり、2024年に中央値0.36 mg/Lまで濃度が低下した。汚染の悪化が心配されたが、幸い、レジオネラ属菌が高濃度にはならず、汚染は抑えられていた。レジオネラ属菌の検出が多いカラン4は、利用頻度が低く、遊離塩素の消毒効果が乏しいのかもしれない。

本調査で新たに追加したろ過器試料は、浴室1が不検出、浴室2で分離があった。浴室2ろ過器はレジオネラ属菌による汚染が確認されたものの、低値であり、両浴室のろ過器は管理が良くなされている方と考えられた。例えば、当該施設では営業終了後に毎日ろ過器の逆洗が行われていた。

浴室2のカランとろ過器は異なる血清群の *L. pneumophila* およびレジオネラ属菌であり、ろ過器の汚染の拡散はない模様であった。

しかし、今回分離されたSG1と9は過去にはカランや湯口から分離されたことがあったため、分子疫学的手法で汚染の詳細を検討した。過去の分離株(2015~2023年分離株)を含めたところ、同じST(ST1およびST1907)が過去の分離株にあり、ST1は浴室2湯口(2016年)およびカラン3(2018年)、ST1907はカラン1と3(2015年と2016年)から検出されていた。すなわち、同じSTが8年もの間、分離場所は異なるが、施設内に維持されていた。

これらST(ST1の4株、およびST1907の6株)の一致が偶然によるものか、さらに詳細な検討を加えた(図2-1)。ST1の浴室2ろ過器と湯口のSNV差が1~3と近縁で、これはろ過器の湯が湯口に届くためと考えられた。ST1907の浴室2のろ過器と浴室1のカラン1のSNV差も5~26と近縁であった。ST1907の多くは遊離塩素消毒が徹底される前の2015~2016年に分離された株で、2016年頃はこのST1907が浴室1と2に共通して施設の広い範囲を汚染していたが、その後の対策により汚染が軽減され、現在は浴室2のろ過器に限定的な汚染が残存していると推測された。

## C3. 電解生成オゾン水を用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒・洗浄試験

電解オゾン水の供給を開始するまでの間、汚染が最も高くなる換水前浴槽水のレジオネラ属菌は、不検出の時はあるものの、散発的に検出された(図3-3A)。浴槽水の消毒はジクロロイソシアヌル酸を用いた遊離塩素消毒が濃度0.1~1.1 mg/L程度で維持されていたところ、消毒しきれない汚れがあると懸念された。263日目より電解オゾン水の供給を開始し、濃度を段階的に上昇させたが、

換水前浴槽水に大きな改善はなくレジオネラ属菌が検出された。換水後のレジオネラ属菌の濃度が低いのは当然なこととして、換水前の濃度が高かったのは、ジェット循環配管の問題が大きかったかもしれない。

装置の都合により電解オゾン水の供給を停止した700日目から727日目までの約1ヶ月の間、換水前と換水後の浴槽水共にレジオネラ属菌は連続して検出され、菌数が上昇傾向となった。その後、727日目より1.5mg/Lで電解オゾン水の供給を再開すると、換水前浴槽水の菌数は減少傾向、換水後浴槽水は4週間連続して不検出となり、ろ過器に対する電解オゾン水の消毒・洗浄効果が見られた。しかし前後してレジオネラ属菌が散発的に検出されており、ろ過器の電解オゾン水による消毒だけでは対策しきれなかった。

電解オゾン水のオゾン濃度が上昇するにつれ、換水前オゾン有逆洗水中のレジオネラ属菌は減少傾向となり、ろ過器内の汚れの減少が示唆された(図3-3B)。電解オゾン水の供給を停止した700日目から727日目までの約1ヶ月の間、換水前逆洗水のレジオネラ属菌は13,000 CFU/100mLまで急上昇し、オゾン再開後も菌数はすぐには下がらなかった(厳密にはオゾン無しだが、換水前オゾン有逆洗水と同列に図示)。電解オゾン水の供給の停止中に、ろ過器内に汚れが蓄積したと考えられた。なお、電解オゾン水の供給を再開後に、換水前オゾン有逆洗水のレジオネラ属菌は一時的に減少したものの、4,100 CFU/100mLまで増加して高めが続いたのは、年末年始の入館者数増加により、汚れの負荷が高かったかもしれない。

ろ過器に対する電解オゾン水は一応の効果があると考えられたが、オゾン濃度は不足したようであった。現場で実際に供給している電解オゾン水の減衰の程度を確認したところ、オゾン濃度は60分後に約1/4にまで減少することが分かった。一

方、電解オゾン水のろ過器容量分の供給に、70分を要した。つまり少なくとも、ろ過器下部より供給される電解オゾン水がろ材上部に到達するまでにオゾン濃度は1/4以下になってしまい、加えて汚れによる消費もあり、オゾン濃度の不足が強く示唆された。

本研究の電解オゾン水による消毒のスケールアップは、残念ながら不足があったと考えられた。

#### C4. 薬湯の循環ろ過器を、電解オゾン水を用いて逆洗する試み

電解オゾン水を薬湯に適用して、前後約2年間、薬湯の逆洗水を採水した。電解オゾン水の注入は、開始から1ヶ月間は処理前と比べてレジオネラ属菌を抑制する傾向を示したが、2ヶ月ほどたつと効きづらくなった(図4-1)。2023年2月17日以降排水オゾン処理により電解オゾン水処理を、ろ過器内を排水した後に電解オゾン水を供給する方式で処理を強化したところ、一定の抑制は認められた。ただし、低濃度とは言え散発的にレジオネラ属菌の生菌が検出され、一過性に高い濃度の遺伝子も検出された。ろ過器のろ材は長期に交換されていなかったことから、ろ材を交換し、廃ろ材からレジオネラ属菌を検査したところ、レジオネラ属菌の生菌も遺伝子も全く検出されなかった。

これら循環ろ過系統以外の、レジオネラ属菌の汚染源の発見と対応の詳細については、既報のとおりである<sup>31)</sup>。すなわち、レジオネラ属菌の汚染源が循環排水溝の上蓋にあることを発見し、当該部の消毒洗浄処理を開始してからは、レジオネラ属菌は検出されなくなった。

レジオネラ属菌の汚染源を発見する前の5か月間と発見後の1年2ヶ月間について、各種測定の平均値を比較した(表4-1)。汚染源対策後はレジオネラ属菌が不検出となったが、対策前の浴槽水からレジオネラ属菌の生菌は検出されず、遊離

塩素消毒の効果も十分にあったと考えられた。レジオネラ属菌の不検出は約1年間継続することができた。電解オゾン水のろ過器逆洗による清浄化作用はこれまでの報告<sup>13)</sup>でも認められており、その消毒効果は期待通りに得られていたと考えられた。汚染源対策前に微量なレジオネラ属菌の汚染が続いたのは、ろ過器とは別の理由であり、電解オゾン水が通用しなかったのは当然であった。

過去の電解オゾン水を用いた逆洗では、ATP量、一般細菌数およびFCM法の細菌数が減少していた<sup>13,30)</sup>が、今回はほとんど変化が認められなかった(表 4-1)。施設衛生管理者によると、レジオネラ属菌の汚染源であった排水溝上蓋のATP量は、対策後もゼロになることはなく、時に $10^3\sim 10^4$  RLUを示したとのこと(データ不掲載)。すなわち、逆洗水から検出された細菌は、排除しきれない生物膜由来と考えられた。このような細菌数の高さから生物膜再発が懸念されたが、ろ過器の逆洗水からレジオネラ属菌は検出されず、電解オゾン水による消毒は機能していたと考えられた(図 4-1)。浴場にとって生物膜の生成は避けられず、常時の消毒と定期的な洗浄が重要であることはまちがいない。今回の調査により、衛生管理者には設備の監視と洗浄消毒を継続して行うことの必要性を理解してもらうことができた。

#### C5. フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究

施設 O は、受湯槽と貯湯槽の温度が $60^{\circ}\text{C}$ に達しなかった冬季( $52^{\circ}\text{C}$ )では、受湯槽と遠方客室からレジオネラ属菌の遺伝子(死菌由来)が検出されたが、 $60^{\circ}\text{C}$ を超えた夏季( $64^{\circ}\text{C}$ )では不検出となった。受湯槽や貯湯槽の高温管理はレジオネラ属菌の制御に効果があるとともに、従来から言われていた $60^{\circ}\text{C}$ が維持管理の目標値として適切であることが改めて確認された。対策としてリスク

の高い受湯槽、貯湯槽および遠方浴室の定期的な温度測定を提案して了承された。

施設 P は冬季でも高温を保持できており、源泉や湯口水から若干の ATP は検出されたものの、細菌数やレジオネラ属菌の遺伝子は低く保たれていた。冬季には見られなかった、ATP とレジオネラ属菌の遺伝子(死菌由来)の集積が、夏季に認められた。例えば湯口の温度は、冬季が $58^{\circ}\text{C}$ 、夏季が $52^{\circ}\text{C}$ と、夏季が低めであった。

施設 Q は省力化配管洗浄を実施した。洗浄処理前に培養検査や遺伝子検査で検出限界以下であったにもかかわらず、2 回目のすすぎ後検体からレジオネラ属菌の生菌( $40\text{ CFU}/100\text{ mL}$ )および遺伝子( $13\text{ CFU-eU}/100\text{ mL}$ )が検出されて、翌日の浴槽水からは検出されなかった。ATP量とFCM法の細菌数は洗浄中に急激に上昇し、すすぎにより減少していた。施設の意向で写真は無いが、透明な浴槽水が洗浄中に茶褐色に着色し、中和時は黒色に変化してすすぎにより透明化した。衛生管理者によると、この色の変化はこれまでの配管洗浄ではなかったもので、鉄イオンや生物膜と思われる物が剥離・洗浄されたと考えられた。すすぎ水に含まれていたレジオネラ属菌は、剥離の生物膜に由来と考えられた。ここでは特段の衛生管理の変更は要しなかったが、従来通りの年3回の配管洗浄を継続することとなった。衛生管理者にとって、循環系統の潜在リスクの存在と生物膜対策の必要性の認識を高めるには大いに役立った。

施設 R も省力化配管洗浄を行った(図 5-1)。浴槽水の色は、洗浄前に無色、洗浄中に褐色に変化して、中和で黒色化、2 回のすすぎで元に戻った。中和時に多量の泥状物が出現して、FCM法により大量の細菌が検出され(図 5-1b)、共焦点レーザー顕微鏡で多量の糖と核酸が観察された(図 5-1c)。泥状物は配管系統から剥離の生物膜と考

えられた。レジオネラ属菌は、培養陰性だったが、すすぎ2回目後に遺伝子(14 CFU-eU/100mL)が検出された。施設の衛生管理者とよく対話したところ、ろ材中に温泉由来の鉱石を含んでいることが判明した。本施設では、消毒装置の故障から循環式の廃止を検討していたが、今回の調査結果を伝えたところ、施設が循環式浴槽における生物膜対策の重要性とその難しさを再認識し、衛生管理方法を再考することが了承された。後日、施設自ら、毎日完全換水方式への切替を決断、切り替えしたと聞いている。

施設 Q において、モノクロミン消毒の適用を拡大した。循環システムの概要図を図 5-2 に示した。消毒装置に3系統の制限があって、歩行浴と冷水浴の循環システムの消毒に手動切り替えを用いたが、4つの循環システムにおける浴槽水の塩素濃度の推移は概ね安定して問題なかった。一時的な若干の濃度変動を認めることはあったが、概ね 3.5～4.5 mg/L を維持していた。歩行浴と冷水浴はほとんど値のばらつきが認められず推移した。薬湯は、容量が小さいことから、他の浴槽と比べて値のばらつきが大きいようであった。施設では、薬剤費に関して、コスト的に満足いく状況とのコメントがあった。

ATP 量は 120～550 RLU、FCM 法の細菌数は 2,100～140,000 cells/mL、従属栄養細菌数は 230～3,200 CFU/mL を示し、他に比べて高い値であった。しかし、全ての浴槽水でレジオネラ属菌は、平板法とレジオラートとも不検出であった。レジオネラ属菌の遺伝子は、ジェット浴で 80 CFU-eU/100 mL があったが、他は検出限界値(1 CFU-eU/100 mL)程度に過ぎず、全て死菌と判定された。遊離塩素消毒と異なり、細菌数とレジオネラ属菌の関連はなかった。対策として月に1回程度 10 mg/L×3 時間程度の高濃度モノクロミン洗浄を行うようにした。

#### C6. 高濃度塩素消毒の効果を迅速に評価する、FCM 法による細菌数の測定

高濃度塩素洗浄後の浴槽水試料の測定結果から、細菌数の判定閾値を設定した。FCM 法(miniPOC)の細菌数が多いほど、レジオネラ属菌の遺伝子量が多く、平板培養法によるレジオネラ属菌の生菌検出も増加する傾向が見られた。一部は別装置の FCM 法(RF-500)による細菌数測定も実施し、同様の結果を得た。高濃度塩素消毒の効果判定は、平時の消毒判定に使った 1,000 cells/mL を基準にすると、平板培養法によるレジオネラ属菌の生菌と不一致が散見されたので、改めて 95 検体からレジオネラ属菌の遺伝子及び生菌と比較して、630 cells/mL を基準とした。この FCM 法の細菌数の基準による高濃度塩素消毒の効果判定は、感度 100%、特異度 53%で、有効率 60%であった。判定閾値の違いは、高濃度塩素消毒により細菌破壊が亢進して、通常の塩素管理とは状態が異なったことが理由と考えられた。

以上の結果を踏まえて、現場測定を2施設において実施した。施設 A では FCM 法の細菌数が総じて高く、大半の検体が閾値 630 CFU/mL を超えていた(表 6-1)。すなわち高濃度塩素消毒の効果が不十分と判定された。判定は別の検査でも裏付けられて、実験室持ち帰りの 8 試料中 7 試料からレジオネラ属菌の遺伝子が検出され、消毒が不十分と考えられた。この施設 A は過去に源泉タンクからレジオネラ属菌の生菌が検出されており、濁質が多いことも相まって系内にバイオフィームが残存している可能性が示唆された。

施設 B は FCM 法による細菌数の測定値が低く、閾値を超えることがなく、PCR 法、平板培養法でもレジオネラ属菌は不検出であった(表 6-2)。すなわち高濃度塩素消毒の効果は十分に発揮されていたことが裏付けられた。レジオネラ属菌の

検出の経験がなく、日頃から衛生管理が徹底されており、洗浄消毒の効果が得られやすいと考えられた。例数は少ないが、高濃度塩素消毒の効果判定に、FCM 法による細菌数の測定を現場で実施して、現場判定することができた。高濃度塩素消毒には数時間を要するが、FCM 法による効果判定はその場の数分間で結果が得られた。

#### C7. レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡便な検査法の開発

平板培養法を基準にしたモバイル qPCR 法の相関は、濃縮できなかった 4 検体を除いた 40 検体の場合、感度は LAMP 法と同等、特異度と一致率は LAMP 法や qPCR 法より高く、検討した範囲で最も平板培養法に近いものであった(表 7-1)。仮に濃縮のできなかった 4 試料を不検出相当とみなしたとしても(感度 78.6%、特異度 93.3%、陽性的中率 84.6%、陰性的中率 90.3%、一致率 88.6%)、平板培養法に近い結果であった。モバイル qPCR 法が、最も早く、平板培養法に近い結果が得られた。

フィルターが詰まって半量程度しかろ過できなかった場合は、ろ過できた範囲で試験することが考えられた。ろ過水量の倍半分は、qPCR にとっては Ct 値が 1 の違いでしかなく、NC のインターナルコントロールの誤差程度(±1)の違いでしかなかった。

モバイル qPCR 法が平板培養法に近い結果が得られた理由として、ろ過から DNA 抽出までの抽出効率が qPCR 法と比較して低いため、平板培養法陰性であっても qPCR 法では少ない遺伝子量(高い Ct 値)が検出された検体については、モバイル qPCR 法では検出されなかった可能性が考えられた。しかし、同一検体からモバイル qPCR 法および qPCR 法で抽出した DNA の遺伝子量を qPCR 法の Ct 値で比較した結果は両者の相関を

示した(図 7-1)。全体的に qPCR 法で抽出した DNA の方が遺伝子量が多かったとしても、現場試験を目的とした DNA のろ過抽出には便利で十分と考えられた。

冷凍保管の同一試料を用いて、5 機関でモバイル qPCR 法の再現性を評価したところ、結果は概ね一致した。NC のインターナルコントロールの Ct 値も安定しており、モバイル qPCR 法は通常レジオネラ属菌の検査を実施している機関・実施者であれば、問題なく実施可能な方法と考えられた。

#### C8. 保健所、衛生部局による公衆浴場でのレジオネラ症対応、監視指導の実態

都道府県や市において、モノクロラミン消毒の質問を行った(表 8-1)。この結果、半数以上の自治体で何らかの規定に基づきモノクロラミン消毒を認めていることがわかった。その他の意見として、消毒方法の規定や明記したものは無いが、効果を有する消毒を認めている回答が多数あった。

立入検査の現場での採水と試験について、利用や関心の有無を方法ごとに選択してもらった(表 8-2)。DPD 法の遊離塩素測定は大半の保健所等で導入されていた。その他の方法についても、導入は少ないが、関心が多いとわかった。

レジオネラ属菌の培養検査は待ち時間が 1~2 週間と長く、それを補う迅速な検査方法がいくつか整備されている。レジオネラ属菌の迅速試験の利用や関心の有無を方法ごとに選択してもらった(表 8-3)。「死菌も検出される PCR 法や LAMP 法(PCR 検出、測定に数時間)」の利用有りが最も高く、それ以外の検査方法はほぼ利用されていなかった。関心ありの割合は高いことがわかった。

浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の探知方法は、「施設からの報告」が 36 件(100%)と、すべての保健所等で施設からの連絡体制があった(表 8-4)。保健所等としては、受け身の体制が主であ

ることが判明した。その他、複数の探知方法がある一方、反対に施設からの報告が無い場合の課題も伺えた。

浴槽水等のレジオネラ属菌検査で陽性(10 cfu/100 mL以上)を探知した場合の対応は、「電話や対面等で施設の状況を確認した後、すみやかに立入検査を行う」の回答が36件(100%)であり、保健所等としてレジオネラ属菌検査陽性時の対応体制が確立されていた(表 8-5)。近年3年間に保健所等が把握した浴槽水等のレジオネラ属菌の検出状況は、「管内施設で検出実績がある」が29件(80.6%)と約8割の保健所等で検出報告を受けていた(表 8-6)。詳細は省くが、検出状況の内訳から、毎年度、検査検体の約1割で陽性検出、毎年度半数程度の保健所等で1件以上の陽性検出があり、特定地域に限らず全国どこでもレジオネラ属菌による汚染が存在すると判明した。

旅館業や公衆浴場の事業者に対する情報発信として、講習会・研修会・説明会等の開催状況を質問したところ、「情報発信は行っていない」は0件(0%)であり、何らかの情報発信を行っていることがわかった。資料について意見を求めたところ、表 8-7 の通りであった。特に、「全国共通の資料として、衛生対策関係のものがあれば良い(加工可能なもの、電子データにて提供)」、「全国共通の資料として、レジオネラ症対策関係のものがあれば良い(加工可能なもの、電子ファイルにて提供)」が多く、本研究班では別の研究としてこれに対応した。

#### C9. 入浴施設の衛生管理の手引きの改定

簡易版は手引きにおける各設備の全ての項目を網羅することとし、各項目の内容を1~2ページにまとめた(資料 9-1)。各設備の項目の構成は、以下のとおりとした。

・公衆浴場における衛生等管理要領での記載箇

所・キーポイント・設備の概要・管理・レジオネラ属菌が検出された場合の措置

設備の概要(構造)については、アンケート調査で寄せられた手引きに対する回答の中に、図を掲載してほしい、カラーの図を載せてほしいとの複数の要望があったことに対応した。レジオネラ属菌が検出された場合の措置では、レジオネラ属菌が検出された場合には素早くかつ確実な対応が求められるため、必要に応じて複数の措置を併記して選択肢を複数挙げ、幅広く対応することが可能になるようにした。

Q&A 集に掲載する項目は、令和4年度から継続的に検討したものと、令和5年度に実施したアンケート調査を参考に、衛生管理上の重要性等に基づいて選び出した。選び出した項目を、「浴槽の管理」、「浴槽水の管理」、「配管の管理」、「付帯設備の管理」、「その他の設備の管理」及び「総合衛生管理プログラム」に分類した(資料 9-2)。

手引の内容をできるだけ簡素化した、誰もが手に取りやすく、詳細は手引きを参照できる、パンフレットを作成した(資料 9-3)。手引は施設管理者や環境衛生監視員にとって有益な内容であるが、小規模入浴施設や福祉施設の担当者等には敷居が高いのでは、との危惧が寄せられていた。

入浴施設の管理の不備やミスを減らすため、総合衛生管理プログラムが提案されている。その必要性及び概要を解説するための説明スライドを用意した。それを口述で解説する動画は Web 掲載を検討する。「レジオネラ症防止対策における総合衛生管理プログラムの必要性」は保健所の環境衛生監視員及び入浴施設の営業者などに向けて作成した。「入浴施設におけるレジオネラ問題への取り組み方 リスク軽減のための体制づくり」とした動画は、小規模な入浴施設の営業者が管理プログラムを理解しやすいように、より平易な内容とした。

#### C10. 浴槽水の糞便汚染指標細菌の変更の妥当性の検討

浴槽水の糞便汚染指標に関するワーキンググループを立ち上げて協議した。浴槽水以外の水環境の糞便汚染指標が大腸菌群から大腸菌へ変更されている状況を鑑み、浴槽水も大腸菌に変更することは妥当とした。検査法は、特定酵素基質寒天培地の定量法と、プール水と同じ特定酵素基質液体培地による定性法の意見があった。ここでは詳細を省くが、こうした議論を受けて、1)水環境の糞便汚染指標細菌検査の意義、2)指標細菌が大腸菌群から大腸菌に移行する背景、3)各種水環境の大腸菌群と大腸菌にかかる水質基準の比較、4)糞便汚染指標細菌の定量法と定性法の比較の課題をそれぞれ検討した。

過去の浴槽水における大腸菌群と大腸菌の値から比率を計算した。大腸菌群と大腸菌のいずれも検出された検体は、掛け流し式温泉研究班では187検体中70検体、温泉の泉質研究班では61検体中25検体であった。大腸菌群数と大腸菌数の範囲は、それぞれ大腸菌群数が $<3 \sim 24,000$ MPN/100mL および $<3 \sim \geq 2,400$ MPN/100mL、大腸菌数が $<3 \sim 2,400$ MPN/100mL および $<3 \sim 1,100$ MPN/100mL であった。これらのデータを対象にして、Smimov-Grubbs 検定を行ったが外れ値に該当するデータはなかった。すべての検体における大腸菌数/大腸菌群数の比率は、掛け流し式温泉研究班で0.006~1.0、平均0.55、温泉の泉質研究班で0.04~1.0、平均0.62であった。

現在の浴槽水137検体の大腸菌群・大腸菌汚染の実態を調査したところ、いずれかの方法により20検体(14.6%)から大腸菌群が、14検体(10.2%)から大腸菌が検出された。大腸菌の定量法の基準を「1個/mL以下」、「1個/mL未満」、「不

検出」、大腸菌の定性法の基準を「不検出」とそれぞれ設定したと想定し、現行の大腸菌群検査と比較した(表10-1~表10-4)。フィッシャーの正確確率検定では、いずれも検出率に差はなく、大腸菌の定量法と定性法のいずれの基準でも、現行法と同じ結果が得られていた。ただし、大腸菌検出は14検体に限られており、十分な検体数ではなかったことに注意を要した。

なお、大腸菌群と大腸菌のいずれでも残留塩素濃度が基準値を満たす浴槽水で検出されることがあり、消毒効果が不足していることが推測され、大腸菌群・大腸菌検査に意義があることが改めて示された。

欧米のrecreational waterにおける大腸菌の基準は、曝露集団における胃腸疾患の発生の有無により評価、決定されていた。基準と疫学調査の詳細はここでは省略するが、米国EPAが2012年に定めたrecreational waterにおける大腸菌の基準は(126CFU/100mL及び)100CFU/100mLとしていた<sup>54, 55</sup>。EUの浴場に関する基準では大腸菌数は $\leq 500$ CFU/100mLがexcellentとされており、ドイツでは大腸菌のNOAEL(最大有害無作用レベル:有害な影響を示さない最大数)が100CFU/100mLと報告されていた<sup>56</sup>。これらと比べても、日本の浴槽水の大腸菌数の基準を1個/mL以下とすることは妥当であるといえた。前述の国内過去の大腸菌数/大腸菌群数の比率にあわせることも考え方としてありえなくはないが(0.55CFU/mL以下あるいは0.62CFU/mL以下)、1個/mL以下とは大差なかった。

#### C11. 浴槽水における大腸菌検査法の検討

浴槽水の6.3%~10.3%が大腸菌陽性となった(表11-1)。既報の浴槽水の大腸菌検出率1.0%(1/102検体)と比較すると高値であった<sup>46</sup>。この要因として、本研究では浴槽水の56.3%(71/126検

体が温泉水で、温泉水の汚染が多い(大腸菌検出 14%=10/71 検体)ことが理由と考えられた。温泉で残留塩素濃度の低いことが、少なくなかった(表 11-2)。過去の、かけ流し式温泉における大腸菌検出率 22.2%(88/396 検体)と同程度ともいえた<sup>47)</sup>。

大腸菌・大腸菌群の検出を検査方法ごとにみた場合、定量試験よりも定性試験の方が高く、定性試験のみで大腸菌陽性となった検体が 5 検体あった(表 11-3)。これは、定性試験では供される試料の量が定量試験に比べて 100 倍多いために検出感度が 100 倍高くなるためと考えられた。定量試験における大腸菌の検出数・検出菌数は、大腸菌群数と比較しても同程度であった。

なお、培地の種類により、菌数や識別能に多少の差異が認められたが、試料の性質によるのか、培地のロットによるのかは、検討した範囲からは不明であった。最初は複数培地に標準株の添加試験など、試料と培地の相性などを理解したうえでの実施が好ましいと考えられた。また、大腸菌を添加した予備試験で、温泉水や海水を含む試料 100 mL を直接に用いる大腸菌定性試験は約半数に偽陰性が生じて、培地説明書にある通り試料の 10 倍希釈が必要の様であった。

C12. レジオネラ属菌の培養検査の外部精度管理(UKHS A および FAPAS)への参加と、検査精度に関連する国際的な現状

外部精度管理の UKHS A G136 に参加した。G136 の全参加者数は 258 名、うち地衛研から 55 名が参加して 55 名が結果を報告した。配布試料にはレジオネラ属菌以外の細菌も含まれており、各機関における試験は SOP にある、酸・熱の前処理と選択培地での培養を基本としている。UKHS A では、Z スコアの絶対値 2 以内および参加者中央値 $\pm 0.75\text{Log}$  以内が良好範囲内とされる。

今回、Z スコアが算出された参加者のうち良好範囲内であったのは、G136-A は 32/38 名(84.2%)、G136-B は 46/54 名(85.2%)であった。UKHS A では、Z スコアは各参加者へ個別に返却されて参加者全体の表示がないので、地衛研参加者の Z スコアのグラフを別途作成した(図 12-1)。

WHO の外部精度管理の概説には、外部精度管理は懲罰的であってはならないこと、教育的なものにとらえ、検査室の改善努力を方向づけるためのツールとして使用するべきとの記載がある<sup>48)</sup>。外部精度管理の結果を活用して、検査技術向上に繋げることが重要である。良好範囲外であった参加者のデータを確認したところ、入力ミスや計算の単位間違いと思われるものがあった。そのため、参加者への注意点として、正しい計算と入力時の確認を十分に行うように、代理店を通じて周知することとした。

FAPAS LG0124 の全参加者数は、71 名であった。配布試料 2 サンプルのうち、LG0124-A はブランク試料で、70 名が不検出と回答している。LG0124-B の全参加者 71 名のうち、レジオネラ属菌を検出したのは 69 名、Z スコアが算出された 67 名のうち、良好範囲内であったのは 62 名(93%)であった(図 12-2)。地衛研からの参加 55 名のうち、LG0124-A は全 55 名が不検出と回答した。LG0124-B の結果を報告したのは 54 名、このうち Z スコアが算出されたのは 53 名で、絶対値 2 以内の良好範囲内が 52 名(98.1%)、良好範囲外は 1 名(1.9%)であった。Z スコアが算出されなかった 1 名は、定量上限より多いと回答した。

FAPAS の配付試料はレジオネラ属菌以外の細菌が含まれないため、前処理(酸または熱処理)は行わず、培地は選択培地の代わりに非選択培地を用いる。その他は各機関の SOP 通りを行う。今回、地衛研参加者は、FAPAS 指定の方法に加えて、標準的な環境水の検査法(前処理あり、選

拓培地)も並行した。酸処理、熱処理の菌数は、いずれも一桁程度減少した。

UKHSA、FAPAS いずれも ISO 17043 (技能試験提供者の能力に関する一般的要求事項)の認定を受けた外部精度管理提供者であり、信頼性が保証された世界標準に沿った内容になっていた。ESGLI (ESCMID Study Group for *Legionella Infections*) が策定したガイドラインには、水試料のレジオネラ属菌の検査は、認定範囲にレジオネラ属菌の培養検査を含み、外部精度管理で評価を受けている ISO 17025 (試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項)の認定検査機関に依頼するべきであると記述があった<sup>49)</sup>。また、CDC の *Legionella Control Toolkit* にはレジオネラ属菌の検査を検査機関に依頼する際に考慮すべきこととして、ISO 17025 のような認定を受けていることを挙げている<sup>50)</sup>。

外部精度管理に関する現状を把握するため、参加者にアンケート調査を行った。半数以上の地衛研で外部精度管理に参加したい意向はあるものの、参加費の予算化が難しいことが明らかになった。

### C13. レジオネラ属菌の新規検査法の検討

UKHSA の外部精度管理に参加した 5 施設において、sample A 及び sample B の両方からレジオネラ属菌が検出された(図 13-1)。

Sample A は、UKHSA が示した菌量 93 CFU/100 mL に対して、レジオラートは平均 20.9 MPN/100 mL (中央値 22 MPN/100 mL)と若干少なく、C 及び E の 2 施設は n=2 の培養のうちの片方が不検出となった。平板培養法では平均 126 CFU/100mL (中央値 50 CFU/100 mL)であった。平板培養法が外れ値の 500 CFU/100 mL に引張られていることを考慮すると、レジオラートは遜色ない結果と言えた。sample A は元々のレジオネ

ラ属菌の量が少なく、前処理を行えば更に菌数が減ることになり、地衛研 55 参加中で不検出は 17 (31%)あったと聞いている。

Sample B は UKHSA が示した菌量 3,800 CFU/100 mL に対して、レジオラートは(すべてのウェルが変色した 3 試料を除き)平均 18,700 MPN/100 mL (中央値 17,178 MPN/100 mL)であった。平板培養法で検出された菌量は平均 8,570 CFU/100 mL (中央値 10,000 CFU/100 mL)であった。こちらも菌数が桁違いにはならない、大差ない結果と言えた。

冷却塔水計 62 検体でも、結果に遜色がなかった。レジオラート(無処理)と平板培養法がともに陽性は 18 検体、ともに陰性は 24 検体、感度は 95%、特異度は 56%、結果一致率は 68%であった(表 13-1)。レジオラート陰性・平板培養陽性の 1 検体は、10 CFU/100 mL と少ない菌数であった。レジオラート陽性・平板培養不検出の 19 検体のうち、遺伝子検査を実施した 10 検体中 7 検体でレジオネラ属菌の遺伝子が陽性であった。高感度は、レジオラートが誤りではなく、前処理の有無が理由かもしれない。一方で 10 検体中 3 検体に遺伝子陰性があり、レジオネラ属菌以外の菌による偽陽性が生じることもあって、酸処理後がより正確かもしれない。冷却塔水のレジオラート(酸処理)と平板培養法の比較は、ともに陽性が 12 検体、ともに陰性が 39 検体、感度は 63%、特異度は 91%、結果一致率は 82%と、特異度と一致率が向上した(表 13-2)。余力があれば無処理と酸処理の両方のレジオラート培養を行うことも考えられた。

### C14. *Legionella pneumophila* ST23 臨床分離株の分子疫学解析

リファレンス配列に、*L. pneumophila* strain ST23 (GenBank accession. No. LT632615) がパイプラインにより選択された。

2000年と2002年の集団感染事例内では、2株間SNPが0~4、MEが0~14と小さい値を示した分離株の集団を作った。一方、互いに関連のない菌株間では、SNP:5~15,443、ME:7~15,690と株間のSNPとMEの数値が大きく、他の分離株から離れて位置した(図14-1、図14-2)。従来のSBT法では区別できなかった菌株が区別できるようになり、解像度が向上した。全ゲノム解析は、ST23分離株間の識別に有用であった。

2015年の集団感染事例の分離株間においては、2株間SNPならびにMEが大きい株と小さい株が存在した。2株間SNPとMEが大きい2つの環境分離株の関係については、汚染の場所(浴槽水とシャワー、あるいは男女別浴室)による違いを識別することができたと考えられた。2株間SNPとMEが小さい臨床分離株と環境分離株の関係については、感染源がシャワーであった可能性が解釈の一つとして考えられた。しかしながら、浴槽水ならびにシャワー由来の分離株がそれぞれ1株のみで、分離株間の関係性をより正確に判断するためには、環境中のレジオネラ属菌の多様性を考慮すると、複数の環境分離株があることが望ましいと考えられた。本研究班の金谷らによると、浴槽水由来のすべての variants を得るのに、少なくとも7株の解析が必要との報告がある<sup>51)</sup>。

同一都道府県内での散发事例において、SNPならびにMEの小さい菌株が存在した。これらは感染源不明とされていたが、未知の同一の感染源が存在した可能性、あるいは近縁のレジオネラが地域に定着していた可能性も考えられた。このような解析事例を蓄積することで、将来の感染源の解明に役立てられることが期待される。

#### C15. 分子疫学解析法の活用と環境水におけるNGSを用いた網羅的解析

*L. pneumophila* ST2398を中心とした過去の集

団事例のPFGE、MLVA、SBT法は相関していることが確認されている<sup>57)</sup>。これに対するゲノム解析による型別の結果は、対応して矛盾しなかった。ST2398とST2399は、SBT法で2遺伝子の違いがあったが、ゲノム系統樹では同じクラスターにあり分離していない(図15-1A)。これがSNV解析ではST2399とST2398の2つのクレードに分かれて、クレード間のSNV数は30(P09-1とP09-2)~42(P04-4とP37-1)個であった。これらは一見、離れているように見えなくもないが(図15-1B)、一つの集団感染から同時に取得された患者分離株と環境分離株であり、同一施設で蓄積された僅かな差異の変異を持つ、近縁のはずである。実際、同じ集団感染の少なくとも3人の患者からST2398とST2399の両方の株が分離されており、患者らはST2398とST2399に同時に暴露されたと推測された。すなわち、本報告のSNV数の30~42個は、一つの集団感染に由来することの目安になると考えられた。この30~42個は、他の集団感染事例(*L. pneumophila* SG1 ST138)に報告にあった、同一患者株間のSNV数0~40個と同様の数値であった<sup>39)</sup>。

*L. pneumophila* SG2 ST354に関して、散发例2名の患者分離株と、疫学的な関連性のない2か所の入浴施設から分離された環境分離株のゲノム解析は、Gubbinsによる組換え領域の除去をする場合としない場合で結果が異なった(図15-2)。Gubbinsなし(組換え領域を残したまま)の場合、コアゲノムサイズは2,782,307bp、ゲノムカバー率が79.4%であったのに対し、Gubbinsあり(組換え領域を除外)の場合、コアゲノムサイズが2,289,726bp、ゲノムカバー率は65.4%と減少した。組換え領域の除去によってコアゲノム領域が492,581bpも削られ、そこに含まれる25,000個あまりのSNVが除外された。患者分離株と施設Bは、Gubbins解析なし(組換え領域を残したまま)であ

れば、異なるクレードに分かれた。施設 A は、それでも患者分離株との SNV の差異が小さいままで、関連性があるように見えた(図 15-2B)。この ST354 は、疫学的に関連性がなくても SNV 数が小さいことがありえたことから、解析と判断には注意が必要であった。

なお、入浴施設に由来の株は、分離時期が年単位で異なっている、SNV の違いは数個と限られており、保存性が高かった。他方、SNVs の差が少ない感染事例が発生した際には、疫学的背景を欠いた解釈は誤った結論につながり得るため、疫学情報との統合が不可欠と考えられた。このような集団事例や分離頻度の高い遺伝子型のゲノム解析を蓄積しておくことは有用と考えられた。

以上の通り、公衆浴場の衛生管理の推進に有用な結果を得た。

①高 pH や薬湯でのモノクロアミン消毒の効果と有用性を改めて確認できた。高 pH の実施でモノクロアミン消毒の試験を行い、消毒法の普及にも努めた。モノクロアミン消毒下の菌叢を解析した範囲において、病原細菌の増加は認められず、特段の問題はなかった。レジオネラ属菌による汚染を遊離塩素消毒で対策している施設の追跡では、汚染は拡大せず抑えられていた。ろ過器のオゾン消毒は、小規模な薬湯では問題なかったが、大きいろ過器へのスケールアップでは不足が生じた。省力化配管洗浄剤を使用して、現場施設の衛生向上に寄与した。

②レジオネラ属菌の培養検査は 1~2 週間の時間を要することから、より迅速な検査法が望まれていた。フローサイトメトリー法などの迅速な検査を活用して、複数施設と丁寧な対話を行い、汚染源を特定したり、施設の理解や管理の向上につなげることが出来た。可搬式フローサイトメーターを

利用して、高濃度塩素消毒の効果を現場判定できた。モバイル qPCR 法は、培養検査法に近い、もっとも早いレジオネラ属菌の検査であった。平時には、こうした迅速な検査が有効と考えられた。

③保健所の職員を対象に、アンケート調査を行い、公衆浴場でのレジオネラ症対応、監視指導の実態が明らかになった。多くの自治体でモノクロアミン消毒が認められていた。迅速検査に関心があっても、導入はこれからであった。直近3年間で、管内施設にレジオネラ属菌の検出の経験があった。講習会等に使える資料が求められていた。手引の簡易版、Q&A 集、パンフレット、総合衛生管理プログラムの解説用スライドと動画を作成した。

④浴槽水の大腸菌群の検査を大腸菌に移行することを検討し、妥当とした。大腸菌群数と大腸菌数の実測に大きな差はなかった。容易ではないレジオネラ属菌の培養検査の精度向上に、UKSHA の EQA と Fera の FAPAS への参加を支援した。Z スコアの基準外になる施設もあり、精度管理の必要性を改めて感じた。難しい培養検査の操作を避けられる新規のレジオラート法の検討も進めており、外部精度管理と冷却塔水等の測定は、従来の平板培養法と遜色なかった。

⑤分子疫学の向上に、全ゲノム解析の検討を進めた。従来の SBT 法では区別できなかった ST23 の全ゲノム解析を行い、識別できるようになった。ST2398 を中心とした全ゲノム解析では、SNV 数が 30~42 個は近縁であることを示した。ST354 の解析では、疫学的に関連性のない株間で識別できない組み合わせが見つかり、状況に応じた判断の必要性もあると判明した。

## D. 結論

D1. アルカリ性温泉 (pH10) におけるモノクロアミンの消毒効果と菌叢に与える影響

pH10 程度のアルカリ性温泉において、モノクロ

ラミン消毒によるレジオネラ属菌に対する消毒効果を再確認することができた。一般細菌数、従属栄養細菌数は減少したが、16S rDNA コピー数は大きな変化がなかった。モノクロラミン消毒により菌叢の変化が生じて、病原菌の増加はなく、良好な衛生状態を維持できたと考えられた。

#### D2. 入浴施設におけるレジオネラ属菌による汚染の実態調査および分子疫学的解析の活用

2015 年から追跡してきた入浴施設 1 か所における、2022～2024 年の汚染実態についてまとめた。遊離塩素濃度は高く維持されていた。浴室 2 のカランと新たに検査対象に追加した浴室 2 のろ過器からレジオネラ属菌が分離されたものの、低値であったことから、増殖は抑えられていると考えられた。血清群、SBT 法および SNV 解析の結果から、過去に汚染の拡散があったが、現在はろ過器からの汚染は拡大しておらず、一部の配管に限定的な汚染が残存していることが推定された。

#### D3. 電解生成オゾン水を用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒・洗浄試験

汚濁量の多い大型ろ過器(1.8m<sup>3</sup>)を対象として、電解オゾン水による消毒・洗浄のスケールアップを試みた。ろ過器に対して、有効容量分の電解オゾン水を毎日逆洗前に供給した。オゾンの不足を感じて濃度を 0.5 から 1.5mg/L まで段階的に上昇させたが、なお不足が示唆された。オゾン消毒が届かない、ジェット循環配管の付帯といった条件の悪さもあった。ろ過器容量分の電解オゾン水供給に 70 分間を要して、その間のオゾン濃度の低下も疑われた。本研究のオゾン消毒のスケールアップは残念ながら不足があり、ろ過器の大きさと逆洗速度といった要因を計算にいれることが必要と考えられた。

#### D4. 薬湯の循環ろ過器を、電解オゾン水を用いて逆洗する試み

薬湯の循環ろ過器に電解オゾン水を用いた逆洗を行った。当初、レジオネラ属菌の検出がわずかに続いたが、それはろ過器の問題ではなく、排水溝の汚染源によるものだった。汚染源の対策後はレジオネラ属菌の不検出を長期に維持できた。

#### D5. フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究

FCM 法などの非培養の検査法を用いて浴槽水の衛生状態を迅速評価して、施設との対話から管理に反映することができた。施設 O は、冬季と夏季の比較により、60°C という管理指標の有益性を施設管理者は認識できた。施設 P も、温度と非培養検査法の結果から、施設管理者は配管等のリスク管理の重要性を認識できた。施設 Q と R は配管洗浄を行い、生物膜対策の重要性を再認識できた。モノクロラミン消毒を拡大適用した施設 Q は、消毒濃度は安定、レジオネラ属菌の不検出を長期に維持できた。

#### D6. 高濃度塩素消毒の効果を迅速に評価する、FCM 法による細菌数の測定

FCM 法の細菌数が多いほどレジオネラ属菌の遺伝子量が多く、平板培養法によりレジオネラ属菌の生菌も検出される傾向となった。通常の消毒時の浴槽水に比べて、高濃度塩素消毒の効果を判定する閾値(FCM 法の細菌数)が若干低くなった。FCM 法の細菌数は、迅速に測定結果が得られること、現場に持ち込んでの測定が可能なこと、そしてレジオネラ属菌の汚染との相関が見られることから、浴槽水の衛生管理や高濃度塩素による消毒効果の評価に提案したい。

#### D7. レジオネラ症の感染源調査のための迅速・

#### 簡便な検査法の開発

モバイル qPCR 法に、微細流路チップを用いたろ過濃縮・簡易 DNA 抽出法を組み合わせた、新たな方法を検討した。平板培養法を基準として、モバイル qPCR 法の感度は LAMP 法と同等、特異度と一致率は LAMP 法や qPCR 法より高く、モバイル qPCR 法は平板培養法に近い結果が得られた。5 機関でモバイル qPCR 法を実施した結果、判定結果は概ね一致した。

#### D8. 保健所、衛生部局による公衆浴場でのレジオネラ症対応、監視指導の実態

保健所等の職員を対象に、公衆浴場等でのレジオネラ症対応、監視指導の実態についてアンケート調査を行い、21 自治体 36 保健所等から回答を得た。モノクロミン消毒は多くで認められていた。立入検査時の現場試験として、DPD 法による遊離塩素濃度測定が行われていた。迅速検査に関心が持たれたが、導入はこれからであった。施設浴槽水等のレジオネラ属菌陽性の探知は、「施設からの報告」の受け身の体制が主であった。探知されれば速やかに対応がなされていた。近年 3 年間のレジオネラ属菌陽性は、多くの保健所等で報告を受けていた。公衆浴場等に向けて、何らかの情報発信が行われていた。その業者向け講習会、研修会、説明会等を行うにあたり、全国共通の資料が求められていた。

#### D9. 入浴施設の衛生管理の手引きの改定

入浴施設の衛生管理の手引きの簡易版、Q&A 集、パンフレット、総合衛生管理プログラムの解説スライドと動画を作成した。

#### D10. 浴槽水の糞便汚染指標細菌の変更の妥当性の検討

浴槽水の水質基準における糞便汚染指標を大

腸菌群から大腸菌に変更すること、ならびに変更する場合の基準と検査法の妥当性について、WG において検討した。糞便汚染指標細菌を大腸菌群から大腸菌に変更することについては、他の水環境の基準との整合性や入手可能な検査法の存在から、妥当であるとした。大腸菌の検査法については、特定酵素基質寒天培地を使用した定量法とする意見と、特定酵素基質液体培地による定性法にするとの意見があった。大腸菌の基準は、定量法の場合は現行の 1 個/mL 以下、1 個/mL 未満および検出されないことの 3 案が、定性法の場合は検出されないことが挙げられた。過去の 2 つの研究班において得られた浴槽水の大腸菌群と大腸菌の汚染実態調査のデータに基づく大腸菌数/大腸菌群数の比率は、0.55 および 0.62 であった。現在の浴槽水 137 検体の汚染実態調査では、大腸菌定量法の 3 種の基準と、定性法不検出のいずれの基準でも、統計学的には現行法の大腸菌群と有意差はなかった。欧米の水浴場の大腸菌の基準は、米国は 100CFU/100mL と 126CFU/100mL、ドイツは 100CFU/100mL としていた。

#### D11. 浴槽水における大腸菌検査法の検討

126 検体の大腸菌定量試験は、大腸菌群の試験と同程度の結果であった。大腸菌の定量法は公衆浴場の水質基準として運用可能であり、大腸菌群検査を大腸菌検査へ移行できると考えられた。

#### D12. レジオネラ属菌の培養検査の外部精度管理(UKHSa および FAPAS)への参加と、検査精度に関連する国際的な現状

本研究は、レジオネラ属菌の培養検査における外部精度管理の整備と検討を進めてきた。今現在、ISO 17043 の認定を受けている英国 2 種の外部精度管理に日本国内から問題なく参加可能と

なった。引き続き、外部精度管理の課題の抽出を行い改善に努める。

#### D13. レジオネラ属菌の新規検査法の検討

レジオラート/QT 法を用いて、5 機関が外部精度管理に参加した。冷却塔水 62 検体を検査した。概ね平板培養法と同等の結果であり、問題なかった。高感度には無処理、特異性と一致率には酸処理、状況が許せば無処理と酸処理を並行実施が有用と考えられた。

#### D14. *Legionella pneumophila* ST23 臨床分離株の分子疫学解析

全ゲノム解析により、従来の SBT 法による型別では区別できない ST23 型を高解像に識別できた。

#### D15. 分子疫学解析法の活用と環境水における NGS を用いた網羅的解析

過去の集団事例の分離株における PFGE、MLVA、SBT の解析結果に対して、全ゲノム解析は矛盾せず対応が得られた。同一の集団感染に由来したことから、異なる ST であっても、SNV 数が 30~42 個と近縁であった。ST354 は、Gubbins による組換え領域の除去の有無で SNV 数が大幅に変化した。除去しなかったとしても、疫学的に関連性のない株間の SNV 数が小さいことがあり、状況に応じた疫学的判断が必要と考えられた。

以上、公衆浴場の衛生管理の推進に有用な結果を得た。浴槽水のモノクロラミン消毒は、レジオネラ属菌に対して有効であり、菌叢などにも問題は見つかっていない。遊離塩素消毒も適切に対策していれば、汚染の拡大を抑止できていた。循環式浴槽のろ過器にオゾンを注入して消毒するには、汚染の負荷の程度や注入速度などを考慮する必要があり、スケールアップは単純ではなかつ

た。フローサイトメトリー法などの非培養の検査を用いて、複数施設との丁寧な対話により、汚染を特定したり、管理を向上することが出来た。可搬式フローサイトメーターを利用して、高濃度塩素消毒の効果を現場で判定できた。モバイル qPCR は、現場で迅速にレジオネラ属菌の検査が可能と考えられた。保健所の職員を対象にアンケート調査を行い、公衆浴場でのレジオネラ症対応、監視指導の実態が明らかになった。講習会向けの資料が求められており、手引の簡易版、Q&A 集、パンフレット、総合衛生管理プログラムの解説スライドと動画を作成した。大腸菌群検査の大腸菌検査への移行を検討し、測定結果に差がないことを確認した。外部精度管理の UKHSA の EQA と Fera の FAPAS への参加を支援した。レジオラート/QT 法によるレジオネラ属菌の培養検査は、平板培養法と遜色なかった。国内外で高頻度に検出される ST23 の全ゲノム解析を行い、解像度を高めることができた。ST2398 では近縁の SNV 数が 30~40 と目安が得られた。ST354 では、疫学的な関連性がなくても識別できない菌株が見つかり、状況に応じた判断の必要性が指摘された。

#### E. 引用文献

- 1) 杉山寛治:環境水からのレジオネラ・宿主アーマ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, 防菌防黴, 47, (2019), 159-166
- 2) 長岡宏美, 泉山信司, 八木田健司, 杉山寛治, 小坂浩司, 壁谷美加, 土屋祐司, 市村祐二, 青木信和: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(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

- 平成 28 年度分担研究報告書
- 3) 柳本恵太, 泉山信司, 望月映希, 大森雄貴, 山上隆也, 植松香星, 久田美子, 田中慶郎, 杉山寛治, 茶山忠久, 市村祐二:有機物を含む温泉におけるモノクロラミン消毒, 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 令和 3 年度分担研究報告書
  - 4) 柳本恵太, 植松香星, 望月映希, 鶴田美美, 山上隆也, 久田美子, 田中慶郎, 杉山寛治, 茶山忠久, 市村祐二:モノクロラミン消毒実証試験における浴槽水の菌叢解析, 厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)公衆浴場の衛生管理の推進のための研究 令和 4 年度分担研究報告書
  - 5) 黒木俊郎, 泉山信司, 大屋日登美, 陳内理生, 中嶋直樹ら. 入浴施設及び医療機関におけるレジオネラ汚染実態調査. 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)」令和 3 年度分担研究報告書
  - 6) 公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について(厚生労働省大臣官房生活衛生・食品安全審議官、生食発 1210 第 1 号一部改正、令和 2 年 12 月 10 日)、pp.13、(<https://www.pref.chiba.lg.jp/eishi/koushuueisei/sonohoka/documents/20201210kaiseituut-zenbuni.pdf>, 2025/4/1 現在).
  - 7) 循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル、pp.22-23、2019 年 12 月改正、(<https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/001401965.pdf>, 2025/4/1 現在).
  - 8) (公財)日本建築衛生管理教育センター:レジオネラ症防止指針(第 4 版)、pp.110、2017 年 7 月.
  - 9) (特非)日本オゾン協会:オゾンハンドブック(改訂版)、pp.151-158、2016 年 10 月.
  - 10) Foller, P. C. and Tobias, C. W.: The anodic evolution of ozone, *Journal of The Electrochemical Society*, Vol. 129, No.3, pp.506-515, 1982.
  - 11) (公財)日本建築衛生管理教育センター:レジオネラ症防止指針(第 5 版)、pp.125、2024 年 9 月.
  - 12) 公衆浴場における衛生等管理要領等について(厚生省生活衛生局長通知、令和 7 年 3 月 11 日健生発 0311 第 1 号一部改正)、p13、(<https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/001401962.pdf>, 2025/4/1 現在)
  - 13) 泉山信司ら, オゾンを用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒・洗浄試験, 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令和 3 年度総括研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 33-51, 2021.
  - 14) 田栗利紹ら, レジオネラ属菌検査が現地で可能となるフローサイトメトリー技術の開発, 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」平成 28~30 年度総合研究報告書, 研究代表者:前川純子, 31-36, 2019.
  - 15) 磯部順子ら, レジオネラ属菌迅速検査法の評価, 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」平成 30 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 13–22, 2018.
- 16) 黒木俊郎ら, ATP 測定による入浴施設の汚染度のモニタリングに関する研究, 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」平成 20 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 倉 文明, 91–100, 2021.
- 17) Taguri, T, Oda, Y, Sugiyama, K, Nishikawa, T, et al., A rapid detection method using flow cytometry to monitor the risk of *Legionella* in bath water. *J. Microbiol. Methods*, 86, 25–32, 2011.
- 18) Taguri, T, et al., Bacterial counts by flow cytometry can determine presence/absence of *Legionella* in bath water. In the 10th International Conference on *Legionella* 2022, P-53, 2022.
- 19) Manafi, M., Kneifel, W. and Bascomb, S. (1991) Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. *Microbiol. Rev.* 55. 335-348.
- 20) David S, Mentasti M, Tewolde R, Aslett M, Harris SR, Afshar B, Underwood A, Fry NK, Parkhill J, Harrison TG. Evaluation of an Optimal Epidemiological Typing Scheme for *Legionella pneumophila* with Whole-Genome Sequence Data Using Validation Guidelines. *J Clin Microbiol* 54: 2135-2148, 2016.
- 21) Raphael BH, Baker DJ, Nazarian E, Lapierre P, Bopp D, Kozak-Muiznieks NA, Morrison SS, Lucas CE, Mercante JW, Musser KA, Winchell JM. Genomic Resolution of Outbreak-Associated *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Isolates from New York State. *Appl Environ Microbiol* 82: 3582-3590, 2016.
- 22) Amemura-Mackawa J, Kura F, Chida K, Ohya H, Kanatani J, Isobe J, Tanaka S, Nakajima H, Hiratsuka T, Yoshino S, Sakata M, Murai M, Ohnishi M. *Legionella pneumophila* and Other *Legionella* species Isolated From Legionellosis Patients in Japan between 2008 and 2016. *Appl Environ Microbiol* 84: e00721-18. 2018.
- 23) 佐伯歩、前川純子、明田幸宏. *L. pneumophila* の分子疫学解析. *IASR* 45:124-125, 2024.
- 24) 病院内冷却塔からのレジオネラ感染疑い事例—福岡市. 松田正法、重村久美子、徳島智子、吉田英弘、佐藤正雄、廣瀬みよ子、門司慶子、石津尚美、竹中章、前川純子. *IASR* 36:13-14, 2015.
- 25) Haas W, Lapierre P, Musser KA. A Bioinformatic Pipeline for Improved Genome Analysis and Clustering of Isolates during Outbreaks of Legionnaires' Disease. *J Clin Microbiol* 59(2) :e00967-20, 2021.
- 26) Qin T, Zhang W, Liu W, Zhou H, Ren H, Shao Z, Lan R, Xu J. Population structure and minimum core genome typing of *Legionella pneumophila*. *Sci Rep* 6: 21356, 2016.
- 27) Clokie BGJ, Elsheshtawy A, Albalat A, Nylund A, Beveridge A, Payne CJ, MacKenzie S: Optimization of Low-Biomass Sample Collection and Quantitative PCR-Based Titration Impact 16S rRNA Microbiome Resolution. *Microbiol Spectr.* 2022 21;10(6):e0225522.
- 28) Gaia V, Fry NK, Afshar B, Lück PC, Meugnier H, et al. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and

- environmental isolates of *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol.* 2005, 43:2047–52.
- 29) Leigh JW, Bryant D. POPART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol.* 2015, 6:1110–1116.
- 30) 田栗利紹ら, フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究, 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)「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和4年度総合研究報告書, 研究代表者: 泉山信司, 77-89, 2022.
- 31) 田栗利紹ら, 携帯型フローサイトメーターによる環境水中レジオネラリスクの現地評価技術の標準化, 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」令和3年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 52-86, 2021.
- 32) 田栗利紹ら, フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究, 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)「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和5年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 泉山信司, 102-115, 2023.
- 33) Inoue, H., et al., Phylogenetic characterization of viable but-not-yet cultured *Legionella* groups grown in amoebic cocultures: a case study using various cooling tower water samples. *Biocontrol Sci.*, 24, 39-45, 2019.
- 34) 井上浩章, 他: 微細流路チップとモバイルリアルタイムPCR装置を用いたオンサイトでのレジオネラ属菌迅速検査に関する検討. 日本防菌防黴学会第50回年次大会. 2023.8.29-30.
- 35) 佐伯歩, 前川純子ら, レジオネラ・レファレンスセンターの活動, IASR, 45, 125-126, 2024
- 36) Prim RC. Shortest connection networks and some generalizations. *Bell Syst Tech J* 36: 1389–1401, 1957.
- 37) Lee K, Iguchi A, Uda K, Matsumura S, Miyairi I, Ishikura K, Ohnishi M, Seto J, Ishikawa K, Konishi N, Obata H, Furukawa I, Nagaoka H, Morinushi H, Hama N, Nomoto R, Nakajima H, Kariya H, Hamasaki M, Iyoda S. Whole-Genome Sequencing of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* OX18 from a Fatal Hemolytic Uremic Syndrome Case. *Emerg Infect Dis.* 2021 May;27(5):1509-1512.
- 38) Yoshimura, D., Kajitani, R., Gotoh, Y., Katahira, K., Okuno, M., Ogura, Y., Hayashi, T., Itoh, T. Evaluation of SNP Calling Methods for Closely Related Bacterial Isolates and a Novel High-Accuracy Pipeline: BactSNP. *Microb. Genom.* 2019, 5, e000261.
- 39) Nakanishi N, Komatsu S, Tanaka S, Mukai K, Nomoto R. Investigation of a *Legionella pneumophila* Outbreak at a Bath Facility in Japan Using Whole-Genome Sequencing of Isolates from Clinical and Environmental Samples. *Microorganisms.* 2022. 22;11:28.
- 40) Kristyanto S, Lee SD, Kim J: *Porphyrobacter algicida* sp. nov., an algalytic bacterium isolated from seawater. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2017; 67(11):4526–4533.
- 41) Batrich M, Maskeri L, Schubert R, Ho B, Kohout M, Abdeljaber M, Abuhasma A, Kholoki M, Psihogios P, Razzaq T, Sawhney S, Siddiqui

- S, Xoubi E, Cooper A, Hatzopoulos T, Putonti C: *Pseudomonas* diversity within urban freshwaters. *Front Microbiol.* 2019; 10:195.
- 42) Iwashita T, Tanaka Y, Tamaki H, Nakai R, Yoneda Y, Makino A, Toyama T, Kamagata Y, Morikawa M, Mori K: Isolation and characterization of novel plant growth-promoting bacteria from the fronds of duckweed; *Jpn J Water Treat Biology*, 2021; 57(1): 1–9.
- 43) Chen WM, Huang HW, Chang JS, Han YL, Guo TR, Sheu SY: *Tepidimonas fonticaldi* sp. nov., a slightly thermophilic betaproteobacterium isolated from a hot spring. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2013; 63: 1810-1816.
- 44) Chun SJ, Cui Y, Ko SR, Lee HG, Srivastava A, Oh HM, Ahn CY: *Acidovorax lacteus* sp. nov., isolated from a culture of a bloom-forming cyanobacterium (*Microcystis* sp.). *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2017 110(9):1199-1205.
- 45) Ahmed N, Joglekar P, Deming C; NISC Comparative Sequencing Program; Lemon KP, Kong HH, Segre JA, Conlan S: Genomic characterization of the *C. tuberculostearicum* species complex, a prominent member of the human skin microbiome. *mSystems.* 2023 21;8(6):e0063223.
- 46) 枝川亜希子, 安達史恵, 小池真生, 肥塚利江, 松島加代, 土屋誠, (2023) 大阪府内中核市における公衆浴場等浴槽水のレジオネラ属菌および水質状況調査. 大阪健康安全基盤研究所年報, 7: 94-101
- 47) 井上博雄ら, (2007) 厚生労働科学研究費補助金(地域健康危機管理研究事業) 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: (<https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/2006/064061/200639020B/200639020B0001.pdf>, 2024年10月4日取得)
- 48) WHO : Overview of External Quality Assessment (EQA), 2009 (<https://www.who.int/publications/m/item/overview-of-external-quality-assessment-eqa>, 2025年3月31日現在)
- 49) ESGLI: European Technical Guidelines for the Prevention, Control and Investigation, of Infections Caused by *Legionella* species, 2017
- 50) CDC : Toolkit for Controlling *Legionella* in Common Sources of Exposure (*Legionella* Control Toolkit), 2021
- 51) 金谷潤一、磯部順子. レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡便な検査法の開発. 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「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和5年度総括・分担研究報告書 研究代表者: 泉山信司:116-127, 2024.
- 52) Croucher NJ, et al. Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences using Gubbins. *Nucleic Acids Res.* 2015, 43:e15.
- 53) 柳本恵太, 堀内雅人, 山上隆也, 植松香星, 久田美子, 杉山寛治, 田中慶郎, 茶山忠久, 市村祐二, 泉山信司: 山梨県のアルカリ性 (pH10 程度) 温泉におけるモノクロラミン消毒の有効性の検討, 防菌防黴, 49, (2021), 261–267
- 54) USEPA: Recreational Water Quality Criteria. pp63, Office of Water, United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C., USA, 2012. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015->

- 10/documents/rwqc2012.pdf
- 55) USEPA: Ambient water quality criteria for bacteria-1986. pp18, US Environmental Protection Agency, Washington D.C., USA, 1986.  
<https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-03/documents/ambient-wqc-bacteria-1986.pdf>
- 56) Wiedenmann et al.: A randomized controlled trial assessing infectious disease risks from bathing in fresh recreational waters in relation to the concentration of *Escherichia coli*, intestinal enterococci, *Clostridium perfringens*, and somatic coliphages. *Environ Health Perspect.* 2006;114(2):228-36.
- 57) 中西典子ら, MLVA 法における *Legionella pneumophila* の遺伝学的特徴. 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」平成29年~30年度総合研究報告書, 研究代表者:前川 純子, 55-65, 2019.
- F. 健康危険情報  
なし
- G. 研究発表
1. 紙上発表
- 1) Kanatani J, Fujiyoshi S, Isobe J, Kimata K, Watahiki M, Maenishi E, Izumiyama S, Amemura-Maekawa J, Maruyama F, Oishi K. Correlation between bacterial microbiome and *Legionella* species in water from public bath facilities by 16S rRNA gene amplicon sequencing. *Microbiol Spectr.* 2024 Apr 2;12(4):e0345923.
- 2) Nakajima N, Jinnai M, Izumiyama S, Kuroki T. Evaluating Fourier-transform infrared spectroscopy with IR Biotyper as a faster and simpler method for investigating the sources of an outbreak of legionellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2024 May;43(5):991-997.
- 3) Komatsu S, Fujinaga C, Nakanishi N. Detection of *Legionella* spp. in influent wastewater in Kobe City, Japan. *J Water Health.* 2024. 22 (11): 2054-2059.
- 4) 小松頌子、武藤千恵子、佐々木麻里、梅津萌子、高久靖弘、大谷彩恵、田中和良、木下輝昭、猪又明子、藤永千波、田中忍、中西典子. 浴槽水における大腸菌検査法の検討. *日本防菌防黴学会誌* 2025, 53(3), 69-73.
- 5) 淀谷雄亮, 西里恵美莉, 小嶋由香, 佐々木麻里, 蔡国喜, 井原基, 田栗利紹, 柳本恵太, 緒方喜久代, 武藤千恵子, 梅津萌子, 高久靖弘, 山口友美, 前川純子. 浴槽水等のレジオネラ属菌検査におけるレジオラート/QT 法と平板培養法の比較検討. *日本防菌防黴学会誌.* 2025, 53(1), 3-8.
- 6) 森 康則, 永井佑樹, 佐藤大輝, 谷本健吾, 豊田真由美, 亀山有貴, 原 有紀, 中野陽子, 小林章人, 吉村英基, 泉山信司, 高アルカリ温泉水中のモノクロラミンと遊離塩素に対する *Legionella pneumophila* の消毒耐性の定量的評価. *温泉科学* 2024, 74, 18-28.
- 7) 前川純子, 佐伯歩, 森田昌知, 明田幸宏, 中植竜大, 村井美代, 森中りえか. マルチプレックス PCR による *Legionella pneumophila* 血清型別法について. *IASR* 45: 123-124, 2024.
- 8) 佐伯歩, 前川純子, 明田幸宏. *Legionella pneumophila* の分子疫学解析. *IASR* 45: 124-125, 2024.

- 9) 佐伯歩、前川純子、大森恵梨子、陳内理生、金谷潤一、中西典子、平塚貴大、岡部祐未。レジオネラ・レファレンスセンターの活動。IASR 45: 125-126, 2024.
  - 10) 柳本恵太、森康則、田栗利紹、長岡宏美、杉山寛治、縣邦雄、市村祐二、藤井明、山本哲司、小坂浩司、前川純子、泉山信司。浴槽水のモノクロラミン消毒, 2024年時点。IASR 45: 120, 2024.
  - 11) 枝川亜希子、小池真生子、井上浩章、縣邦雄、杉山順一、安齋博文、前川純子、泉山信司。レジオネラ外部精度管理の現状。IASR 45: 120-122, 2024.
  - 12) 金谷潤一、山口友美、武藤千恵子、淀谷雄亮、飯高順子、佐々木麻里、田栗利紹、蔡国喜、川野みどり、前川純子、泉山信司、倉文明。環境水における遺伝子検査の活用について。IASR 45: 122-123, 2024.
  - 13) 前川純子。レジオネラ症の疫学調査(菌株の型別法)。ビルと環境, 187, 27-33, 2024.
  - 14) 前川純子、レジオネラの基本情報、生活と環境、2024、69(5)、4-8.
  - 15) 泉山信司、公衆浴場のレジオネラ対策を目的とした衛生管理、生活と環境、2024、69(5)、26-31.
2. 学会発表
- 1) Kanatani J, et al. Prevalence and molecular epidemiology of Legionnaires' disease in Toyama Prefecture, Japan. The 8th ESGLI Meeting. Dresden, Germany. October 2024.
  - 2) 小森正人、金井博哉、齋藤利明、泉山信司、田栗利紹、電解オゾン水を用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒試験、日本オゾン協会第33回年次研究講演会、2024年6月、京都府京都市
  - 3) 中嶋直樹、陳内理生、黒木俊郎。入浴施設の塩素消毒によるレジオネラ対策事例。第5回 Hospital Water Hygiene 研究会学術集会。2023年11月。東京。
  - 4) 沢田牧子、黒木俊郎、泉山信司、小坂浩司。アンケートによる保健所等の公衆浴場等でのレジオネラ症防止対策の監視指導の実態調査。令和6年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 920-921, 2024.
  - 5) 泉山信司, 小坂浩司, 黒木俊郎。入浴施設の衛生管理の手引・指針の検討。環境技術学会、2024年9月、大阪市
  - 6) 枝川亜希子、地方衛生研究所全国協議会レジオネラ・レファレンスセンター会議、「レジオネラ属菌検査精度管理について」、2024年6月26日、オンライン会議
  - 7) 前川純子。レジオネラ症の発生状況と環境要因。第73回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第71回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 シンポジウム。2024年10月。東京。
  - 8) 森 康則, 永井佑樹, 大市真梨乃, 佐藤大輝, 小林章人, 吉村英基, 北浦伸浩, 枝川亜希子, 藤井 明, 泉山信司, 温泉浴槽水中の *Mycobacterium phlei* に対するモノクロラミンと遊離塩素による消毒効果, 日本温泉科学会第77回大会, 2024年9月, 静岡県
  - 9) 森 康則, 温泉・気候・物理医学分野における社会的要請の察知と境界領域からのアプローチ, 第89回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会, 2024年6月, 和歌山県
  - 10) 小松頌子、田中忍、小川恵子、森本洋、中西典子。レジオネラ症発生事例における *Legionella longbeachae* の細菌学的・遺伝的特徴。日本防菌防黴学会 第50回年次大会。2024年9月。

- 11) 小松頌子、小川恵子、森本洋、中西典子. 本邦で稀なレジオネラ症起因菌 *Legionella longbeachae* の検査法と分離菌株の性状. 第94回日本感染症学会西日本地方会学術集会 第72回日本化学療法学会西日本支部総会 合同学会. 2024年11月.

### 3. 研修会

- 1) 前川純子:レジオネラ対策. 専門課程 I 保健福祉行政管理分野分割前期・専門課程 III 地域保健福祉専攻科. 2024年5月. Web対応.
- 2) 前川純子:レジオネラ属菌の検査と対策. 令和6年度 短期研修 環境衛生監視指導研修. 2024年11月. Web対応.
- 3) 泉山信司:公衆浴場等におけるレジオネラ対策について. 令和6年度生活衛生関係技術担当者研修会. 2025年2月. Web対応

### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 2. 実用新案登録 3. その他  
なし

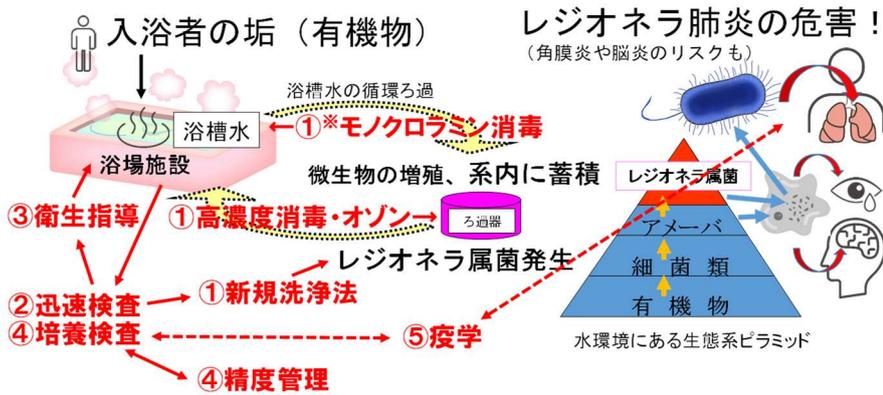


図0 本研究班の編成

※図中の丸数字は、①消毒洗浄、②迅速検査、③保健所衛生部局との連携、④培養検査の向上、⑤分子疫学の高度化の、大きく分けて5分野の課題対応を意味している。

表0 研究協力者一覧(あいうえお順、敬称略、オブザーバー参加を除く報告書の共同発表者)

縣 邦雄	アクアスつば総合研究所	新道 欣也	株式会社 お風呂のシンダー
浅野 由紀子	四国中央保健所	杉本 貴之	宮崎県中央保健所
安齋 博文	公益財団法人日本建築衛生管理教育センター	杉山 寛治	株式会社 マルマ
五十嵐 日菜	北海道保健福祉部健康安全局	杉山 順一	公益財団法人日本建築衛生管理教育センター
石井 清隆	株式会社 ヤマト	鈴木 史恵	静岡市環境保健研究所
石森 啓益	柴田科学株式会社	高久 靖弘	東京都健康安全研究センター
井上 浩章	アクアスつば総合研究所	高橋 美徳	静岡市環境保健研究所
梅津 萌子	東京都健康安全研究センター	高村 知成	山梨県衛生環境研究所
大島 萌愛	富山県衛生研究所	田中 慶郎	株式会社 マルマ
太田奈保美	岡山理科大学	土屋 邦男	山梨県衛生環境研究所
大橋 美至	神奈川県健康医療局	鳥井 良太	株式会社 お風呂のシンダー
大森 恵梨子	仙台市衛生研究所	中川 佳子	埼玉県衛生研究所
緒方 喜久代	公益社団法人 大分県薬剤師会検査センター	中嶋 直樹	神奈川県衛生研究所
尾崎 吉純	高知県健康政策部	中臣 昌広	オフィス環監未来塾
尾崎 淳朗	愛媛県保健福祉部	長埜 朗夫	千葉県環境保健研究所
小田 康雅	シスメックス株式会社	鍋田 信吾	静岡県環境衛生科学研究所
小野田 早恵	静岡市環境保健研究所	西里 恵美莉	川崎市健康安全研究所
鳥谷 竜也	愛媛県立衛生環境研究所	西澤 尚文	株式会社 ゴーフォトン
木村 哲也	株式会社 ヤマト	野本竜平	神戸市健康科学研究所
木村千鶴子	愛媛県立衛生環境研究所	花輪 由記	さいたま市健康科学研究センター
工藤 剛	宮城県保健環境センター	平井真太郎	愛媛県立衛生環境研究所
倉 文明	国立感染症研究所	平塚 貴大	広島県立総合技術研究所保健環境センター
小池 真生子	大阪健康安全基盤研究所	福田 隆志	グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社
小松頌子	神戸市健康科学研究所	藤井 明	健美薬湯株式会社
小森 正人	株式会社 ヤマト	藤永千波	神戸市健康科学研究所
近 真理奈	埼玉県衛生研究所	細川 賢人	花王株式会社
蔡 国喜	長崎県環境保健研究センター	三谷 康正	株式会社 ゴーフォトン
佐伯 歩	国立感染症研究所	武藤 千恵子	東京都健康安全研究センター
佐々木 麻里	大分県衛生環境研究センター	本宮 恵子	千葉県環境保健研究所
茶山 忠久	ケイ・アイ化成株式会社	山上 隆也	山梨県衛生環境研究所
沢田牧子	国立保健医療科学院	山本 哲司	花王株式会社
下田 貴宗	株式会社 シモダアメニティサービス	湯澤 栄子	川崎市健康安全研究所

表 1-1 浴槽水の微生物試験結果

検査項目	レジオネラ属菌数 (CFU/100 mL)	アメーバ数 ( / 50 mL)	大腸菌群 ( / 100 mL)	pH	遊離残留塩素 (mg/L)	全残留塩素 (mg/L)	モノクロラミン (mg/L)
導入 5 週間前	70	0	陰性	9.7	0.1	0.2	—
導入 4 週間前	300	6	陰性	10.0	0.1	0.1	—
導入 3 週間前	80	17	陰性	10.0	0.1	0.1	—
導入 2 週間前	170	10	陰性	9.9	0.1	0.1	—
-----							
導入 1 週間後	<10	0	陰性	10.0	—	3.4	3.5
導入 2 週間後	<10	0	陰性	10.0	—	4.7	5.4
導入 3 週間後	<10	0	陰性	10.1	—	3.7	3.8
導入 4 週間後	<10	0	陰性	10.0	—	3.7	3.9

—:測定なし

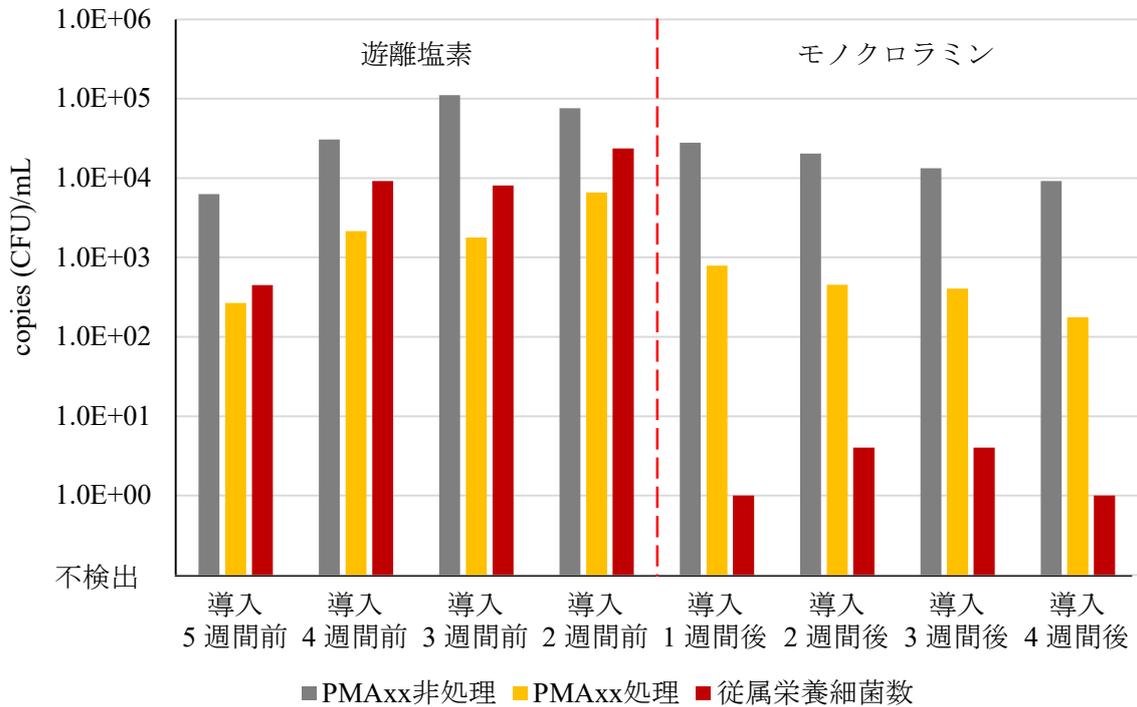


図 1-1 浴槽水の 16S rDNA コピー数、従属栄養細菌数

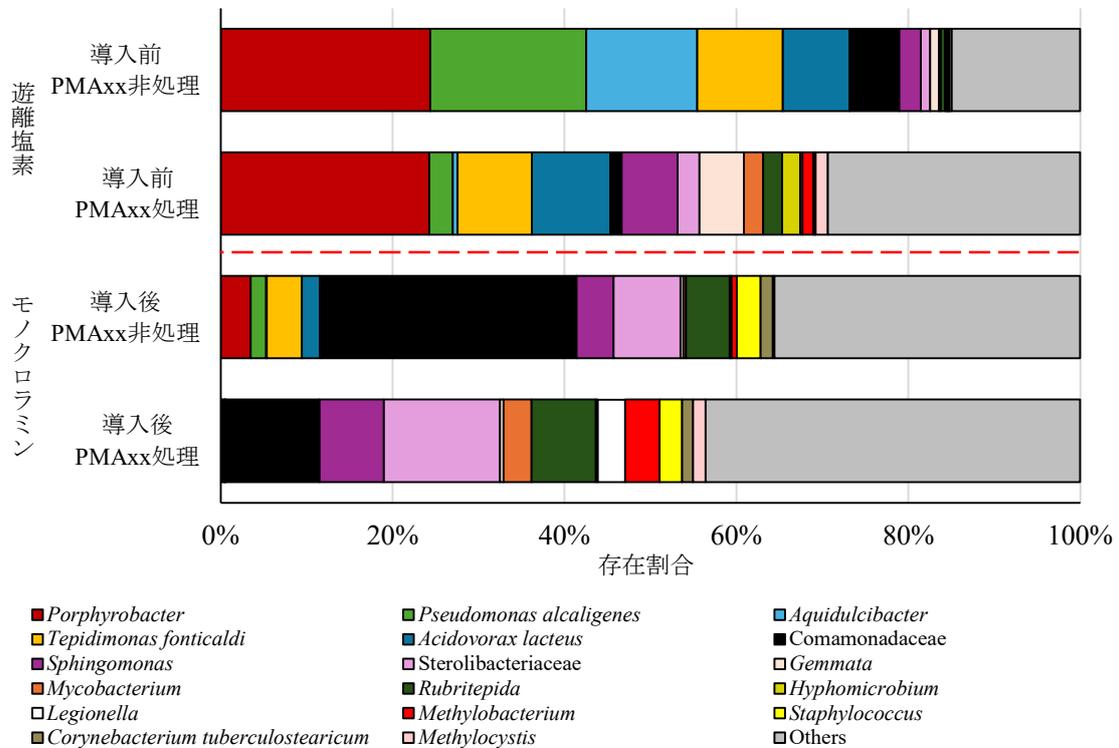


図 1-2 浴槽水の菌叢解析結果 (各 4 週間分データの平均)

表 2-1 2015 年から追跡の、レジオネラ属菌による汚染に苦慮する浴場施設 (2022~2024 年結果)

	実施年		
	2022	2023	2024
<b>レジオネラ属菌分離</b>			
地下貯湯槽	-	-	-
高置貯湯槽	-	-	-
<b>浴室1</b>			
浴槽	-	-	-
湯口	-	-	-
カラン1 初流水	-	-	-
カラン1 3分流水後水	-	-	-
カラン2 初流水	-	-	-
シャワー	-	-	-
配管末端放水部	-	-	-
ろ過器	-	-	-
<b>浴室2</b>			
浴槽	-	-	-
湯口	-	-	-
カラン3 初流水	80 (Lsp) <sup>†</sup>	-	-
カラン4 初流水	-	10 (Lp SG6)	10 (Lp SG6)
カラン4 3分流水後水	50 (Lp SG6, Lsp)	10 (Lp SG6)	40 (Lp SG6)
シャワー	-	-	-
配管末端放水部	-	-	-
ろ過器	260 (Lp SG1, Lp SG9)	10 (Lp SG1, Lp SG9)	50 (Lp SG1, Lp SG9)
遊離塩素濃度 (mg/L)	0.01-1.61 (中央値: 0.68)	0.02-2.00以上 (中央値: 1.59)	0.12-2.00以上 (中央値: 0.36)
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	$0.5 \times 10^0 - 7.0 \times 10^2$ (中央値: $1.2 \times 10^1$ )	$0 - 2.3 \times 10^4$ (中央値: 1.5)	$0 - 9.2 \times 10^2$ (中央値: 2.3)
水温 (°C)	34.0-54.1	34.5-56.6	31.1-56.8
pH	8.02-8.17	7.99-8.51	7.86-8.36
アンモニア態窒素濃度 (mg/L)	すべて検出限界 (0.01) 以下	すべて検出限界 (0.01) 以下	すべて検出限界 (0.01) 以下

<sup>†</sup> 数値はレジオネラ属菌数 (CFU/100 mL)、括弧内は分離された菌種を示す。

Lp: *Legionella pneumophila*, Lsp: *Legionella* sp., SG; Serogroup, -: 不検出 (10 CFU/100 mL未満)

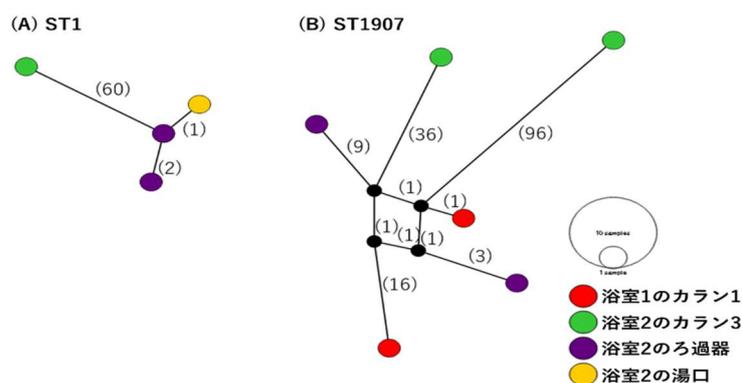


図 2-1 Single nucleotide variant (SNV) 解析に基づくネットワーク図

A) *L. pneumophila* ST1 株、  
B) ST1907 株。括弧内の数値は株間の SNV 差を示す。  
ST: Sequence type

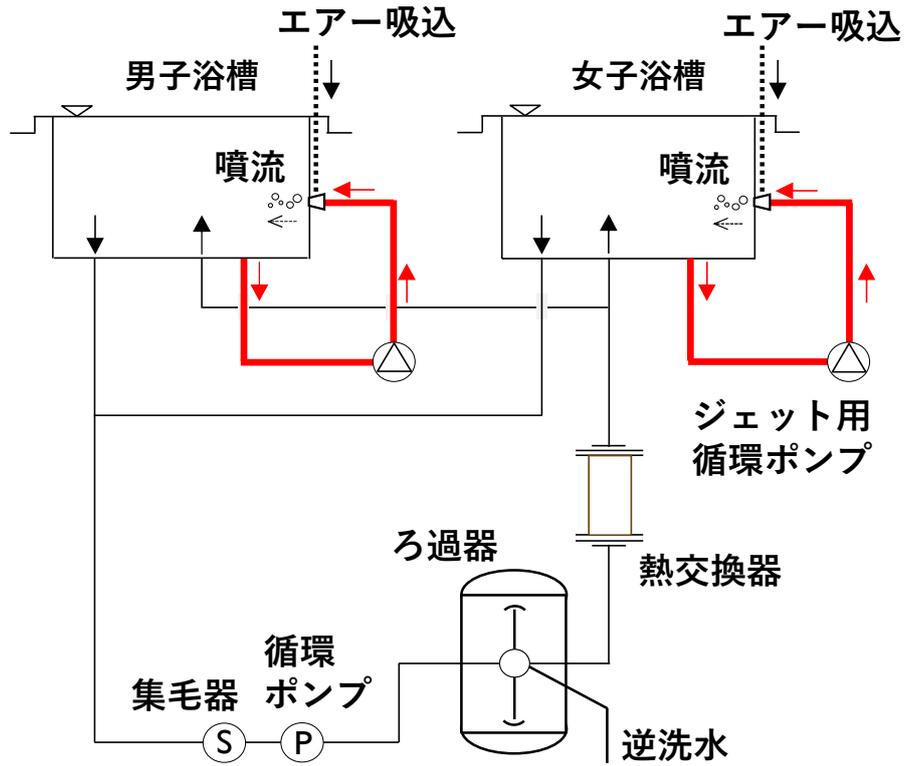


図 3-1 試験浴槽循環系統図

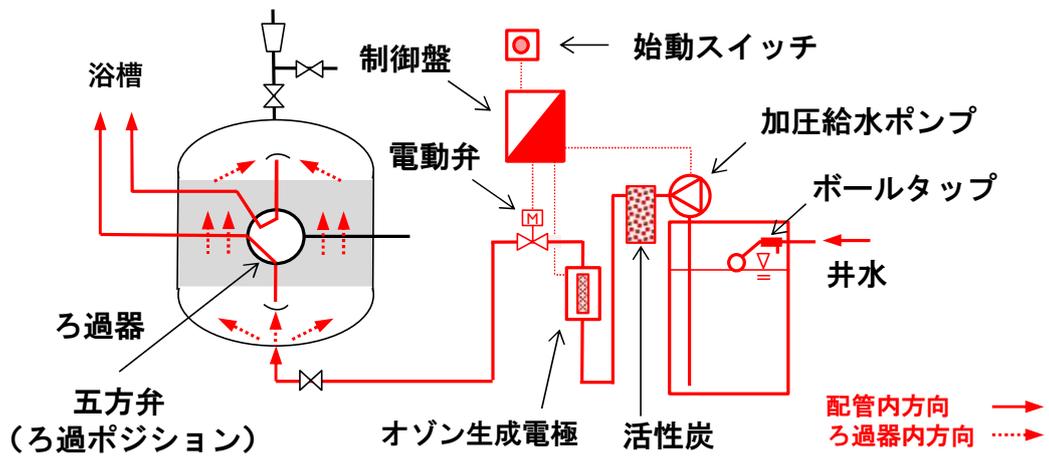
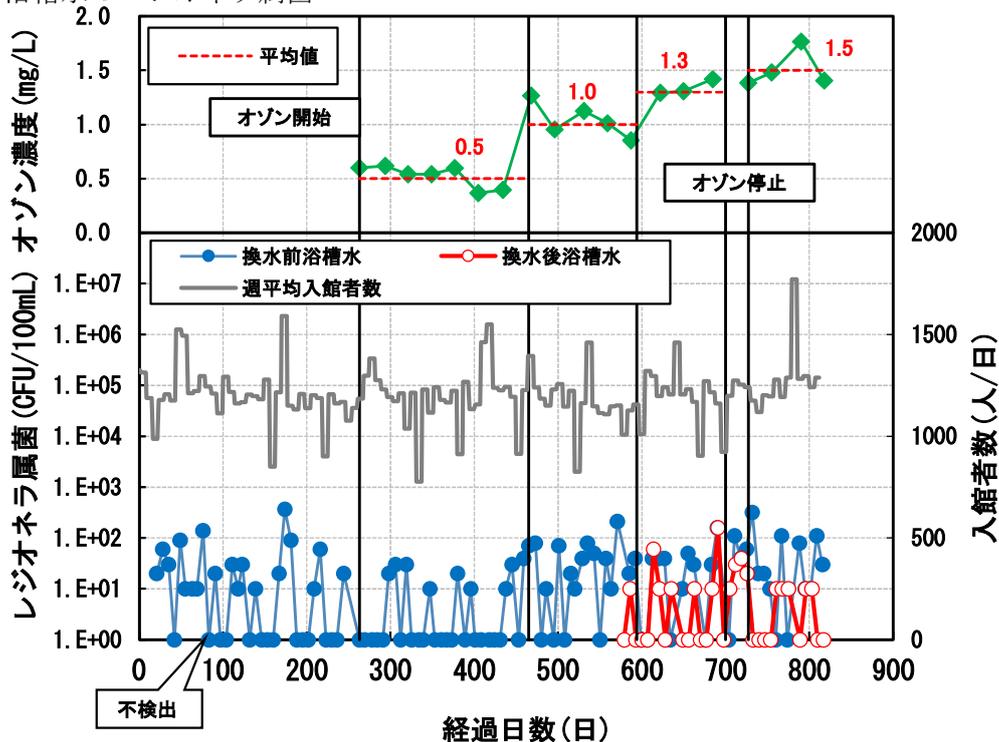


図 3-2 試験装置概略

実線矢印および破線矢印は、それぞれ洗浄中の配管内における電解オゾン水の通水方向、およびろ過器内における電解オゾン水の通水方向を示している。

A) 浴槽水のレジオネラ属菌



B) 逆洗水のレジオネラ属菌

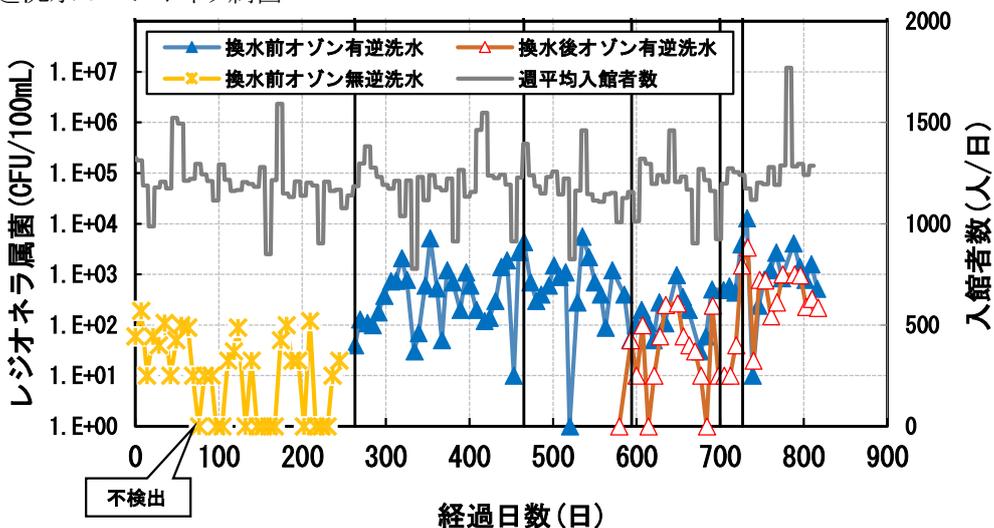


図 3-3 電解オゾン水のオゾン濃度、週平均入館者数、およびレジオネラ属菌の濃度、の経日変化

レジオネラ属菌の 1CFU/100mL は不検出 (検出限界 10CFU/100mL) を示している。浴槽水は代表して男子浴槽から採水し、電解オゾン水の供給は図の 263 日目より開始した。オゾン電極の枚数を調節することにより、465 日目に 0.5mg/L から 1.0mg/L へ、594 日目に 1.0mg/L から 1.3mg/L へとオゾン濃度 (平均値) を段階的に上昇させた。700 日目から 727 日目までの約 1 ヶ月間は電極の故障により電解オゾン水の供給を停止したが、727 日目からは電極槽を更新してオゾン濃度 1.5mg/L で再開した。

オゾン供給前

オゾン不足(試運転)

ろ過器内排水後オゾン水供給

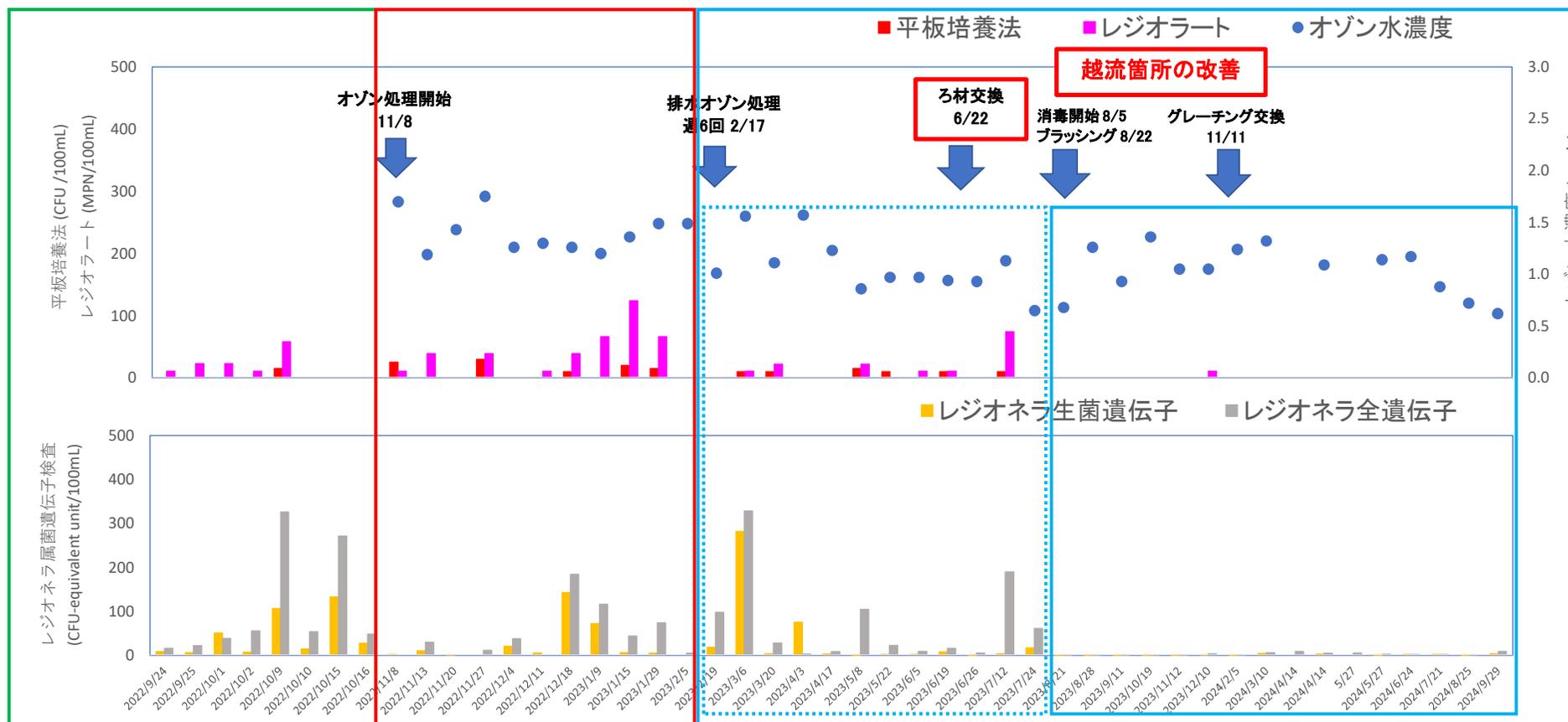


図 4-1 ろ過器の電解オゾン水による消毒、レジオネラ属菌の解析結果

緑枠： 電解オゾン水の供給前の期間(2022年9月24日～10月16日)、赤枠： オゾン量の不足した時期(2022年11月8日～2023年2月5日)

青枠： ろ過器内を排水した後に電解オゾン水を供給した期間(2023年2月17日～2024年9月29日、レジオネラ属菌の汚染源の特定 2023年8月5日)

青枠内部は、レジオネラ属菌の汚染源を発見する前(破線)と発見後対応して以降(実線)の期間、電解オゾン水処理によっても微量ながらレジオネラ属菌の汚染を認めため、ろ材交換と、循環系排水溝からの越流箇所の改善(消毒、ブラッシング、グレーチング交換)を行った。

検出限界： 平板培養法 (10 CFU/100mL)、レジオラート(10 MPN/100mL)、レジオネラ属菌遺伝子検査 (1 CFU-equivalent unit/100 mL)

表 4-1 ろ過器の外にあった汚染を対策した前後の、逆洗浄水の各種検査結果

採水時の運転状況	ATP (RLU <sup>1)</sup> )	Flow cytometry <sup>1</sup> (cells/mL)	レジオネラ属菌検査		レジオネラ属菌遺伝子検査		従属栄養細菌数 (R2A法) (CFU/mL)	遊離塩素濃度 (mg/L)	
			平板培養法 (CFU <sup>2)</sup> /100mL)	レジオラート (MPN <sup>3)</sup> /100mL)	EMA-qPCR (CFU-eU <sup>4)</sup> /100 mL)	qPCR (CFU-eU/100 mL)			
ろ過器外の汚染発見前 (n=31)	オゾン供給前 (n=8)	58.19±51.06	55,640±98,944	7.50±10.35	15.75±19.56	41.89±51.44	104.02±122.07	NT <sup>5)</sup>	1.51±0.66
	オゾン供給初期 (n=10)	63.10±26.74	67,409±103,704	10.50±12.12	39.50±38.43	26.46±46.10	50.21±59.96	NT	1.93±0.16
	ろ過器内排水後 オゾン供給(n=13)	48.08±28.27	22,574±38,972	5.00±5.77	11.62±20.52	31.88±77.77	67.7±95.97	3,386±6,070	1.83±0.30
	小計	55.53±34.46	45,570±80,829	7.67±9.39*	22.40±29.32*	34.46±60.58*	73.65±93.16*	3,386±6,070	1.79±0.42 <sup>#</sup>
	ろ過器外の汚染発見後 (n=16)	88.89±61.86	33,252±46,422	0 <sup>6)</sup> *	0.69±2.75*	1.51±1.08*	3.19±2.85*	6,449±14,250	1.10±0.76 <sup>#</sup>

<sup>1)</sup> Relative Lights Unit, <sup>2)</sup> Colony Forming Unit, <sup>3)</sup> Most Provable Number, <sup>4)</sup> CFU-equivalent Unit, <sup>5)</sup> Not Tested, <sup>6)</sup> All samples were below the detection limit. !: The RF-500 Flow Cytometer (Sysmex.co.) was used in this study. *t*-test: \*, P<0.01, #; P<0.05, The values below the detection limit were calculated as 0 in the *t*-test.

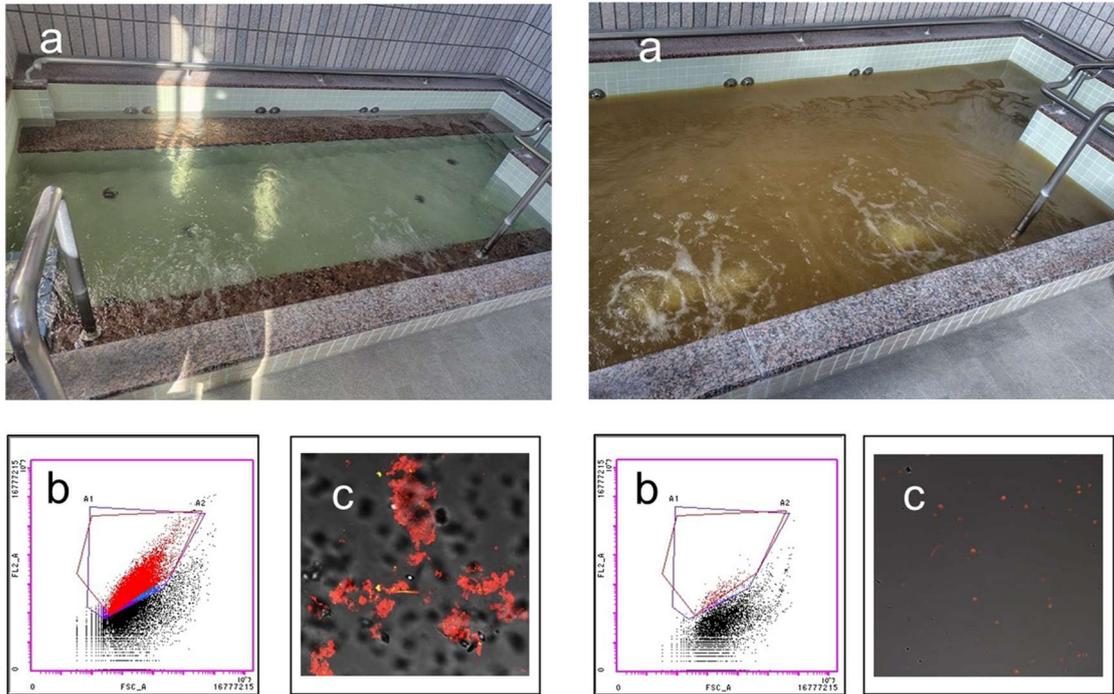


図 5-1 省力化配管洗浄剤の洗浄工程の写真(R 施設)

- a: 洗浄処理中の浴槽、b: 同、フローサイトメトリー法のスクアッタグラム(赤は細菌部分)、  
 c: 同、共焦点レーザー顕微鏡による顕微鏡写真(赤は糖、緑は核酸、黄は両者の重なり部分)、  
 d: 中和処理中の浴槽、e: 同、スクアッタグラム、f: 同、顕微鏡写真

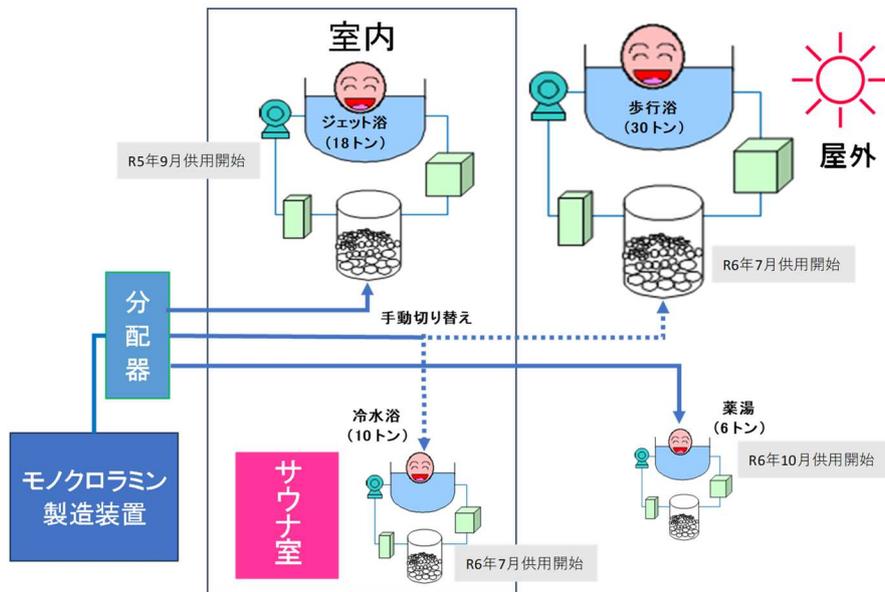


図 5-2 モノクロラミン製造装置による生成・分配の 3 系統(うち 1 系統を手動で添加先を切替)と、浴槽水の循環 4 系統の模式図(Q 施設)

表 6-1 施設 A 浴槽水の、FCM 法による現地測定と、その他の持ち帰り測定結果

	FCM (cells/mL)	レジオネラ PCR (+/-)	レジオネラ平板培養 (CFU/100 mL)
浴槽 1	6,167	+	<10
浴槽 2	1,857	+	<10
浴槽 3	476	-	<10
浴槽 4	4,857	+	<10
浴槽 5	6,095	+	<10
浴槽 6	1,952	+	<10
浴槽 7	571	+	<10
浴槽 8	3,619	+	<10

表 6-2 施設 B 浴槽水の、FCM 法による現地測定と、その他の持ち帰り測定結果

	FCM (cells/mL)	レジオネラ PCR (+/-)	レジオネラ平板培養 (CFU/100 mL)
浴槽 1	95	-	<10
浴槽 2	190	-	<10
浴槽 3	190	-	<10
浴槽 4	190	-	<10
浴槽 5	190	-	<10
浴槽 6	95	-	<10

表 7-1 培養法と遺伝子検査法の相関(2×2 表と感度他)

A) モバイルqPCR法\*

		平板培養		計
		+	-	
モバイルqPCR	+	11	2	13
	-	2	25	27
		13	27	40

\*4検体は、フィルターが詰まりろ過できなかった

感度	84.6%
特異度	92.6%
陽性的中率	84.6%
陰性的中率	92.6%
一致率	90.0%

B) LAMP法

		平板培養		計
		+	-	
LAMP	+	12	10	22
	-	2	20	22
		14	30	44

感度	85.7%
特異度	66.7%
陽性的中率	54.5%
陰性的中率	90.9%
一致率	72.7%

C) qPCR法

		平板培養		計
		+	-	
タカラqPCR	+	13	17	30
	-	1	13	14
		14	30	44

感度	92.9%
特異度	43.3%
陽性的中率	43.3%
陰性的中率	92.9%
一致率	59.1%

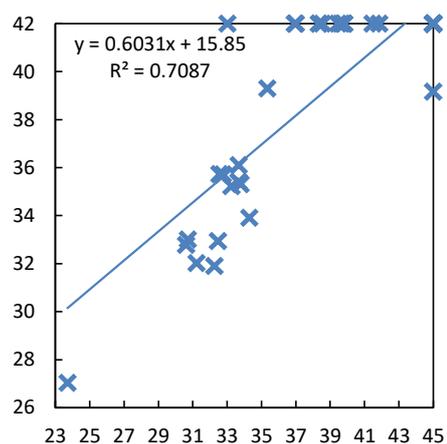


図 7-1 モバイル qPCR 法(縦軸) および qPCR 法(横軸)で測定した 遺伝子量(Ct 値)の比較

モバイルqPCR法における Ct 値 42 と、qPCR 法における Ct 値 45 は、不検出を意味する。

表 8-1 都道府県や市で浴槽水等の消毒方法のひとつとしてモノクロラミン消毒を認めているか

	件数	回答割合(%)
条例で認めている	24	67
条例では認めていないが、規則や要領、マニュアル等で認めている	1	3
現在は条例で認めていないが、変更する予定がある	0	0
条例等で認めていない	2	6
その他	9	25
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 条例で消毒方法を規定、明記していない(5)</li> <li>・ 条例等に記載はないが、認めている</li> <li>・ 条例において、「市長の定めるところにより」と規定し、本市規則にて具体的に規定している</li> <li>・ 塩素系薬剤により難しい場合に、塩素系薬剤を用いた場合と同等以上の消毒効果を有する方法により行うものとしている</li> <li>・ 条例では、ただし書きにより、「原湯又は原水の水質その他の浴槽水の水質に応じて、他の適切な方法により消毒すること」を認めており、また公衆浴場衛生管理要領において、モノクロラミン消毒を行う場合の規定を定めている</li> </ul>		
計	36	100

表 8-2 立入検査時の現場試験の実施方法

	利用の有無		(利用無しの場合) 関心の有無				未回答	
	利用中		関心あり		関心なし			
① DPD法による遊離塩素濃度測定	35	97%	1	3%	0	0%	0	0%
② DPD法による総塩素濃度測定	9	25%	12	33%	9	25%	6	17%
③ インドフェノール法によるモノクロラミン濃度測定	2	6%	20	56%	8	22%	6	17%
④ アンモニア態窒素測定	3	8%	17	47%	11	31%	5	14%
⑤ モバイルPCR法やバルサー法によるレジオネラ遺伝子検出	0	0%	24	67%	8	22%	4	11%
⑥ ATP法によるATP測定	14	39%	15	42%	5	14%	2	6%
⑦ その他	2	6%	0	0%	0	0%	17	47%
	その他はない						17	47%
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ DPD法による結合塩素濃度測定</li> <li>・ 試験紙による遊離塩素濃度測定</li> </ul>								

表 8-3 立入検査後にレジオネラ属菌を迅速に試験する方法

	利用の有無		(利用無しの場合) 関心の有無				未回答	
	利用中		関心あり		関心なし			
① フローサイトメトリー法 (雑菌の有無を測定、消毒効果を推測、測定に数分間)	0	0%	21	58%	8	22%	7	19%
② 死菌も検出されるPCR法やLAMP法 (PCR検出、測定に数時間)	10	28%	13	36%	8	22%	5	14%
③ 生菌を検出するEMA-PCR法 (EMA処理後にPCR検出、測定に数時間)	1	3%	22	61%	7	19%	6	17%
④ 生菌を検出するLC-EMA-PCR法 (培養とEMA処理後にPCR検出、測定に一晩)	2	6%	20	56%	9	25%	5	14%
⑤ その他	0	0%	0	0%	0	0%	15	42%
	その他はない						21	58%

表 8-4 浴槽水等のレジオネラ属菌の検査が陽性の場合の探知方法

	件数	回答割合(%)
施設からの報告	36	100
検査機関からの報告	8	22
他部署からの報告	4	11
立入検査時	21	58
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0
その他	0	0

表 8-5 浴槽水等のレジオネラ属菌の検査が陽性の場合の対応(複数回答可)

	件数	回答割合(%)
電話や対面等で施設の状況を確認した後、すみやかに立入検査を行う	36	100
電話や対面等で施設の状況を確認した後、電話等で口頭指導を行う(立入検査なし)	8	22
陽性を探知した場合でもすぐに対応せず、通常の監視時に対応する	0	0
陽性の場合があっても、特段の対応は行わない	0	0
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0
その他	1	3
・ 県条例で定める公表基準を超過した際には自主公表させる。しない場合は県が公表する		

表 8-6 浴槽水等における近年3年間のレジオネラ属菌の検出状況

	件数	回答割合(%)
管内施設において、近年3年間の検出実態はない	5	13.9
管内施設で検出実態がある	29	80.6
分からない	2	5.6
計	36	100

表 8-7 業者向けの講習会等に用いる、対策に関する資料についての意見

	件数	回答割合(%)
全国共通の資料として、衛生対策関係のものがあれば良い (加工可能なもの、電子データにて提供)	29	81
全国共通の資料として、レジオネラ症対策関係のものがあれば良い (加工可能なもの、電子ファイルにて提供)	28	78
全国共通の資料として、リーフレット等の紙資料があれば良い	21	58
法改正等の大きな変更がある際には、全国共通の資料を提供して欲しい(電子データ)	29	81
都道府県や市・区として作成したものがあって問題ない	3	8
保健所等毎に作成したものがあって問題ない	0	0
担当者個人が作成したものがあって問題ない	0	0
関係団体が作成したものがあって問題ない	0	0
意見はない	1	3
その他	1	3
・ 条例で定められる事項なので、都道府県毎に作成される必要があると思う。 そのため、加工しやすいデータが提供されるとよいと思う。		

資料 9-1 入浴施設の衛生管理の手引き 一般衛生管理 簡易版

**設備名 貯湯槽**

【別添2 公衆浴場における衛生等管理要領】での記載箇所  
 I 規則 第2 適用の範囲及び附則の注釈 2(9)  
 II 施設設備 第1 一般公衆浴場 6 給水、給湯設備 (2)  
 III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)、7 給水、給湯設備の管理 (1)

**キーポイント**  
 60℃未満では生物膜内でレジオネラ菌が繁殖する。  
 ○ 貯湯槽の湯の補給口から底部に至るまで常に60℃以上（最大使用時でも55℃以上）に保つ。  
 ○ 60℃未満の場合には貯湯槽内の湯を消毒する。消毒装置を設置する。  
 貯湯槽の底部は汚れが溜まりやすく、低温になりやすい。  
 ○ 底部に水抜き弁を設置するなどして完全に排水できる構造とする。  
 ○ 年に1回以上、完全に排水して内部を洗浄・消毒し、スケールを除去する。  
 ○ 維持管理記録を残す。

**設備の概要（構造）**  
 ○ 密閉式貯湯槽（槽が密閉されて常に湯で満たされている）と開放式貯湯槽（槽上部に開口部があり槽内に空気が出入りする）がある。  
 ○ 配管を短くするために開放式・密閉式ともに浴槽に近接して設置することが推奨される。

**【密閉式貯湯槽】**

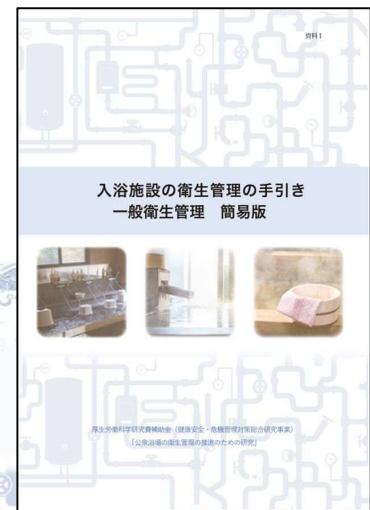
**【開放式貯湯槽】**

**管理**

- 貯湯槽の底部は低温になりやすいため、全体を60℃以上に保つように管理する。
- 貯湯槽水を60℃以上に保つことができない場合には必要に応じて消毒装置を設置して遊離残留塩素濃度を0.1 mg/L以上に保つ。
- 1年に1回以上、完全に排水して内部の洗浄と消毒を行い、スケールを除去する。
- 設備（通気管及びオーバーフロー管の防止網、マンホールの蓋等）の取組等の確認や圧力計の性能確認を月に1回程度、定期的に実施する。
- 湯し管や漏れなど貯湯槽の液水面は生物膜が形成されやすいので、定期的に確認する。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

**レジオネラ菌値が検出された場合の措置**

- 貯湯槽や配管系からレジオネラ菌値が検出され、貯湯槽の洗浄・消毒が必要となった場合は、まずブラシや高圧洗浄機を使って貯湯槽の内部を洗浄して生物膜や汚れを十分に除去する。
- 洗浄時にマスクなどを着用して、感染予防に十分留意する。
- 消毒には以下の方法が推奨されており、感度下剤に十分留意する。  
 ・遊離残留塩素濃度が50～100 mg/Lの塩素系薬剤を適量あるいはブラス等で散布する。30分以上放置後に水ですすぐ。消毒とすすぎを2回繰り返す。（平成20年1月25日付け健発第0125001号厚生労働省健康局長通知「建築物における衛生的環境の維持管理について」を参照）  
 ・満水にしてから、例として遊離残留塩素濃度が50～100 mg/Lになるように塩素系薬剤を使用し、2時間以上放置後に排水する。
- レジオネラ菌値の再検査を行って、検出されないことを確認する。

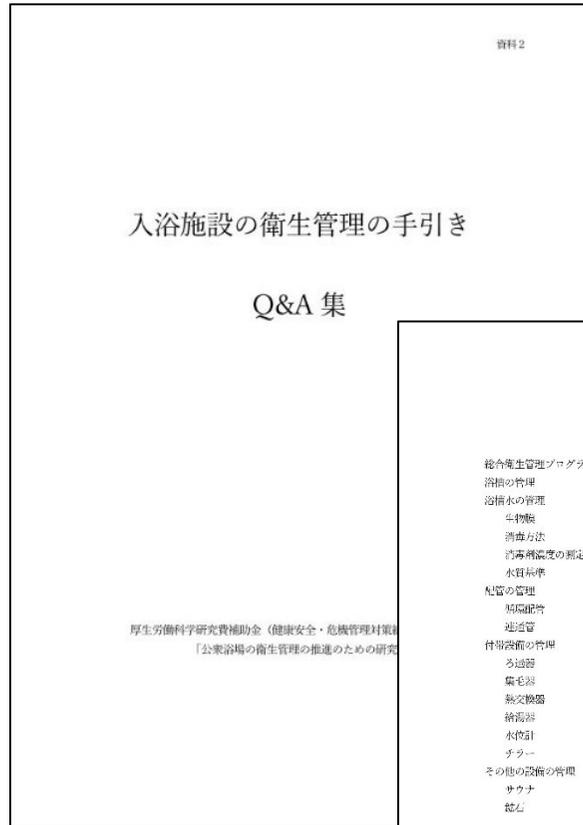


目次

序言	3
はじめに	5
目的	6
対象施設	6
公衆浴場	6
温泉	6
海水浴場	6
更衣室	9
洗面室	11
熱湯室	12
湯上り場	13
更衣室・浴室	15
公衆浴場の施設設備	15
給湯設備	16
オーバーフロー防止設備	17
設備	18
シャワー・排水設備	19
暖房・電気・その他設備	20
上りり材料の取扱い	21

\*本資料における「施設」とは公衆浴場における給湯設備やシャワー設備、更衣室、浴室等に関する施設設備を指し、温泉施設における温泉施設設備等については、別途の資料を参照してください。

資料 9-2 入浴施設の衛生管理の手引き Q&A 集



目 次

総合衛生管理プログラム	1
浴槽の管理	3
浴槽水の管理	5
生物膜	5
消毒方法	6
消毒濃度の測定	12
水質基準	15
配管の管理	16
配管配管	16
逆送管	18
付帯設備の管理	19
ろ過器	19
集毛器	20
熱交換器	20
給湯器	21
水栓計	22
シャワー	22
その他の設備の管理	23
サウナ	23
錠石	23

略号	
衛生管理要領	「公衆浴場における衛生管理要領等について」(平成12年12月15日厚生労働省令第181号)厚生省生活衛生局長通知の 別添2 公衆浴場における衛生管理要領
手引き	「入浴施設の衛生管理の手引き」
手引きの掲載版	「入浴施設の衛生管理の手引き」 第1版(衛生管理) 掲載版

総合衛生管理プログラム 1

**Q**：入浴施設においてレジオネラ属菌対策を進めるためには、チーム編成をしなければならないでしょうか。

**A**：レジオネラ属菌対策のための衛生管理の技術には様々なものがあり、それらを活用することでレジオネラ問題を解決することができます。しかし、レジオネラ問題が存在することを認識し、技術を適切に活用しなければ問題を解決することが難しくなります。そのため、レジオネラ問題を解決するには、衛生管理に関する技術だけでなく、組織体制を確立することが重要です。総合衛生管理プログラムにおいて編成するチームは、部署横断的な人選によって構成されるもので、異なる部署のスタッフがグループで活動する業務です。施設としてレジオネラ属菌やレジオネラ症に対する危機意識をもって施設一丸となって取り組むことを勧めてください。もしもレジオネラ属菌が検出された場合やレジオネラ症患者が発生した場合には、感染拡大防止のための措置を講じなければなりません。そのような場面においても、限られた人員で迅速に対応するためには、善後からチームという体制を作り、効率的に対処することが推奨されます。

総合衛生管理プログラム 2

**Q**：チームには衛生管理担当者だけではなく、施設のあらゆる部署の担当者が加わらなければならないでしょうか。フロント係や接客係であっても、浴場の衛生管理やレジオネラ属菌のことを知り、チームに参加したほうがよいでしょうか。

**A**：レジオネラ属菌対策には施設が一丸となって取り組むことが重要です。レジオネラの問題が存在するという共通認識を持ち、それぞれの部署が連携して継続的に対策を実施していかなければなりません。それぞれの部署の担当者はチームの中で役割を担います。フロント係や接客係が浴場の衛生管理やレジオネラ症を知っていれば、自信を持ってお客様と接することができます。手引にあるチーム編成を、もう少し砕けた表現で列挙すると、役割として次のような内容が例として挙げられます。この中に、レジオネラ属菌対策・施設管理講習会等の受講者がいて、レジオネラ属菌の知識をチームとして有していることも大事です。

- チーム責任者（施設管理責任者等、例えば経営者）
  - 施設の営業・運営方針を定めます。また、チーム会議での現場からの意見等を参考にして方針を新たに定め、あるいは修正します。
- 経理担当責任者
  - 施設における衛生管理の重要性を認識し、適切な支出を検討します。
- 接客担当責任者
  1. 入浴者の人数、性別、年齢などを把握します。
  2. 入浴者からの評判、感想、詳細、クレームなどの情報を収集し、チームに伝えます。
  3. 施設の衛生管理に関する状況等を必要に応じて入浴者に説明します。
- 企画担当責任者
  - 管理状況等を把握したうえで入浴施設の良さを宣伝し、イベント等を企画します。

資料 9-3 入浴施設の衛生管理の手引き 概要版(パンフレット)

資料 3

### 入浴施設の衛生管理の手引き 概要版

**1 入浴施設におけるレジオネラ属菌対策の意義**

レジオネラ属菌は人に感染する病原細菌であり、風邪症状のポンティアック熱、あるいは重篤なレジオネラ肺炎を引き起こします。レジオネラ症は全国で年間 2,000 件以上の届け出があり、そのうち年間 50 件程度の死亡例があります。

レジオネラ属菌は、河川や水溜まりなどの淡水や土壌などの環境に生息している細菌ですが、増殖に適した温度は 20~45℃とされており、入浴施設を適切に管理していないと、レジオネラ属菌が浴槽、ろ過器、集毛器、貯湯槽、配管等の設備内で増殖し、菌を吸い込んだ入浴者に重篤な健康被害を与える可能性があります。

水と長時間接触している配管や浴槽等の表面では、付着した細菌やアメーバが水中の有機物を利用して増え、生物膜(ぬめり)を作ります。レジオネラ属菌は、この生物膜の中に生息するアメーバの体内で大量に増殖し、その結果、浴槽水やシャワー水に浮遊するレジオネラ属菌が増えることで、入浴者に感染します。

生物膜に包まれたレジオネラ属菌は消毒剤から守られており、浴槽の清掃と浴槽水の消毒だけではレジオネラ属菌の発生を防ぐことはできません。生物膜の発生をできるだけ抑え、発生した生物膜を定期的に除去するよう日々管理するとともに、入浴者が吸い込むエアロゾル(空中を浮遊する細かい液体粒子)の発生を防ぐことが極めて重要です。

**2 衛生管理体制の確認 (総合衛生管理プログラム)**

まず、入浴施設において、レジオネラ属菌の増殖・定着を防ぎ、レジオネラ症患者の発生を予防するため、以下の項目について、それぞれの施設の衛生管理体制を確認しましょう。

- (1)衛生管理の責任者はだれか、実際に管理する担当者はいだれか。
- (2)施設の構造はどうなっているのか、どんな設備があるのか、いつ交換・洗浄・消毒したのか。
- (3)レジオネラ属菌が増えやすい場所やエアロゾルが発生しやすい場所はどこか。
- (4)重点的に管理すべき場所はどこか、管理状況をどのように確認し、どう記録に残すのか。
- (5)管理状況が基準を外れたとき、どのような処置をするのか。

次に、施設ごとにこれらの内容を文言化し、日々の衛生管理を計画的に行うための指標とします。そして、組織体制の変更、施設設備の更新や、管理上の不都合が確認された際は、速やかに改訂して施設内で情報を共有し、常に改善していくことが重要です。

参考資料として、施設設備/保守管理のチェックリストや施設設備の点検管理表の例を添付しましたので、各施設の衛生管理体制や、衛生管理状況の確認・文書化にご活用ください。

わからない点があれば、地域を管轄する保健所の生活衛生担当部署に相談しましょう。

このパンフレットは、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「公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消費方法等の衛生管理手法のための研究」が作成した「入浴施設の衛生管理の手引き」(令和4年5月13日、以下「手引き」という。)の概要版です。具体的な対応等の詳細は、「手引き」に示した該当ページをご確認ください。

**3 衛生管理のポイント (一般的衛生管理)**

循環式浴槽の例：設備概要、図中の丸数字は以下文書の各項目に対応  
 丸数字は設置している場合とない場合があること、  
 ○の中には△はポンプを表す  
 なお、オーバーフロー水の浴用利用は推奨されない

**1 貯湯槽(源泉槽)**

**【構造】**

- 湯の補給口、底部等に至るまで 60℃以上に保ち、かつ、最大使用時でも 55℃以上に保つことができる加温装置を設置する。
- 加温できない場合は、貯湯槽水の遊離残留塩素濃度を 0.4 mg/L 以上に保つことができる消毒設備を設置する。

**【管理】**

- ブラシ等による洗浄で生物膜を除去し、次亜塩素酸ナトリウム溶液等を用いて消毒する。
- 高圧洗浄では生物膜が残ることがあるので、洗浄後に徹底した消毒で生物膜を除去する。

**2 循環配管**

**【構造】**

- 給湯配管や給水配管は循環配管に接続しない。
- 高温で劣化せず、湯の温度が下がりにくい材質(耐熱性硬質ポリ塩化ビニル等)を使用する。

**【管理】**

- 生物膜を除去するため、貯湯槽の清掃に併せて定期的に配管洗浄を実施する。

**3 湯口**

**【構造】**

- 原水又は原湯の注入口は循環配管に接続せず、浴槽水面上部の湯口から浴槽に落とし込む構造とする。
- 循環水は浴槽底部に近い部分から補給し、湯口から出さない。
- 上蓋が外せ、内部の洗浄・消毒が容易な構造が望ましい。

**【管理】**

- 定期的にブラシを使って洗浄し、塩素系消毒剤で消毒する。

表 10-1 現行法と大腸菌定量法(1 個/mL 以下)の比較

		現行法		合計
		基準値超過	基準値内	
定量法(1 個/mL 以下)	基準値超過	2	1	3
	基準値内	4	130	134
合計		6	131	137

フィッシャーの正確確率検定により 2 法の結果に差はない。 $p=0.0095<0.01$

表 10-2 現行法と大腸菌定量法(1 個/mL 未満)の比較

		現行法		合計
		基準値超過	基準値内	
定量法(1 個/mL 未満)	基準値超過	4	1	5
	基準値内	2	130	132
合計		6	131	137

フィッシャーの正確確率検定により 2 法の結果に差はない。 $p=0.000011<0.01$

表 10-3 現行法と大腸菌定量法(不検出)の比較

		現行法		合計
		基準値超過	基準値内	
定量法(不検出)	基準値超過	5	3	8
	基準値内	1	128	129
合計		6	131	137

フィッシャーの正確確率検定により 2 法の結果に差はない。 $p=0.0000018<0.01$

表 10-4 現行法と大腸菌定性法(不検出)の比較

		現行法		合計
		基準値超過	基準値内	
定性法(不検出)	基準値超過	5	9	14
	基準値内	1	122	123
合計		6	131	137

フィッシャーの正確確率検定により 2 法の結果に差はない。 $p=0.000061<0.01$

表 11-1 定量・定性試験における大腸菌および大腸菌群の検出率

	サンプル数	定量試験		定性試験	
		大腸菌陽性の サンプル数 (%)	大腸菌群陽性の サンプル数 (%)	大腸菌陽性の サンプル数 (%)	大腸菌群陽性の サンプル数 (%)
井戸水(ボーリング水含む)	18	1	1	1	1
水道水	33	1	1	2	2
井戸水&水道水	4	0	0	0	0
温泉水	71	6	10	10	11
合計	126	8 (6.3%)	12 (9.5%)	13 (10.3%)	14 (11.1%)

表 11-2 浴槽水の種類と残留塩素濃度

	サンプル数	残留塩素濃度 <sup>1)</sup>			
		基準値未満	基準値内	基準値超過	測定不能/不明
井戸水(ボーリング水含む)	18	3	8	7	0
水道水	33	1	24	7	1
井戸水&水道水	4	2	1	1	0
温泉水	71	25	24	18	4
合計	126	31	57	33	5

<sup>1)</sup>遊離残留塩素濃度は、< 0.4 mg/Lを基準値未満、0.4~1 mg/Lを基準値内、>1 mg/Lを基準値超過とした。モノクロロアミン濃度については、< 3 mg/Lを基準値未満、3~4 mg/Lを基準値内、> 4 mg/Lを基準値超過とした。

表 11-3 大腸菌・大腸菌群陽性となった検体のリスト

サンプル No.	水源	残留塩素濃度 <sup>1)</sup>	培地A (CFU/plate)			培地B (CFU/plate)			培地D (CFU/plate)			ECブルー100P 「ニッスイ」		コリラート		デソキシコレート 寒天培地 (CFU/plate)
			大腸菌	大腸菌群	他	大腸菌	大腸菌群	他	大腸菌	大腸菌群	他	大腸菌	大腸菌群	大腸菌	大腸菌群	
E-002	井戸水	基準値未満	0	0	3+	0.5	0.5	3+	0	0	3+	+	+	実施せず		0.5
E-007	温泉水	基準値未満	0	0	0	0	0	1+	0	1.5	0	-	+	実施せず		0
E-018	温泉水	基準値内	0	0.5	1+	0	0	0	0	0	1+	-	-	実施せず		0
E-035	温泉水	基準値未満	0	>4	2+	0.5	>4	1+	2	2	2+	+	+	実施せず		1.5
E-057	温泉水	基準値未満	9	1	3+	9	1.5	3+	実施せず			+	+	実施せず		9
E-063	温泉水	基準値未満	0	0	2+	0	0	1+	実施せず			-	+	実施せず		0
E-064	温泉水	基準値未満	0	1	1+	0	0	0	実施せず			+	+	実施せず		0.5
E-066	温泉水	基準値未満	11.5	0	2+	9.5	0.5	0	実施せず			+	+	実施せず		13
E-070	水道水	基準値未満	0.5	1	3+	0.5	0.5	3+	0	0	3+	実施せず		+	+	0
E-073	温泉水	基準値内	1	1		0.5	0.5		1	1		実施せず		+	+	1.5
E-076	温泉水	基準値内	0	0		0	0		0	0		実施せず		+	+	0
E-080	温泉水	測定不能	0	4		1	4.5		0	1.5		実施せず		+	+	3
E-081	温泉水	測定不能	0	0		0	0		0	0		実施せず		+	測定不能	0
E-082	温泉水	測定不能	0	0		0	0		0	0		実施せず		+	測定不能	0
E-083	温泉水	基準値内	0	0.5		0	0		0	0		実施せず		-	+	1
E-084	水道水	基準値内	0	0		0	0		0	0		実施せず		+	+	0
E-098	温泉水	基準値未満	0.5	0.5		2	3		0	0.5		実施せず		+	+	0.5

<sup>1)</sup>遊離残留塩素濃度は、< 0.4 mg/Lを基準値未満、0.4~1 mg/Lを基準値内、>1 mg/Lを基準値超過とした。モノクロロアミン濃度については、< 3 mg/Lを基準値未満、3~4 mg/Lを基準値内、> 4 mg/Lを基準値超過とした。

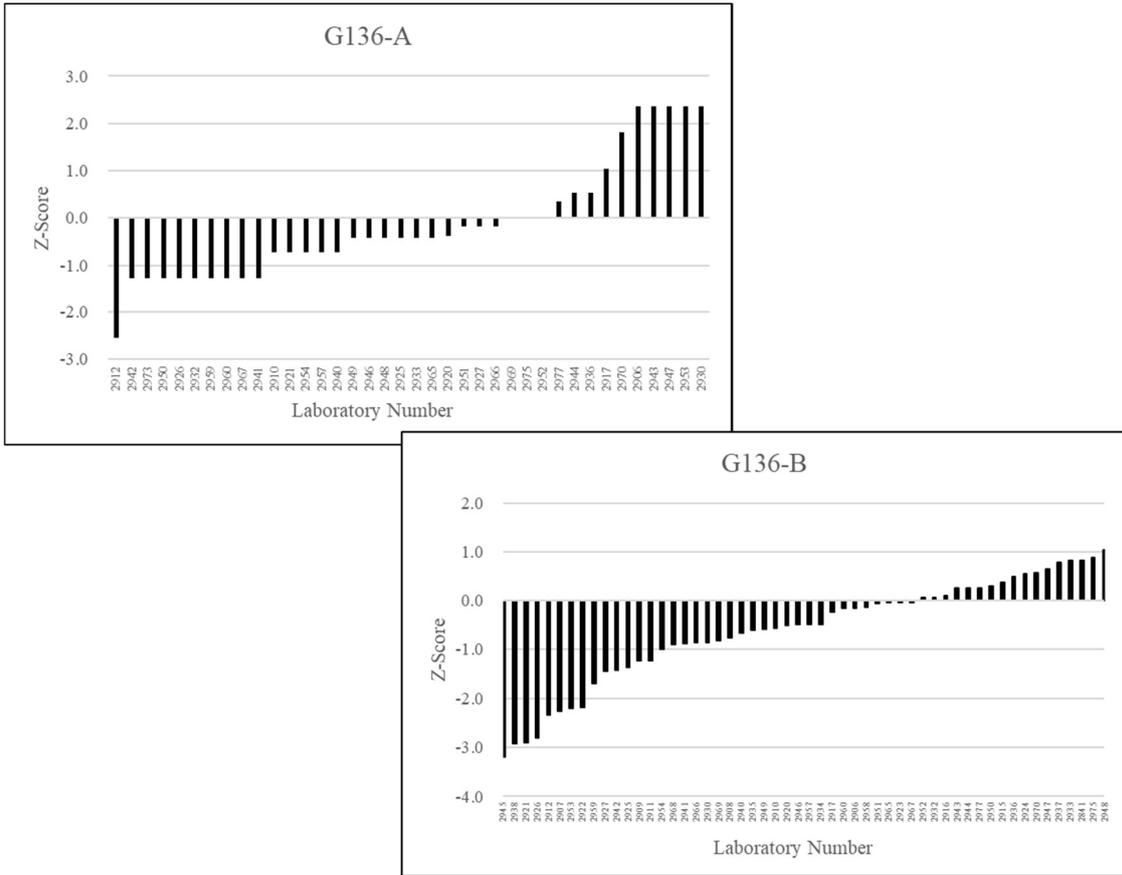


図 12-1 UKHSA 地衛研参加者の Z スコア (G136-A、G136-B)

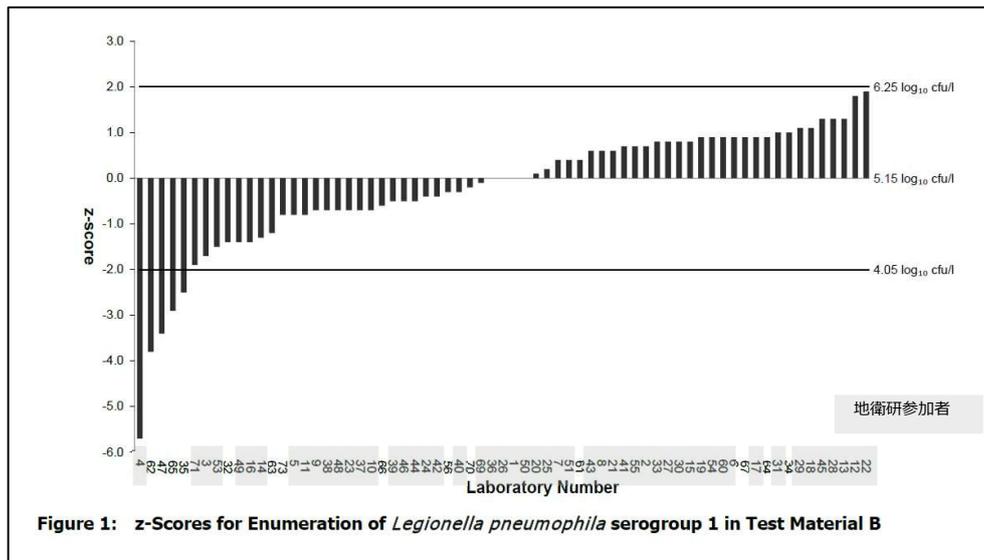
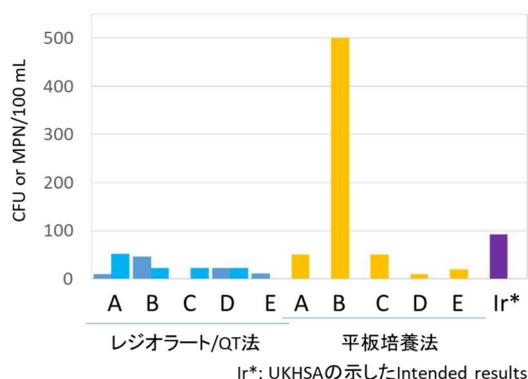


Figure 1: z-Scores for Enumeration of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in Test Material B

図 12-2 FAPAS LG0124-B 全参加者の Z スコアと分布  
(Fapas-Water and Environmental Proficiency Test Report より)

A) Sample A



B) Sample B

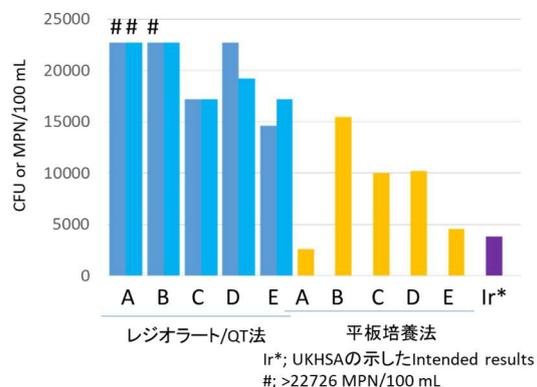


図 13-1 UKHSA 外部精度管理をレジオラートでも受験した 5 施設の結果

表 13-1 冷却塔水におけるレジオラート/QT 法(未処理)、  
平板培養法により、レジオネラ属菌を検出した検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート /QT法 (未処理)	陽性	18	19	37
	陰性	1	24	25
	計	19	43	62

表 13-2 冷却塔水におけるレジオラート/QT 法(酸処理)、  
平板培養法により、レジオネラ属菌を検出した検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート /QT法 (酸処理)	陽性	12	4	16
	陰性	7	39	46
	計	19	43	62

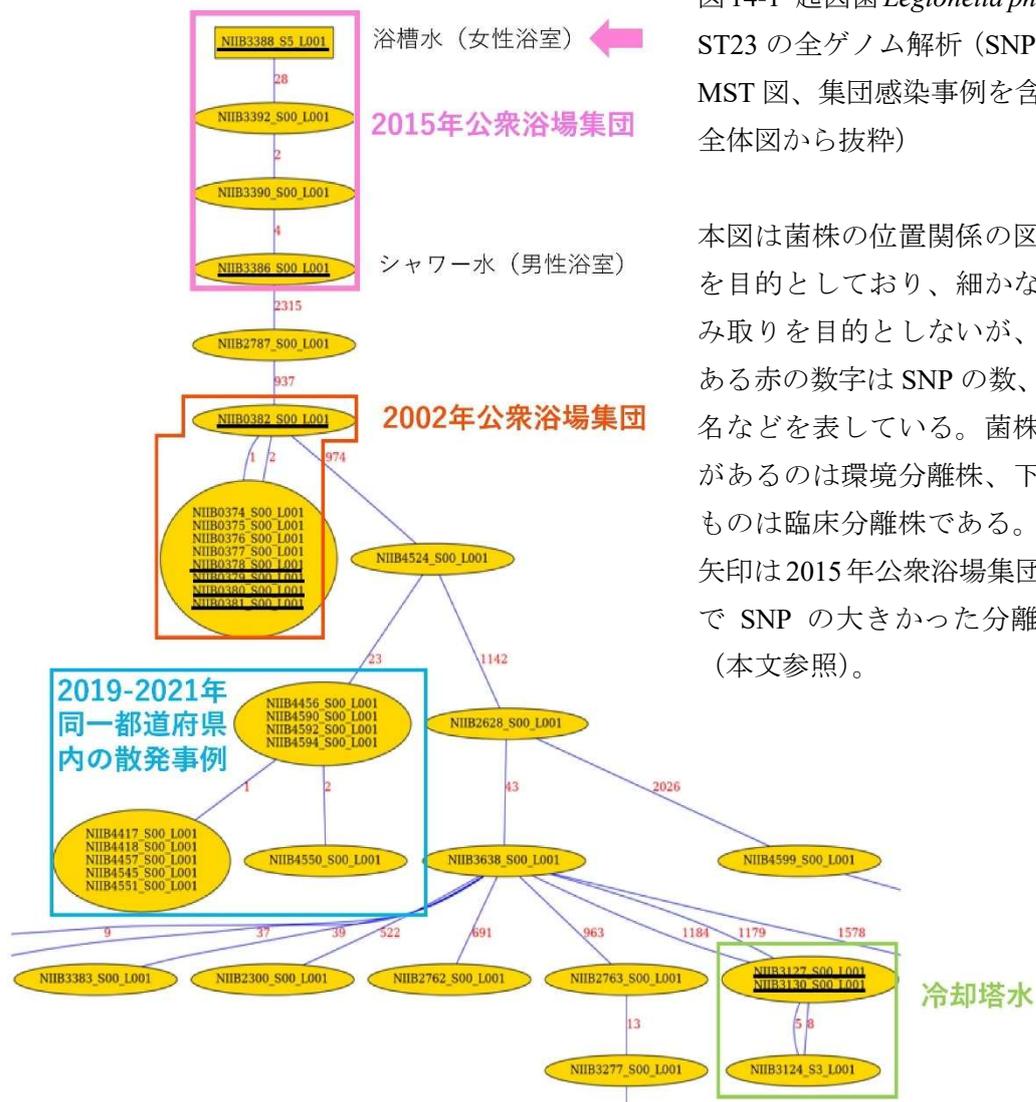
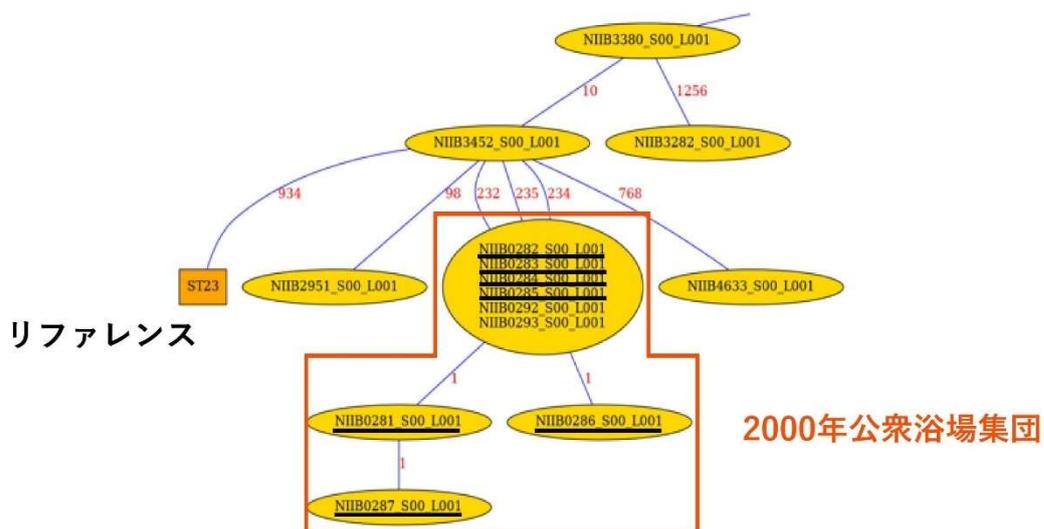


図 14-1 起因菌 *Legionella pneumophila* ST23 の全ゲノム解析 (SNP に基づく MST 図、集団感染事例を含む部分を全体図から抜粋)

本図は菌株の位置関係の図示と把握を目的としており、細かな文字の読み取りを目的としないが、線の横にある赤の数字は SNP の数、黒字は株名などを表している。菌株名に下線があるのは環境分離株、下線のないものは臨床分離株である。一番上の矢印は 2015 年公衆浴場集団感染事例で SNP の大きかった分離株を示す (本文参照)。



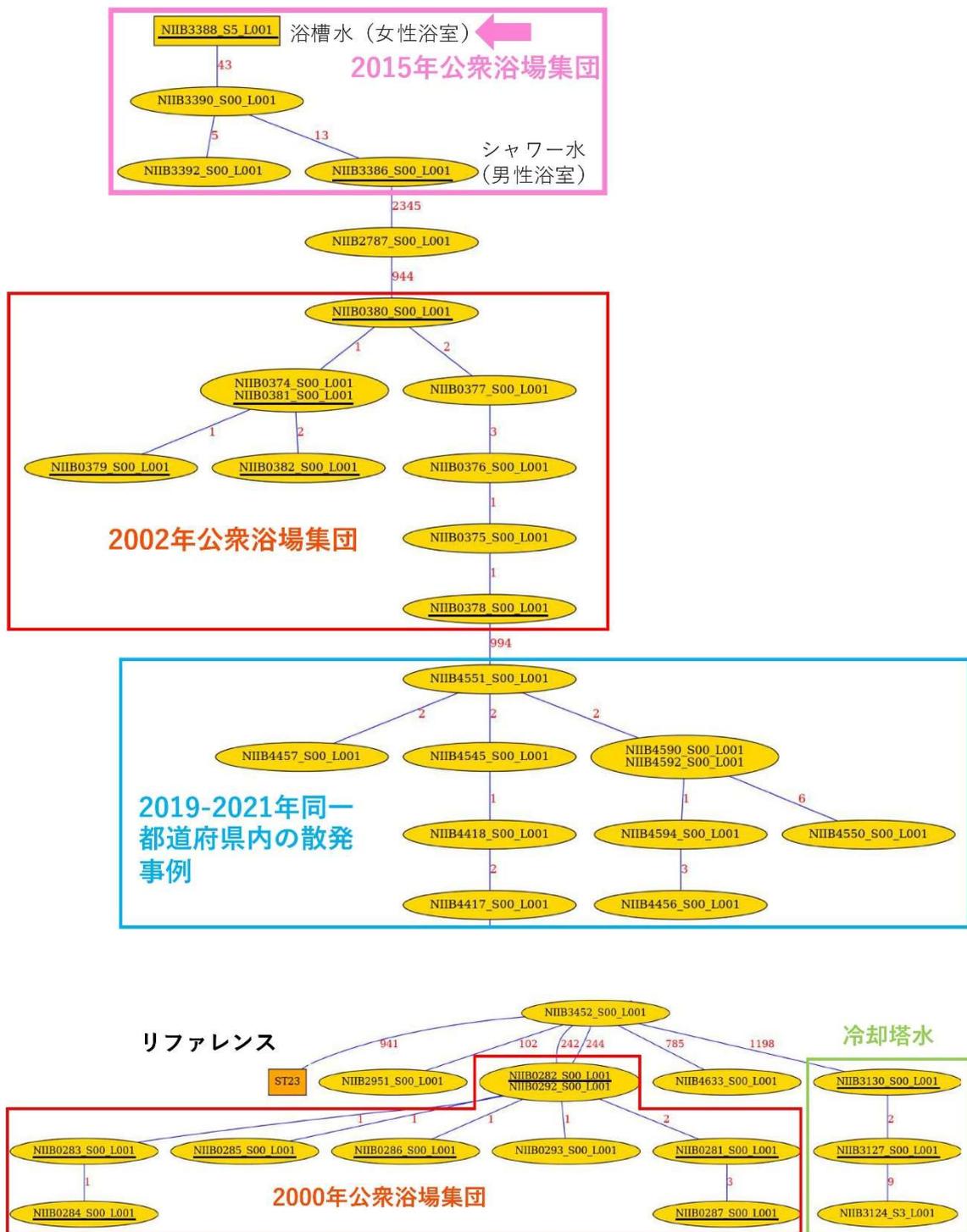
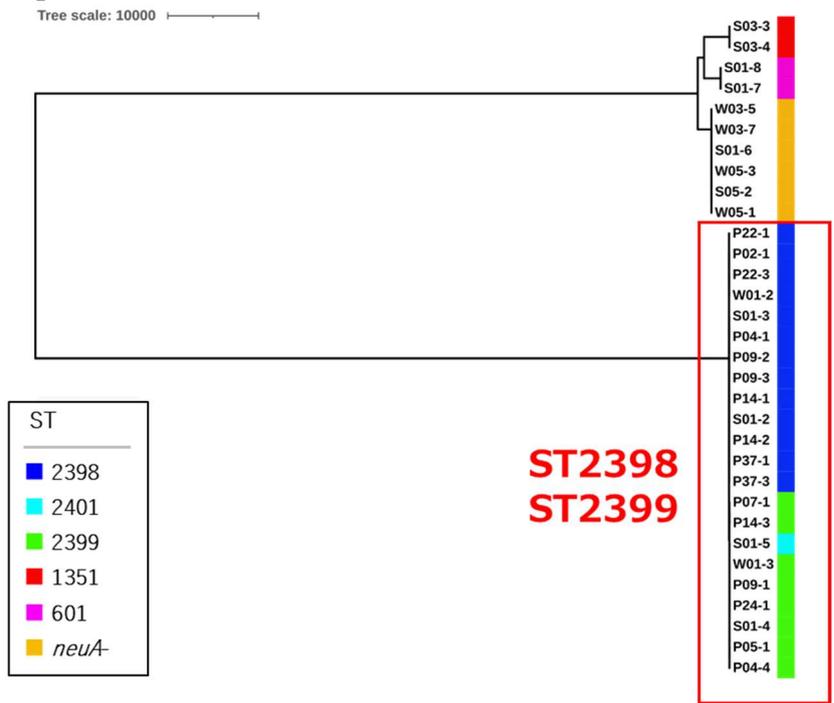


図 14-2 起因菌 *Legionella pneumophila* ST23 の全ゲノム解析 (ME に基づく MST 図、集団感染事例を含む部分を全体図から抜粋) 見方は図 1 と同様である。

(A)



(B)

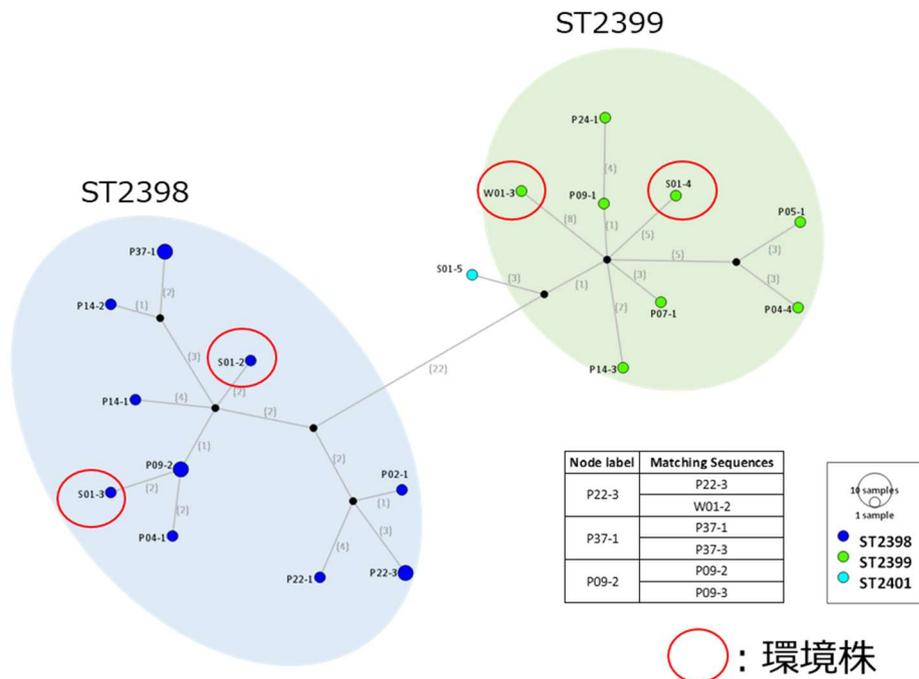


図 15-1 ST2398、ST2399、ST2401 他の全ゲノム解析

A) 32 株の全ゲノム配列による系統樹

B) ST2398 と ST2399 の 2 集団を分別できたハプロタイプネットワーク図

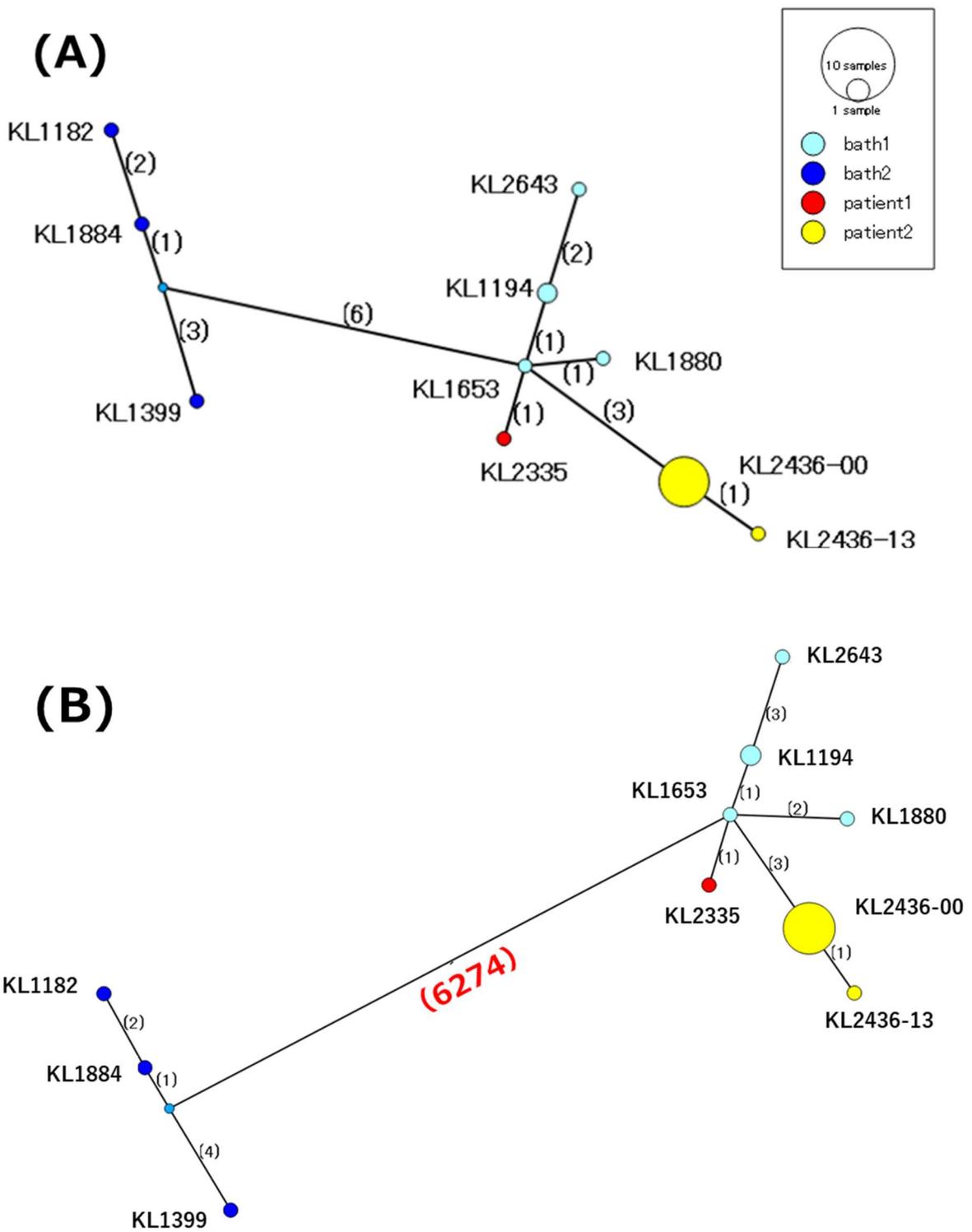


図 15-2 ST354 の 23 株の全ゲノム解析 (ハプロタイプネットワーク図)

A) Gubbins により組み換え領域の除去をした場合

B) Gubbins により組み換え領域の除去をしない場合

令和6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)

公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

研究代表者 泉山 信司 国立感染症研究所 寄生動物部

分担研究報告書

アルカリ性温泉 (pH10) におけるモノクロラミンの消毒効果と菌叢に与える影響

研究分担者	柳本 恵太	山梨県衛生環境研究所	微生物部
研究協力者	高村 知成	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	土屋 邦男	山梨県衛生環境研究所	微生物部
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	杉山 寛治	株式会社マルマ	研究開発部
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

研究要旨

アルカリ性温泉では遊離塩素による消毒効果が低下するが、結合塩素のモノクロラミンはレジオネラ属菌を抑制することが確認されている。一方、モノクロラミン消毒下で従属栄養細菌数や 16S rDNA コピー数の増加、菌叢の変化が認められることがあり、他の病原細菌が生じていないか懸念される。本研究では、アルカリ性温泉のモノクロラミン消毒において、消毒効果と菌叢への影響を検討した。pH10 のアルカリ性温泉の公衆浴場 1 施設の協力により、モノクロラミン消毒の実証試験を行った。生菌と死菌の両方を検出する通常の PCR 検査だけでなく、生菌を検出する PMA-PCR を用いて、菌叢の変化を確認した。その結果、モノクロラミン消毒導入前に検出されたレジオネラ属菌が導入後は不検出となり、アルカリ性温泉であってもモノクロラミン消毒はレジオネラ属菌に有効であることを再確認した。従属栄養細菌数と一般細菌数はモノクロラミン導入後に減少したが、16S rDNA コピー数は PMAxx 処理の有無に関わらず導入前と同等であった。菌叢解析の結果は、モノクロラミン導入後に自然環境由来と思われる *Porphyrobacter* 属菌などが減少する一方で、ヒトの皮膚由来と思われる *Staphylococcus* 属菌などの割合が増加した。PMAxx 処理時に培養陰性であったレジオネラ属菌の割合が増加したが、絶対数が増加したわけではなく、死菌を含む培養不能菌と考えられた。その他の病原細菌の増加は認めなかった。今回の実証試験では従属栄養細菌数や 16S rDNA コピー数の増加や病原細菌の増殖はなく、浴槽水はモノクロラミン消毒により良好な衛生状態に維持できたと考えられた。

## A. 研究目的

レジオネラ属菌の増殖を抑えるため、公衆浴場では主に次亜塩素酸ナトリウム（遊離塩素）による浴槽水の消毒が実施されている。ただし、アンモニア態窒素、鉄、マンガン、有機物を含む温泉では濃度が低下し、高 pH の泉質の場合、十分な消毒効果を発揮しないことが知られている。

遊離塩素とアンモニアの反応で生成される結合塩素の一種であるモノクロラミンは、前述の泉質であってもレジオネラ属菌に対する有効性が確認されている<sup>1)</sup>。ただしモノクロラミン消毒を継続して実施すると *Mycobacterium phlei* 等の従属栄養細菌が増加することがある<sup>2)</sup>。*M. phlei* は非結核性抗酸菌の一種であり、感染報告の例はほぼないが、バイオフィルム形成防止の観点からも、増殖に対しては注意が必要である。我々はこれまでにその様な病原細菌に類するものの増加が他にも生じるのか、モノクロラミン消毒が菌叢に与える影響に注意を払ってきた。これまでのところ、有機物を多く含む温泉 2 施設においては、16S rDNA コピー数の増加や菌叢の変化が認められているものの、新たな病原細菌の出現は見えていない<sup>3,4)</sup>。pH10 程度のアルカリ性温泉 1 施設においても同様に、死菌由来 16S rDNA コピー数が増加した一方で生菌由来は増加せず、自然環境由来細菌が減少し、ヒトの皮膚由来と思われる細菌の割合が増加した<sup>5)</sup>。

本研究ではアルカリ性温泉におけるモノクロラミン消毒の例数を増やしながら、消毒効果や菌叢に与える影響を検討した。

## B. 研究方法

### (1) 対象施設

協力を得た対象施設は、消毒に影響を与える物質をほとんど含まない、pH9.8 の源泉水を利用していた（表 1）。試験対象浴槽は約 5 m<sup>3</sup> の露天風呂とした。入浴者数は 1 日に 100~300 名程度で、浴槽水の循環ろ過系統を有しており、1 週間に 1 回の換水と清掃をしていた。

### (2) モノクロラミンの濃度管理

モノクロラミン生成装置（クロラクター、ケイ・アイ化成）を設置し、遊離塩素製剤（ケイミックス SP、ケイ・アイ化成）とアンモニウム製剤（レジサイド、ケイ・アイ化成）からモノクロラミン溶液を用時調製し、対象浴槽の循環系統に添加した。浴槽水のモノクロラミン濃度として、概ね 3~5 mg/L の範囲となるように一定の注入量を設定した。

週 1 回、循環配管を高濃度モノクロラミンで消毒した（図 1）。具体的には、浴槽水のモノクロラミン濃度を 10~15 mg/L 程度に上昇させ、約 1 時間の循環を行った。

### (3) 各種測定

試験に供する浴槽水は、チオ硫酸ナトリウムを添加した滅菌容器に採水した。細菌培養用は冷蔵、アメーバ培養用の試料は常温にて、搬送・保存した。採水は、モノクロラミン導入前後の 4 週間に週 1 回、配管消毒 4 日後の営業開始前に実施した（図 1）。レジオネラ属菌は、0.20 μm ポリカーボネート製メンブレンフィルター（ADVANTEC）でろ過濃縮した 100 倍濃縮液を、熱処理または酸処理し、GVPC 寒天培地を用いて 35°C で 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」を用いて 35°C で 24 時間培養した。一般細菌は、標準寒天培地を用いて 35°C で 48 時間培養した。従属栄養細菌は R2A 寒天

培地を用いて、浴槽水と同じ温度である 42°C で、14 日間培養した。モノクロラミン導入前後各 4 検体の一般細菌数および従属栄養細菌数を比較し、t-検定の危険率 5%未満を有意差ありと判定した (Microsoft Excel 2016)。自由生活性アメーバは、浴槽水を 1,000×g の 5 分間で 50 倍に遠心濃縮した濃縮試料の 1 mL について、大腸菌塗布無栄養寒天培地を用いて 40°C で 14 日間培養した。

採水時に pH および遊離塩素、全塩素、モノクロラミン濃度を測定した。pH はガラス電極式 pH メーター (堀場)、遊離塩素と全塩素は DPD 法によるポケット残留塩素計 (HACH)、モノクロラミンは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) により測定した。

PCR 用試料の一部は、浴槽水 1L を前述同様にろ過した後、死菌の影響を抑制するための DNA 修飾色素 (PMA<sub>xx</sub>、Biotium) で処理した。すなわち、ろ過装置上で濃縮操作後のフィルターに、PMA<sub>xx</sub> を加えて 5 分間待機した後、シャーレに移し 45 分間 LED Crosslinker (タカラバイオ) で光照射した。PMA<sub>xx</sub> (propidium monoazide xx) は、PMA (propidium monoazide) や EMA (ethidium monoazide) より死菌を抑える効果が高いとされることから使用した。PMA<sub>xx</sub> 処理および非処理フィルターから DNeasy PowerWater Kit (QIAGEN) を用いて DNA 抽出を行った。16S rDNA コピー数の定量は Clokie らの方法<sup>6)</sup> により行った。モノクロラミン導入前後のコピー数を比較し、PMA<sub>xx</sub> 処理の有無別に前述の比較と同じ、t-検定の危険率 5%未満を有意差ありと判定した。また、同遺伝子の V3-V4 領域を対象として、アンプリコンシーケンスによる菌叢解析を行った (生物技研)。菌叢の割合は、モ

ノクロラミン消毒導入前後と PMA<sub>xx</sub> 処理の有無別にそれぞれ 4 週間分のデータを平均した。病原性細菌の種類については、少なくとも 1% 以上の存在割合の範囲に病原菌としての報告があるかを確認した。

### C. 研究結果および考察

モノクロラミン導入前の全 4 検体から *Legionella pneumophila* 血清群 1 (および型別不能) が検出され、定量値は 70~300 CFU/100 mL であった。自由生活性アメーバについても、導入前の浴槽水 3 検体から検出された。大腸菌群はいずれも不検出であった (表 2)。モノクロラミン導入後は、浴槽水のレジオネラ属菌および自由生活性アメーバが安定的に抑制され、良好な衛生状態が得られることを再確認できた。

浴槽水中の一般細菌数はモノクロラミン消毒導入前に 300~5,000 CFU/mL 程度であったのに対し、導入後には 14 CFU/mL が 1 検体、検出下限値未満が 3 検体と有意に減少した。また、従属栄養細菌数については導入前には 400~24,000 CFU/mL 程度、導入後は 1~4 CFU/mL と、一般細菌数と同様に大幅に減少した (図 2)。なお、従属栄養細菌が大きく減少したのに対して有意差 (t 検定で  $p=0.06$ ) ありとならなかったが、サンプル数が 4 と少ないのと、標準偏差が大きかったことが理由と考えられた。

これまでの実証試験では、従属栄養細菌数が増加した施設があった一方で、増加のない施設もあった<sup>3,4,7)</sup>。増加しない施設の共通点として、浴槽水の pH が 10 程度であることと、一日の入浴者数が比較的少数 (100~300 名) であり、汚染の負荷量と洗浄の頻度や程度、バイオフィルムの蓄積の有無が関連していると

考えられる。増加している従属栄養細菌の主な菌種としては *M. phlei* が確認されており<sup>2,4)</sup>、非結核性抗酸菌の一種であり、感染報告の例はほぼないが、バイオフィルム形成防止の観点からも、増殖に対して注意を払っている。

浴槽水中の 16S rDNA コピー数は、モノクロラミン導入前後で有意な変化はなく、PMAxx 処理サンプルでは非処理サンプルと比較し 1/10~1/60 程度に減少した(図 3)。以前の実証試験では従属栄養細菌数、16S rDNA コピー数の両方が増加した場合<sup>4)</sup>、前者は減少し後者が増加した場合<sup>3)</sup>、後者だけが増加傾向にあった場合<sup>5)</sup>があったが、今回は前者は減少し後者は変化がなかった。モノクロラミン消毒で一定の結果になるとは限らず、雑菌とバイオフィルムの蓄積を防ぐように、洗浄の徹底が大事と考えられた。

浴槽水の菌叢解析の結果、モノクロラミン導入前の PMAxx 非処理サンプルでは、温泉、湖や土壌などの自然環境中に存在する<sup>8-12)</sup> *Porphyrobacter* 属菌、*Pseudomonas alcaligenes*、*Aquidulcibacter* 属菌、*Tepidimonas fonticaldi*、*Acidovorax lacteus* が優占種であった。導入後は、これらの割合は大きく減少し、ヒトの皮膚の常在菌<sup>13)</sup>である *Staphylococcus* 属菌や *Corynebacterium tuberculostearicum* の存在割合が増加するなど菌叢が変化したが、病原菌として報告されている細菌の割合は増加しなかった。

PMAxx 処理をした場合、導入前では *Porphyrobacter* 属菌などの割合が PMAxx 非処理と変わらなかった一方で、割合が減少した *P. alcaligenes*、*Aquidulcibacter* 属菌の多くは死菌で、これらの菌種は遊離塩素消毒により死菌となったと考えられた。導入後

では導入前の PMAxx 処理時に優占していた *Porphyrobacter* 属菌、*Tepidimonas fonticaldi*、*Acidovorax lacteus* が大きく減少した。これらはモノクロラミン消毒により死菌となったと考えられた。

病原菌では、導入後の PMAxx 処理サンプルは非処理サンプルと比較し *Legionella* 属菌の割合が増加したが、培養からは検出されなかった(表 2) ため、病原性がないか弱いとされている<sup>14,15)</sup>培養不能 (VBNC) 状態の同菌または死菌が検出されたと考えられた(図 4)。これに加えて、PMAxx 処理により検出できる全体の遺伝子量が減少したことにより、*Legionella* 属菌の割合が増加したと考えられた。これ以外では 1%以上の存在割合の範囲に病原菌は確認できなかった。

今回の試験において、モノクロラミン導入によりレジオネラ属菌の陰性化、一般細菌数、従属栄養細菌数の減少、菌叢の変化が確認された。16S rDNA コピー数に変化はなかったが、菌叢が変化したことにより一般細菌、従属栄養細菌として検出できない菌種が優占種となり、細菌数自体には大きな変化がなかった可能性が考えられる。または、細菌数自体は減少したが、遊離塩素と比較するとモノクロラミンは DNA の分解能力が低い<sup>16)</sup>ため、死菌由来 DNA が多く残存し、PMAxx 処理でも抑えきれずに高い値となったかもしれない。PMA 処理は完全に死菌を抑えるものではなく、多少なりと死菌が残ることから、EMA、PMA や PMAxx といった、より性能が良い化合物が求められてきた経緯がある。他に、モノクロラミンは VBNC 状態を誘起する可能性が指摘されている<sup>17)</sup>ため、培養では検出できないが生菌由来の 16S rDNA で検出できる状況となった可能性もある。これらのうち複数の要因が重

なって従属栄養細菌数と 16S rDNA コピー数の多寡に影響を与えた可能性が考えられた。

#### D. 結論

pH10 程度のアルカリ性温泉において、モノクロラミン消毒によるレジオネラ属菌に対する消毒効果を再確認することができた。一般細菌数、従属栄養細菌数は減少したが、16S rDNA コピー数は大きな変化がなかった。モノクロラミン消毒により菌叢の変化が生じたと考えられた。培養と菌叢解析の結果から病原菌の増加はなかったと考えられ、モノクロラミン消毒により良好な衛生状態に維持できたと考えられた。

#### E. 参考文献

1. 杉山寛治:環境水からのレジオネラ・宿主アメーバ検出とその制御<sup>10</sup> 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, 防菌防黴, 47, (2019), 159-166
2. 長岡宏美, 泉山信司, 八木田健司, 杉山寛治, 小坂浩司, 壁谷美加, 土屋祐司, 市村祐二, 青木信和: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(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 平成 28 年度分担研究報告書
3. 柳本恵太, 泉山信司, 望月映希, 大森雄貴, 山上隆也, 植松香星, 久田美子, 田中慶郎, 杉山寛治, 茶山忠久, 市村祐二:有機物を含む温泉におけるモノクロラミン消毒, 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 令和3年度分担研究報告書
4. 柳本恵太, 植松香星, 望月映希, 鶴田英美, 山上隆也, 久田美子, 田中慶郎, 杉山寛治, 茶山忠久, 市村祐二:モノクロラミン消毒実証試験における浴槽水の菌叢解析, 厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)公衆浴場の衛生管理の推進のための研究 令和4年度分担研究報告書
5. 柳本恵太, 植松香星, 山上隆也, 久田美子, 田中慶郎, 杉山寛治, 茶山忠久, 市村祐二:pH10 のアルカリ性温泉におけるモノクロラミン消毒効果と菌叢解析, 厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)公衆浴場の衛生管理の推進のための研究 令和5年度分担研究報告書
6. Clokie BGJ, Elsheshtawy A, Albalat A, Nylund A, Beveridge A, Payne CJ, MacKenzie S: Optimization of Low-Biomass Sample Collection and Quantitative PCR-Based Titration Impact 16S rRNA Microbiome Resolution. *Microbiol Spectr.* 2022 21;10(6):e0225522.
7. 柳本恵太, 堀内雅人, 山上隆也, 植松香星, 久田美子, 杉山寛治, 田中慶郎, 茶山忠久, 市村祐二, 泉山信司: 山梨県のアルカリ性 (pH10 程度) 温泉におけるモノクロラミン消毒の有効性の検討, 防菌防黴, 49, (2021), 261-267
8. Kristyanto S, Lee SD, Kim J: *Porphyrobacter algicida* sp. nov., an

- algalytic bacterium isolated from seawater. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2017; 67(11):4526–4533.
9. Batrich M, Maskeri L, Schubert R, Ho B, Kohout M, Abdeljaber M, Abuhasna A, Kholoki M, Psihogios P, Razzaq T, Sawhney S, Siddiqui S, Xoubi E, Cooper A, Hatzopoulos T, Putonti C: *Pseudomonas* diversity within urban freshwaters. *Front Microbiol.* 2019; 10:195.
  10. Iwashita T, Tanaka Y, Tamaki H, Nakai R, Yoneda Y, Makino A, Toyama T, Kamagata Y, Morikawa M, Mori K: Isolation and characterization of novel plant growth-promoting bacteria from the fronds of duckweed; *Jpn J Water Treat Biology,* 2021; 57(1): 1–9.
  11. Chen WM, Huang HW, Chang JS, Han YL, Guo TR, Sheu SY: *Tepidimonas fonticaldi* sp. nov., a slightly thermophilic betaproteobacterium isolated from a hot spring. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2013; 63: 1810-1816.
  12. Chun SJ, Cui Y, Ko SR, Lee HG, Srivastava A, Oh HM, Ahn CY: *Acidovorax lacteus* sp. nov., isolated from a culture of a bloom-forming cyanobacterium (*Microcystis* sp.). *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2017 110(9):1199-1205.
  13. Ahmed N, Joglekar P, Deming C; NISC Comparative Sequencing Program; Lemon KP, Kong HH, Segre JA, Conlan S: Genomic characterization of the *C. tuberculostearicum* species complex, a prominent member of the human skin microbiome. *mSystems.* 2023 21;8(6):e0063223.
  14. Epalle T, Girardot F, Allegra S, Maurice-Blanc C, Garraud O, Riffard S: Viable but not culturable forms of *Legionella pneumophila* generated after heat shock treatment are infectious for macrophage-like and alveolar epithelial cells after resuscitation on *Acanthamoeba polyphaga*. *Microb Ecol.* 2015; 69(1):215-24.
  15. Dietersdorfer E, Kirschner A, Schrammel B, Ohradanova-Repic A, Stockinger H, Sommer R, Walochnik J, Cervero-Aragó S. Starved viable but non-culturable (VBNC) *Legionella* strains can infect and replicate in amoebae and human macrophages. *Water Res.* 2018 15;141:428-438.
  16. 泉山信司, 藤井明, 松田宗大, 松田尚子, 枝川亜希子, 吉田光範, 星野仁彦: モノクロラミン消毒の薬湯への応用、並びに雑菌への対応, 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 平成30年度分担研究報告書
  17. Casini B, Baggiani A, Totaro M, Mansi A, Costa AL, Aquino F, Miccoli M, Valentini P, Bruschi F, Lopalco PL, Privitera G. Detection of viable but non-culturable legionella in hospital water network following monochloramine disinfection. *J Hosp Infect.* 2018; 98(1):46-52.

#### F. 研究発表

誌上発表 なし  
口頭発表 なし

G. 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. 源泉水の分析値

項目	分析値	項目	分析値
全塩素	<0.1 mg/L	Br <sup>-</sup>	<0.1 mg/L
pH	9.8	I <sup>-</sup>	<0.1 mg/L
ORP	+62 mV	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	<0.1 mg/L
一般細菌数	2.0×10 <sup>4</sup> CFU/mL	硫黄*	<0.1 mg/L
アンモニア態窒素	<0.1 mg/L	マンガンイオン	<0.1mg/L
Cl <sup>-</sup>	1.7 mg/L	総鉄イオン (鉄(II)イオン)	<0.1 mg/L (<0.1 mg/L )

\* 硫化水素(H<sub>2</sub>S)、硫化水素イオン(HS<sup>-</sup>)、硫化物イオン(S<sup>2-</sup>)の合計値

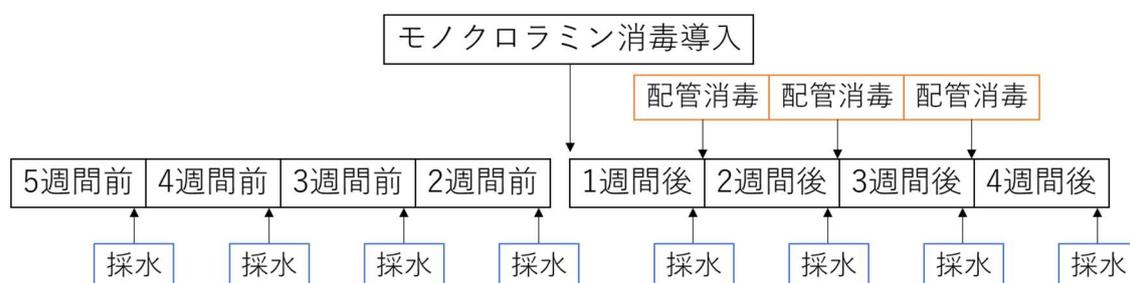


図 1. 試験期間中の採水・高濃度モノクロラミン配管消毒状況

表 2. 浴槽水の微生物試験結果

検査項目	レジオネラ属菌数 (CFU/100 mL)	アメーバ数 ( / 50 mL)	大腸菌群 ( / 100 mL)	pH	遊離残留塩素 (mg/L)	全残留塩素 (mg/L)	モノクロラミン (mg/L)
導入 5 週間前	70	0	陰性	9.7	0.1	0.2	—
導入 4 週間前	300	6	陰性	10.0	0.1	0.1	—
導入 3 週間前	80	17	陰性	10.0	0.1	0.1	—
導入 2 週間前	170	10	陰性	9.9	0.1	0.1	—
-----							
導入 1 週間後	<10	0	陰性	10.0	—	3.4	3.5
導入 2 週間後	<10	0	陰性	10.0	—	4.7	5.4
導入 3 週間後	<10	0	陰性	10.1	—	3.7	3.8
導入 4 週間後	<10	0	陰性	10.0	—	3.7	3.9

—:測定なし

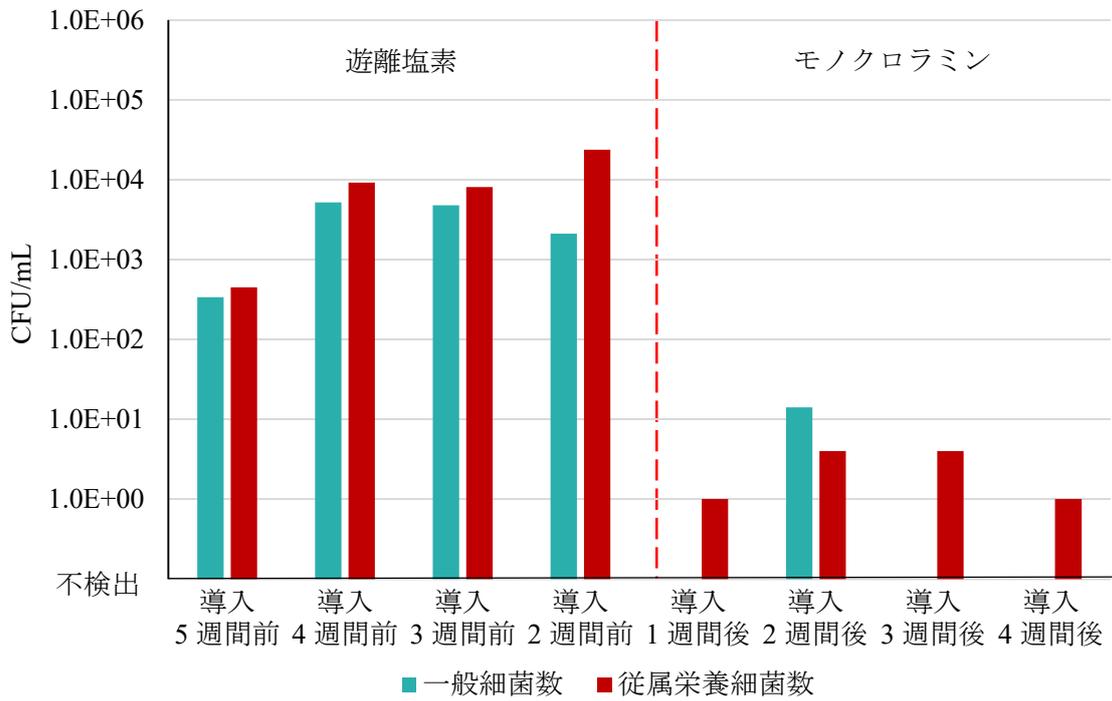


図 2. 浴槽水の一般細菌数、従属栄養細菌数

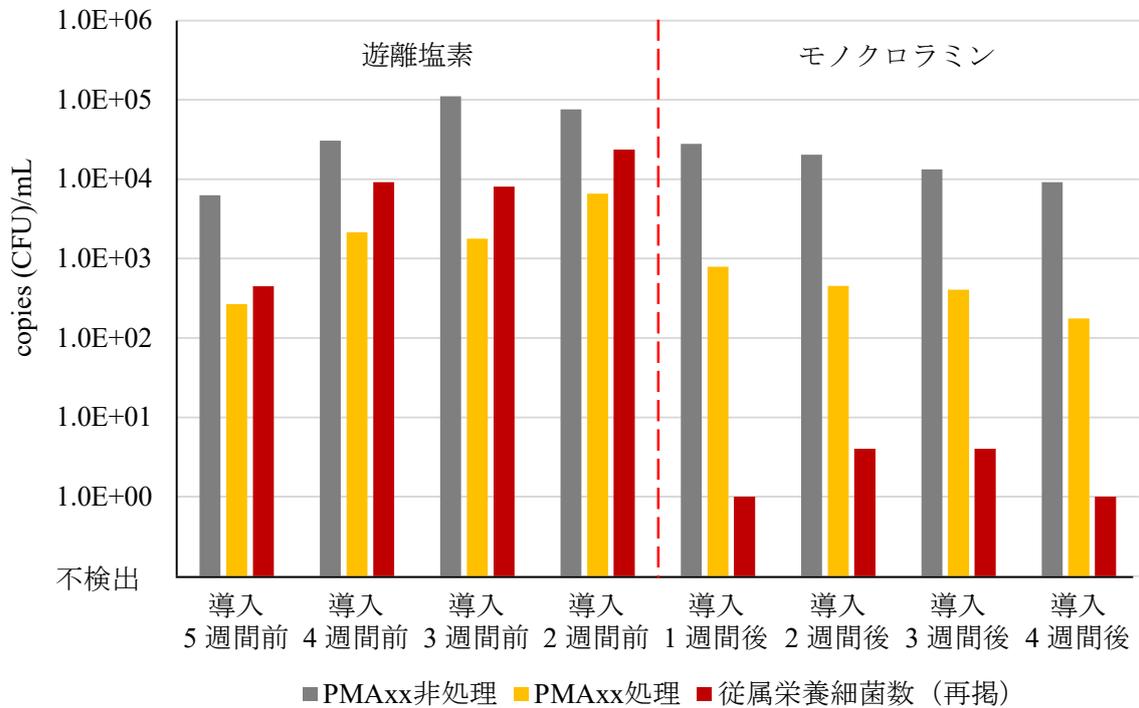


図 3. 浴槽水の 16S rDNA コピー数

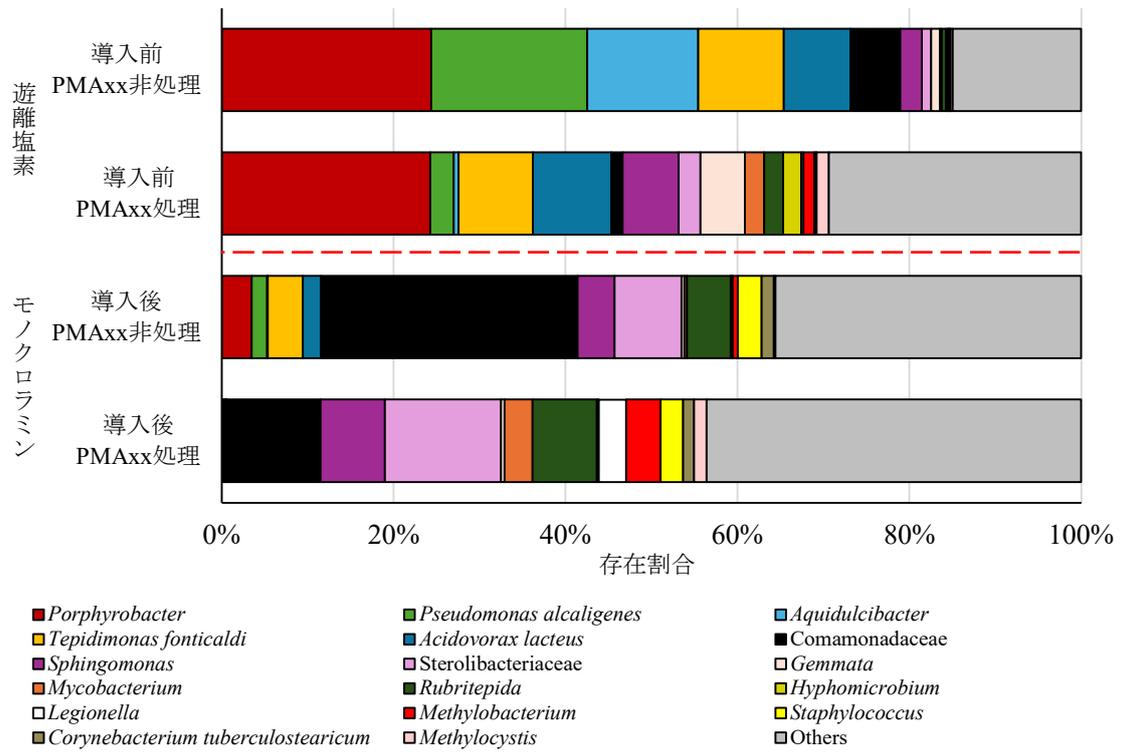


図 4. 浴槽水の菌叢解析結果 (各 4 週間分データの平均)

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）

公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所 寄生動物部

令和 6 年度分担研究報告書

入浴施設におけるレジオネラ汚染の実態調査および分子疫学的解析の活用

研究分担者 黒木俊郎 岡山理科大学 獣医学部

研究分担者 陳内理生 神奈川県衛生研究所 微生物部

○研究協力者 中嶋直樹 神奈川県衛生研究所 微生物部

レジオネラ属菌による汚染に苦慮する入浴施設 1 か所を対象として、2015 年から継続的にレジオネラ属菌による汚染の実態を調査してきた。これまで遊離塩素濃度を高値に保つ対策等を実施してきたが、わずかな汚染が残って完全には排除できておらず、本報告は 2022～2024 年の状況についてまとめた。レジオネラ属菌の汚染源の可能性があり、循環装置に付随するろ過器を検査の対象として追加するとともに、分離したレジオネラ属菌を分子疫学的方法で詳細に解析した。この期間中の遊離塩素濃度は、およそ高値（各年の中央値: 0.68、1.59 および 0.36 mg/L）に維持されていた。地下貯湯槽および高置貯湯槽、ならびに浴室 1 の各試料からは、レジオネラ属菌は分離されなかった。浴室 2 はろ過器とカランから *Legionella pneumophila* が分離されたものの、カランは 2023 年に 10 CFU/100 mL と低値だったこと、ろ過器は血清群 1 および血清群 9、カランはろ過器とは異なる血清群の 6 であったことから、レジオネラ属菌の増殖はおよそ抑えられていると考えられた。Sequence-based typing (SBT) および Single nucleotide variant (SNV) の解析によると、2015～2016 年に浴室 1 のカランや浴室 2 の湯口から分離された株が、浴槽 2 のろ過器由来株と近縁だった。2016 年頃に施設内にレジオネラ属菌による汚染が広がったものの、これまでに実施した対策により汚染が軽減・拡散が防がれて、現在はろ過器および一部の配管に限定的な汚染が残存していると推定された。

#### A. 緒言

本研究は、レジオネラ属菌による汚染および感染症の予防対策を目的とし、2015 年から継続的に入浴施設 1 か所を対象とした汚染実態の調査をしてきた。対象の入浴施設では、次亜塩素酸ナトリウム添加装置の設置で遊離塩素濃度を高値に保つ対策等を実施し、レジオネラ属菌に汚染された配管の清浄化を目指してい

た。これまでの結果として、2015～2018 年度には調査した 8 か所中 5 か所（最大 3,000 CFU/100 mL）からレジオネラ属菌が検出されたが、2019 年度の調査では 3 か所の検出まで減少していた（10～300 CFU/100 mL）。2020 年度の新型コロナウイルス感染症の対策である緊急事態宣言に際しては、休業期間中の衛生管理を徹底することで（配管内の遊離塩

素濃度を継続的に高値に保つ等)、2021年度には1か所(20 CFU/100 mL)のごくわずかな検出まで汚染が軽減されていた[1]。

本報告ではさらなる低減を目指して実施した、2022~2024年の調査についてまとめた。これまでと同様の検査に加えて、レジオネラ属菌の供給源を探索するため、その可能性のある、浴槽の循環装置に付随するろ過器を検査対象に追加した。さらに本調査を含む、これまでに分離されたレジオネラ属菌を対象に、Sequence-based typing (SBT) および Single nucleotide variant (SNV) の解析を実施し、汚染状況をより詳細に把握することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 試料

神奈川県内の入浴施設1か所において、2022~2024年の各7月に調査した。2つの浴室(浴室1および2)の浴槽、湯口、カラン、シャワー、配管末端放水部(夜間・休館日等において、常時開口し、配管内循環を維持することを目的として、ボタン式のカラン・シャワーを撤去し、代わりにレバー式の蛇口を設置した部分で、配管の最末端)、ろ過器、地下および高置貯湯槽から、計18試料を採水した。シャワーとカランからの試料は、開栓直後の初流水を採水した。一部のカラン試料は、開栓3分後(3分流水後水)にも採水した。試料は500 mLをチオ硫酸ナトリウムが添加された滅菌容器に採水し、レジオネラ属菌の分離および従属栄養細菌数の測定に供した。これとは別の50 mLを遠沈管に採水し、pH(ガラス電極法)、遊離残留塩素濃度(DPD法)およびアンモニア態窒素濃度(インドフェノール法)の測定に供した。温度の測定は、試料採水時にデジタル温度計で実施

した。

### 2. レジオネラ属菌の分離培養・菌種同定

試料500 mLを直径47 mm、孔径0.2 μmのポリカーボネートメンブランフィルターで吸引ろ過し、濃縮物を1/50希釈したPBSの5 mLに再浮遊した(以下、濃縮液)。濃縮液に対し、前処理は次の方法で行った。酸処理は、等量のpH 2.2緩衝液を加えて4分間静置した。熱処理は、50°Cの恒温水槽中で20分間静置した。一部濃縮液は、これらの前処理を行わず培養した(未処理)。

各処理液の100 μLをGVPC寒天培地(島津ダイアグノスティクス)およびMWY寒天培地(関東化学)に塗抹し、36±1°Cで少なくとも7日間培養した。レジオネラ属菌を疑うコロニーをBCYE α寒天培地(日研生物)に転培し、レジオネラ属菌および*Legionella pneumophila*に特異的なプライマーを用いたPCR法[2-3]により菌種同定を行った。*L. pneumophila*だった場合は、レジオネラ免疫血清(デンカ)を用いて血清群(Serogroup; SG)を決定した。

### 3. 従属栄養細菌数

濃縮前の試料をPBSで10倍段階希釈し、それらの1 mLを混釈法によりR2A寒天培地(BD)に接種した。20°Cで7日間培養し、集落数を計数した。

### 4. SBT

European Working Group of *Legionella* Infections (EWGLI)の方法に従った[4]。アルカリ熱抽出法で抽出したDNAを鋳型に用いて、7つの遺伝子領域(*flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *mompS*, *proA*, *neuA*)をPCRにより増幅後、

サンガー法でそれぞれ塩基配列を決定した。塩基配列をデータベースと比較し、各遺伝子の Allele 番号と sequence type (ST) を決定した。

## 5. 全ゲノム解析

菌株から DNA をフェノール・クロロホルム法で抽出し、エタノール沈殿法で精製した。QIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN) を用いてライブラリ調製し、外注により NovaSeq 6000 System (Illumina) を用いてリードデータを得た (Rhelixa)。リードデータから snippy (<https://github.com/tseemann/snippy>) を用いて SNV を抽出し、Gubbins [5] を用いて推定組み換え領域を除去した。マッピングに用いたレファレンス配列は ReferenceSeeker (<https://github.com/oschwengers/referenceseeker>) を用いて選択した。抽出した SNV を基に PopART [6] でネットワーク図を作成した。

## C. 結果および考察

2022～2024 年における調査結果を表 1 に示した。

遊離塩素濃度は 2023 年まで高値 (2022 および 2023 年の中央値: それぞれ 0.68 および 1.59 mg/L) に維持されていたが、施設の方針に変更があり、2024 年に中央値 0.36 mg/L まで濃度が低下しており、汚染の悪化が懸念された。

従属栄養細菌数はいずれも低値 (2022～2024 年の中央値:  $1.5 \times 10^0 \sim 1.2 \times 10^1$  CFU/mL) を示した。地下貯湯槽および高置貯湯槽、ならびに浴室 1 の各試料からはレジオネラ属菌は分離されなかった。浴室 1 の試料では 2020 年以前の調査でレジオネラ属菌による汚染が確認されていたが、2020 年に実施した休業期間中の衛生管理により清浄化され、

そこから現在まで保たれていることが確認された。このことから少なくとも現状の遊離塩素濃度を維持することで浴室 1 の配管内でのレジオネラ属菌の増殖は抑えられると考えられた。

一方、浴室 2 のいくつかの試料ではレジオネラ属菌が分離された。浴室 2 の試料のうち、カラン 4 と一体化しているシャワーろ過器を除く 7 試料 (シャワーはカラン 4 から分岐していることからほぼ同一であるため、ろ過器は浴槽の循環水を含むため除外した) における、遊離塩素濃度、レジオネラ属菌数および従属栄養細菌数 (中央値) を図 1 に示した。遊離塩素濃度は全試料における傾向と同じで、2022 年は中央値 0.67 mg/L だったが、2023 年は中央値 1.74 mg/L に上昇し、2024 年度は中央値 0.32 mg/L に低下した。従属栄養細菌数は 2022 年から 2024 年にかけて低値 (中央値:  $1.5 \sim 2.5 \times 10^1$  CFU/mL) に抑えられていた。カラン 3 では、2022 年にレジオネラ属菌は分離されたものの、2023 年以降は分離されておらず、2023 年の高い遊離塩素濃度により清浄化された可能性が示唆された。一方、カラン 4 (3 分流水後水) では、2022 年にレジオネラ属菌が分離 (50 CFU/100 mL) され、2023 年に 10 CFU/100 mL まで減少したものの、2024 年に再び 40 CFU/100 mL まで上昇した。カラン 4 は利用頻度が低いのかもしれず、このため遊離塩素によるレジオネラ属菌に対する消毒効果が得られにくい可能性が考えられた。

本調査で新たに追加したろ過器試料においては、浴室 1 ではレジオネラ属菌は分離されず、浴室 2 では *L. pneumophila* SG1 および *L. pneumophila* SG9 (10～260 CFU/100 mL) が分離された (表 1)。浴室 2 のろ過器はレジオ

ネラ属菌による汚染が確認されたものの、低値であり、両浴室のろ過器は良好に管理されていた。当該施設では営業終了後に毎日ろ過器の逆洗が行われており、加えて遊離塩素濃度の維持が適切に行われたと考えられた。

一方、浴室2のカラン3から *Legionella* sp. が、カラン4から *L. pneumophila* SG6 および *Legionella* sp. が分離された。これらはろ過器とは異なる血清群の *L. pneumophila* およびレジオネラ属菌であり、ろ過器の汚染の拡散ではなかった。しかし、今回ろ過器から分離された *L. pneumophila* SG1 および *L. pneumophila* SG9 は過去にはカランや湯口から分離されたことがあったため、これらが同じ汚染由来か検討することとした。

過去に分離された株（2015～2023年分離株）を含め、SBT法を実施したところ、2022および2023年のろ過器分離株と同じST（ST1およびST1907）が、過去の分離株にあったことが判明した（表2）。ST1は、2016年の浴室2の湯口および2018年のカラン3から検出されていた。ST1907は、2015年と2016年のカラン1およびカラン3から検出されていた。すなわち、同じSTが8年もの間、分離場所は異なるが、施設内に維持されていた。このSTの一致が偶然によるものか、さらに詳細な検討を加えた。

これらST1およびST1907株を対象（ST1の4株、およびST1907の6株、直近の2024年分離株は未実施）に、SNV解析を実施した（図2）。マッピングに使用したリファレンス配列は、ST1に *L. pneumophila* Corby (GenBank accession number CP000675)、ST1907に *L. pneumophila* Flint 2 (同、NZ\_CP021281) とした。

ST1については、浴室2のろ過器2株およ

び湯口1株のSNV差が1～3と僅かで、非常に近縁であった。これはろ過器の湯が湯口に届くためと考えられた。ST1907については、浴室2のろ過器の2株および浴室1のカラン1の2株におけるSNV差が、5～26と近縁だった。ST1907の多くは2015～2016年に分離された株で、遊離塩素消毒による汚染対策が徹底される前のものであった。2016年頃はこのST1907が浴室1と2に共通して、施設の広い範囲を汚染していたが、その後の対策により汚染が軽減され、現在は浴室2のろ過器に限定的な汚染が残存していると推測された。

#### D. 結論

2015年から追跡してきた入浴施設1か所における、2022～2024年の汚染実態についてまとめた。遊離塩素濃度は高く維持されていた。浴室2のカランと新たに検査対象に追加した浴室2のろ過器からレジオネラ属菌が分離されたものの、低値であったことから、増殖は抑えられていると考えられた。血清群、SBT法およびSNV解析の結果から、過去に汚染の拡散があったが、現在はろ過器からの汚染は拡大しておらず、一部の配管に限定的な汚染が残存していることが推定された。

#### E. 参考文献

1. 黒木俊郎, 泉山信司, 大屋日登美, 陳内理生, 中嶋直樹ら. 入浴施設及び医療機関におけるレジオネラ汚染実態調査. 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)」, 令和3年度分担研究報告書.

2. 山本啓之. PCR 法による *Legionella* 属細菌の検出・同定. 日本臨床, 1992, 50 特別号: 394-399.
  3. Mahbubani MH, et al. Detection of *Legionella* with polymerase chain reaction and gene probe methods. Molecular and Cellular Probes, 1990, 4:175-187.
  4. Gaia V, Fry NK, Afshar B, Lück PC, Meugnier H, et al. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila*. J Clin Microbiol. 2005, 43:2047-52.
  5. Croucher NJ, et al. Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences using Gubbins. Nucleic Acids Res. 2015, 43:e15.
  6. Leigh JW, Bryant D. POPART: Full-feature software for haplotype network construction. Methods Ecol Evol. 2015, 6:1110-1116.
- F. 研究発表
- 紙上発表  
なし
- 学会発表
1. 中嶋直樹、陳内理生、黒木俊郎. 入浴施設の塩素消毒によるレジオネラ対策事例. 第5回 Hospital Water Hygiene 研究会学術集会. 2023年11月. 東京.
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

表1 2022～2024年の調査結果

	実施年		
	2022	2023	2024
<b>レジオネラ属菌分離</b>			
地下貯湯槽	-	-	-
高置貯湯槽	-	-	-
<b>浴室1</b>			
浴槽	-	-	-
湯口	-	-	-
カラン1 初流水	-	-	-
カラン1 3分流水後水	-	-	-
カラン2 初流水	-	-	-
シャワー	-	-	-
配管末端放水部	-	-	-
ろ過器	-	-	-
<b>浴室2</b>			
浴槽	-	-	-
湯口	-	-	-
カラン3 初流水	80 (Lsp) <sup>†</sup>	-	-
カラン4 初流水	-	10 (Lp SG6)	10 (Lp SG6)
カラン4 3分流水後水	50 (Lp SG6, Lsp)	10 (Lp SG6)	40 (Lp SG6)
シャワー	-	-	-
配管末端放水部	-	-	-
ろ過器	260 (Lp SG1, Lp SG9)	10 (Lp SG1, Lp SG9)	50 (Lp SG1, Lp SG9)
遊離塩素濃度 (mg/L)	0.01–1.61 (中央値: 0.68)	0.02–2.00以上 (中央値: 1.59)	0.12–2.00以上 (中央値: 0.36)
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	$0.5 \times 10^0$ – $7.0 \times 10^2$ (中央値: $1.2 \times 10^1$ )	$0$ – $2.3 \times 10^4$ (中央値: 1.5)	$0$ – $9.2 \times 10^2$ (中央値: 2.3)
水温 (°C)	34.0–54.1	34.5–56.6	31.1–56.8
pH	8.02–8.17	7.99–8.51	7.86–8.36
アンモニア態窒素濃度 (mg/L)	すべて検出限界 (0.01) 以下	すべて検出限界 (0.01) 以下	すべて検出限界 (0.01) 以下

<sup>†</sup>数値はレジオネラ属菌数 (CFU/100 mL)、括弧内は分離された菌種を示す。

Lp: *Legionella pneumophila*, Lsp: *Legionella* sp., SG; Serogroup, -: 不検出 (10 CFU/100 mL未満)

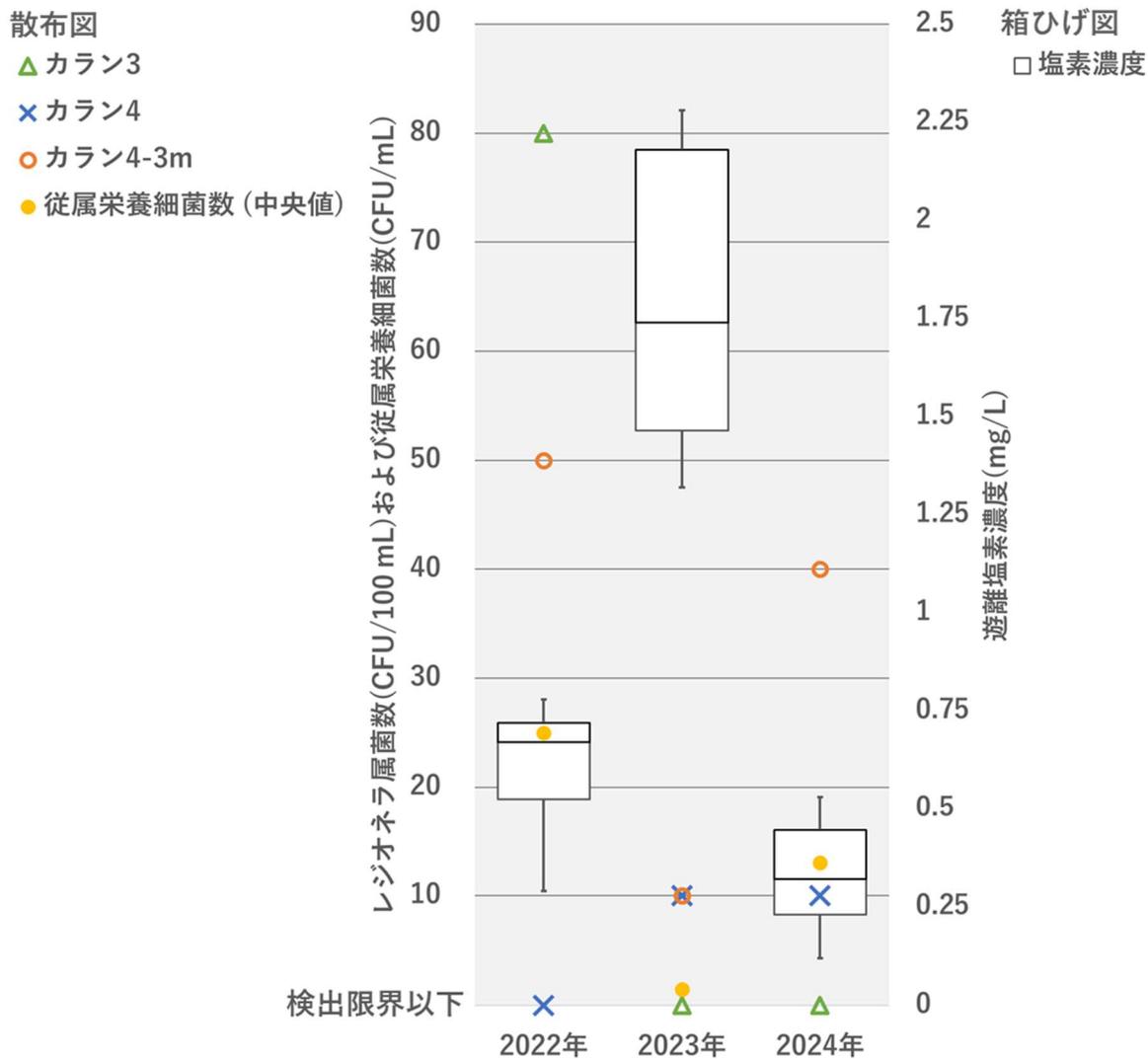


図1 浴室2由来の7試料における調査結果

注) レジオネラ属菌数については7試料のうち各年いずれも検出限界以下であった試料を除く3検体を表示

表2 2015～2023年に分離された *L. pneumophila* SG1 および SG9 の ST

実施年	浴室1		浴室2			
	カラン1	カラン2	カラン3	カラン4	湯口	ろ過器
2015年	ST1907	ST552	ST1907	ST552	-	N. T.
2016年	ST1907	ST552	ST1907	ST2693	ST1	N. T.
2017年	-	-	ST2693	ST2693	-	N. T.
2018年	-	-	ST1, ST2693	ST552, ST2693	-	N. T.
2019年	ST552	-	ST2693	ST552	-	N. T.
2020年	-	-	ST2693	-	-	N. T.
2021年	-	-	-	-	-	N. T.
2022年	-	-	-	-	-	ST1, ST1907
2023年	-	-	-	-	-	ST1, ST1907

ST1およびST552: *L. pneumophila* SG1、ST1907およびST2693: *L. pneumophila* SG9、N.T.: not tested

ST: Sequence type, SG: Serogroup

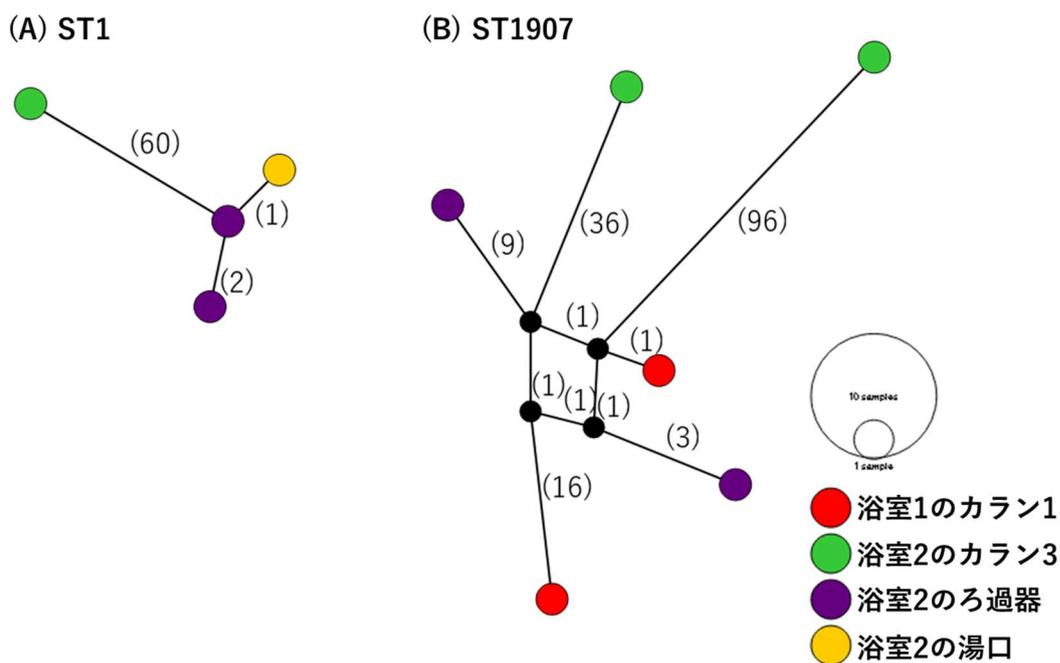


図2 (A) ST1 および (B) ST1907 株を対象とした Single nucleotide variant (SNV) 解析に基づくネットワーク図

図中の括弧内の数値は株間の SNV 差を示す。

ST: Sequence type

令和6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)

公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

研究代表者 泉山 信司 国立感染症研究所 寄生動物部

### 分担研究報告書

#### 電解生成オゾンを用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒・洗浄試験

研究代表者	泉山 信司	国立感染症研究所	寄生動物部
研究協力者	石井 清隆	株式会社ヤマト	温浴事業部
研究協力者	木村 哲也	株式会社ヤマト	温浴事業部
研究協力者	小森 正人	株式会社ヤマト	大和環境技術研究所

#### 研究要旨

公衆浴場のろ過器はレジオネラ属菌の汚染源の1つであり、週に1回以上の頻度で高濃度塩素を用いた逆洗消毒が推奨されている。しかし、この方法はろ過器を満たせる分量の薬液や中和処理を必要とするなど、労力・コスト負担が避けられない。一方、塩素より高い酸化力を有するオゾンの場合、現場で連続的に生成するので、労力・コスト負担の軽減と高い消毒効果が期待できる。これまでの検討で、複数のろ過器に電解オゾン水を適用してレジオネラ汚染を抑制できたことから、本研究ではスケールアップを目標とした。営業しているスーパー銭湯の協力を得て、汚濁量の多い(男女2つのジェット浴槽を1つのろ過器でろ過)大型ろ過器(有効容量≒ろ材充填量 1.8m<sup>3</sup>)を対象に逆洗消毒の試験を行った。すなわちろ過器に対して、その容量分(1.8m<sup>3</sup>)の電解オゾン水を、営業終了後の毎日の逆洗浄時に供給した。オゾン濃度を0.5から1.3mg/Lへと段階的に上昇させたところ、換水後浴槽水のレジオネラ属菌は、突発的な検出以外は概ね抑制されていた。その後、約1ヶ月のオゾン停止期間中に浴槽水のレジオネラ属菌は増加傾向となったが、オゾン濃度1.5mg/Lで再開後は換水後浴槽水で4週間連続してレジオネラ不検出となった。しかし浴槽水からレジオネラ属菌が検出されることがあり、電解オゾン水の効果は限定的であった。レジオネラ検出の理由としては、ジェット循環配管が付帯して、ろ過器が逆洗消毒されてもろ過器以外からの汚染が検出されるだろうこと、入浴者数が多く男女2浴槽を1つのろ過器でろ過するため汚濁量が多かったこと、電解オゾン水の供給に70分間を要するのでオゾンが減衰してろ材全体に行き届かなかったこと、などが考えられた。

## A. 研究目的

公衆浴場等の温浴施設で衛生上の問題となっているレジオネラ属菌は、設備に付着する生物膜中で保護され、洗浄や消毒の困難なことが知られている<sup>1)</sup>。つまり生物膜を除去し、その増殖を抑制することは、重要な衛生管理の1つとなっている。特にろ過器を有する循環式浴槽はレジオネラ属菌に汚染されやすく、「公衆浴場における衛生等管理要領等について」において、「1週間に1回以上、ろ過器を十分に逆流洗浄(以下、逆洗)して汚れを排出するとともに、ろ過器及び循環配管について、適切な方法で生物膜を除去、消毒」するとされている<sup>2)</sup>。これを受けて「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」では、循環配管に2~3%の過酸化水素や5~10 mg/Lの高濃度塩素を用いる方法が紹介されている<sup>3)</sup>。「レジオネラ症防止指針」では、ろ過器に対して、1週間に1回以上の頻度で5~10 mg/Lの高濃度塩素を使用した逆洗が推奨されており、気泡装置や噴流(以下、ジェット)装置を設けた浴槽のろ過器に対しては、毎日1回以上の頻度とされている<sup>4)</sup>。

しかし、これらのマニュアルや指針には、ろ過器の適切な生物膜の除去、消毒についての具体的方法や説明が不足しているかもしれない。例えば大容量のろ過器と配管に対応するために、多量の薬液と外付けタンク等を必要としたり、中和排水等の後処理が必要であったり、多くの労力やコスト負担が避けられない。また、逆洗の浴槽水がアルカリ性のところに高濃度の遊離塩素を使う場合には、次亜塩素酸に比べて次亜塩素酸イオンの比率が高くなるため酸化力が低下し<sup>5)</sup>、消毒効果が不足する。消毒が不足するとろ過器に雑菌が繁殖し、レジオネラ属菌の検出が続くことになる。

過酸化水素や塩素以外の方法として、前述のマニュアルや指針には、オゾン、紫外線、銀イオン、光触媒等の利用が挙げられている。そのうちオゾンは、先進的な管理要領が高知県で制定された経緯があり、有力な候補の一つと考えられる<sup>6)</sup>。オゾンは、空気(酸素)の無声放電<sup>7)</sup>や水の電気分解<sup>8)</sup>により必要量を現場で生成できて、多量の薬剤を搬入するための労力は不要となる。高pHでは、自己分解して酸化力の高いヒドロキシラジカルを生成し<sup>9)</sup>、pHの影響は無視できるか、むしろ消毒効果が高まる傾向を持つこともある<sup>10)</sup>。オゾンは塩素消毒より高い酸化力を有し、消毒効果への疑問はない<sup>11)</sup>。一方で気体のオゾンは高濃度になると人体に危険であり、多量に使用する場合には排オゾン設備が必須となる等、厳重な注意を要する。

日本産業衛生学会では、作業環境基準(1日8時間労働)としてのオゾン許容濃度(健康上の影響がないと判断される濃度)を0.1 ppm(0.2 mg/m<sup>3</sup>)と定めている<sup>12)</sup>ものの、水溶液のオゾン水については特段の基準値等は見受けられなかった。水の電気分解により生成するオゾンは、相対的に生成量が少なく、安全性の問題が少ない。

本研究では、電解生成オゾンを用いたろ過器の消毒・洗浄方法について検討してきた。これまでの検討で、複数のろ過器に電解オゾン水を適用してレジオネラ汚染を抑制できたことから、本研究ではスケールアップを目標とした。令和6年度は、男女2つのジェット浴槽を1つのろ過器でろ過している大型ろ過器(有効容量≒ろ材充填量 1.8m<sup>3</sup>)を試験対象とした。当該ろ過器への汚濁量は非常に多く、またジェット循環により浴槽水へ溶存酸素が絶えず供給されるため、ろ過器内に生物膜が多量に蓄積

していることが想定された。上述したように、「レジオネラ症防止指針」では、ジェット浴槽のろ過器に対して、毎日1回以上の頻度で5~10 mg/L 高濃度塩素を使用した逆洗を推奨しているが<sup>4)</sup>、当該スーパー銭湯では未実施であり、このような条件下であっても通用するのか興味を持たれた。これまで(令和4~5年度)と同様の方法で電解オゾン水の消毒・洗浄効果について検討した。

## B. 方法

試験対象としたろ過器は、男女のジェット浴槽(源泉水、11 m<sup>3</sup>×2、42°C、pH7.5、図1)を併せてろ過している(図2)。先の試験と同様に、営業終了後、逆洗前のろ過器に対して、電解オゾン水を毎日供給した。試験条件を表1に、試験対象とした浴槽のろ過器(有効容量≒ろ材充填量1.8m<sup>3</sup>、直径約1.4 m×高さ約1.2 m)を図3に示す。

協力を得た当該スーパー銭湯は、試験期間中、年末年始や連休等の繁忙期を含めると、1日に1,000~2,000人の入館者数があった(表1)。ジェット浴槽は施設の中心的な浴槽であることから、ろ過器への汚濁量は日常的に非常に多いと考えられた。

オゾン供給前の汚濁状況を調べるために、オゾン供給を開始する263日前(2022年11月12日)より水質分析を開始し、この日を試験開始日とした。

試験装置はこれまでと同様、単相100Vの電源で稼働し、始動スイッチを一度押すだけで、電解オゾン水を自動供給する単純なシステムとした。電解オゾン水は、施設で使用している井水を活性炭で塩素除去した後、市販のオゾン生成電極で電気分解することにより生成した。電極は昨年度と同じ電極(オゾンバスタ

ーインダストリー、オゾンマート製)を用いたが、オゾン濃度を調節するため、電極枚数を調節した(電解槽1~2個)。オゾン供給装置設置状況および試験装置概略を図4および図5に示す。また、オゾン生成電極の外観、電解槽の外観および仕様を図6、図7および表2にそれぞれ示す。

オゾン供給装置は、始動スイッチを一度押すだけで、ろ過器下部のドレン口より電解オゾン水を供給し、タイマー制御により一定時間経過後停止する(図5)。当該スーパー銭湯は営業終了後に複数ろ過器の自動逆洗を行っており、試験対象ろ過器の逆洗を開始する前に、オゾン供給装置の始動スイッチを押すよう施設担当者へ依頼した。これにより、逆洗前のろ過器に対して、電解オゾン水を毎日供給した。井水の供給量に制限があるため流量は26L/minとした。オゾン濃度(平均値)は、消毒効果に不足を感じたことから、試験期間中に0.5、1.0、1.3および1.5 mg/Lと段階的に変更した。オゾン供給時間は、ろ過器容量分(1.8m<sup>3</sup>)を供給するため、70分間(=1800L÷26L/min)とした。陰極や電解槽内へのスケール付着が多いため、100g/Lクエン酸溶液を電解槽内に1時間浸漬させる薬品洗浄を月に1回の頻度で行った。

なお、電解オゾン水は注入後、そのほとんどがろ過器内で消費されるか、残留しても逆洗により施設外へ排水されるため、作業空間中へのオゾン漏洩は実質ゼロに近いレベルとなる。環境中のオゾン濃度を測定した結果、本試験の電解条件では、排オゾン処理は不要(0.1ppm未満)であった。

当該オゾン生成電極は、水道水の利用を想定され、目的外の成分が生成しない様に、電圧は調整できない。温泉水や海水等の電気伝

導度が高い水の場合、電解電流が過大になると安全装置が働き、電解が停止することに注意を要する。電極にオゾン生成量(電解電流)をコントロールする機能は無く、電解に供する水の電気伝導度に伴って、オゾン生成量が決定する。従って、水質および水温が一定の条件では、電解オゾン水のオゾン濃度は流量に伴って一定になる。換言すると、オゾン濃度は電極枚数と流量に依存し、オゾン供給量は供給時間に従うため、オゾン供給量の調整は、この3つのパラメータ(電極枚数、流量および供給時間)の設定により行うことになる。

電解オゾン水の効果を調べるため、週1回の頻度で、浴槽水および逆洗水を採水しレジオネラ属菌を分析した。本試験における分析項目と分析方法を表3に示す。浴槽水は、男女共通の循環系を代表して、男子浴槽から採水した。以前の試験では、ろ過器の清浄度を評価するため、汚染が最も高くなる換水前の採水としていた。しかし当該浴槽は、ろ過器が仮に清浄化されたとしても、ジェット循環配管からの汚染も懸念された。そこで、その影響も考慮に入れられるよう、本試験では換水後の採水も行った。分析サンプルの採水タイミングを表4に示す。換水は早朝行われるため、換水前後の採水は換水から約半日の時間間隔がある(表4)。

ろ過器以外の浴槽および循環配管が清浄であれば、浴槽水を用いる逆洗により、ろ過器内のレジオネラ属菌による汚染が把握しやすい。しかし、上述したように、当該浴槽の浴槽水は汚染される危険性が高く、既にろ過器内に多量の生物膜が蓄積していることが想定された。以前の試験では、ろ過器の汚染の判断材料として電解オゾン水供給前に逆洗水を採水していたが、本試験では、ろ過器から排出さ

れる汚れの程度を把握するため、電解オゾン水供給後に行われる逆洗水を採水した(オゾン有の逆洗水)。

電解オゾン水の供給を開始する前の逆洗水(オゾン無し逆洗水、263日目まで)は通常の逆洗水であり、汚れた浴槽水で逆洗を行っていた。オゾン開始後のオゾン有逆洗水は、換水の前(汚れた浴槽水を使用)、あるいは換水後(汚れていないはずの新鮮な浴槽水を使用)に逆洗を行って、逆洗水を採水した(表4)。

グラフ中に表示する都合で、レジオネラ属菌数の1 CFU/100 mLは不検出(検出限界10 CFU/100 mL未満)を示している。

現場で実際に供給している電解オゾン水の、オゾン濃度の減衰を経時的に確認した。電解オゾン水を、5本の10mLガラス瓶に空気が混入しないように採取した。所定の経過時間毎にガラス瓶1本を開封して、オゾン濃度を測定した。

### C. 結果および考察

浴槽水および逆洗水のレジオネラ属菌経日変化をオゾン濃度と週平均入館者数と共に図8および図9に示す。

オゾン供給を開始するまでの間、汚染が最も高くなる換水前浴槽水のレジオネラ属菌は、不検出の時はあるものの、10~370 CFU/100 mLの間で散発的に検出された。浴槽水の消毒はジクロロイソシアヌル酸を用いた遊離塩素消毒が濃度0.1~1.1 mg/L程度で維持されていたので、通常はレジオネラが検出されないはずだったところ、生物膜などの消毒しきれない汚れが散発的に流出していると懸念された。繰り返しになるが、この程度の遊離塩素では、汚れ(生物膜)の中のレジオネラ属菌まで消毒効果が及んでいないと考えられる。

263 日目よりオゾン濃度 0.5mg/L (平均値) でオゾン供給を開始し、465 日目に 1.0mg/L、594 日目に 1.3mg/L (いずれも平均値) と段階的に上昇させたが、換水前浴槽水に大きな改善はなく、レジオネラが検出された (図 8)。

1.3mg/L に変える前の 579 日目から換水後浴槽水の分析を開始した。換水後浴槽水のレジオネラ属菌は、電極の故障によりオゾン供給停止となる 700 日目までの間、採水回数 17 回 (1 回 / 週 × 17 週) の内、614 日目の 60CFU/100mL と 691 日目の 160CFU/100mL 以外は、検出限界の 10CFU/100mL が 5 回、不検出は 10 回であった。突発的な汚れ (生物膜) の流出はあるものの、換水後浴槽水のレジオネラ属菌は概ね抑制されていたと考えられた。換水後のレジオネラが低いのは当然なこととして、換水前のレジオネラが高かったのは、ジェット循環配管の問題が大きかったかもしれない。

装置の都合によりオゾン供給を停止した 700 日目から 727 日目までの約 1 ヶ月の間、換水前と換水後の浴槽水共にレジオネラ属菌は連続して検出され、上昇傾向となった。その後、727 日目より 1.5mg/L でオゾン供給を再開すると、換水前浴槽水は減少傾向、換水後浴槽水は 4 週間連続して不検出となった。ろ過器に対する電解オゾン水の消毒・洗浄効果を裏付ける結果となったが、その後再びレジオネラ属菌が散発して検出されており、これは、ろ過器以外の汚染源 (ジェット循環配管) の可能性の他、繁忙期 (年末年始) において入館者数が増加し、オゾン濃度を 1.5mg/L にまで増やしたものの、オゾンが不足していたことが要因であると考えられる。

逆洗水のレジオネラ属菌は、オゾン供給を開始するまでの間は不検出～190 CFU/100

mL で検出されていたが (図 9、換水前オゾン無逆洗水)、オゾン濃度 0.5mg/L と 1.0mg/L (263 日目から 594 日目) の間は、不検出～5,600 CFU/100 mL で検出され (図 9、換水前オゾン有逆洗水)、オゾン供給後は、ろ過器内の汚れ (生物膜) がより多く排出されていたと考えられる。オゾン濃度が 1.0mg/L から 1.3mg/L へ上昇するにつれ、換水前オゾン有逆洗水中のレジオネラ属菌は減少傾向となり、ろ過器内の汚れ (生物膜) が減少していることが示唆された。

オゾン供給を停止した 700 日目から 727 日目までの約 1 ヶ月の間、換水前逆洗水のレジオネラ属菌は 13,000 CFU/100 mL まで急上昇し、オゾン再開後も菌数はすぐには下げられなかった (図 9、厳密にはオゾン無しだが、ろ過循環および逆洗工程は正常であるため、換水前オゾン有逆洗水と同列に表示)。オゾン停止中にろ過器内に汚れ (生物膜) が蓄積したと考えられた。727 日目より、1.5mg/L でオゾン供給を再開後は、換水前オゾン有逆洗水のレジオネラ属菌は一時的に 10 CFU/100mL まで減少したものの、4,100 CFU/100mL まで増加して高めが続いた。繁忙期 (令和 6 年から 7 年にかけての年末年始) の入館者数増加により、ろ過器内の汚れ (生物膜) が増加したのかもしれない。579 日目より採水を開始した換水後オゾン有逆洗水も、同様の傾向であった (図 9)。これら逆洗水の経日変化は、ろ過器に対する電解オゾン水の消毒・洗浄効果を示唆すると考えられた。

浴槽水および逆洗水のレジオネラ属菌経日変化から、オゾン濃度 1.5mg/L においてもオゾン不足の可能性が示された。そこで、現場で実際に供給している、電解オゾンの減衰の程度を確認した (図 10)。当該施設の井水を用い

て生成した電解オゾン水のオゾン濃度は、60分後には約1/4にまで減少することが分かった。電解オゾン水の生成に用いる井水の供給速度の制約などから、有効容量 1.8m<sup>3</sup> のろ過器に対して電解オゾン水を 26L/min で供給しており、ろ過器容量分の供給に 70 分を要する。つまり少なくとも、ろ過器下部より供給される電解オゾン水がろ材上部に到達するまでにオゾン濃度は 1/4 以下になってしまい、加えて汚れによる消費もあり、オゾン不足が強く示唆された。本研究のオゾン消毒のスケールアップは、残念ながら不足があったと考えられた。ろ過器の大きさと逆洗速度といった要因にも配慮しての計画が必要と考えられた。

#### D. 結論

汚濁量の多い大型ろ過器(1.8m<sup>3</sup>)を対象として、電解オゾン水による消毒・洗浄のスケールアップを試みた。ろ過器に対して、有効容量分の電解オゾン水を毎日逆洗前に供給した。オゾンの不足を感じて濃度を 0.5 から 1.5mg/L まで段階的に上昇させたが、なお不足が示唆された。オゾン消毒が届かない、ジェット循環配管の付帯といった条件の悪さもあった。ろ過器容量分の電解オゾン水供給に 70 分間を要して、その間のオゾン濃度の低下が疑われた。本研究のオゾン消毒のスケールアップは残念ながら不足があり、ろ過器の大きさと逆洗速度といった要因を計算に入れることが必要と考えられた。

#### E. 参考文献

- 1) 厚生労働省:循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル、pp.25、2019年12月、(<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000124204.html>)。)
- 2) 厚生労働省:公衆浴場における衛生等管理要領等について、pp.13、2020年12月、(<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000124204.html>)。)
- 3) 厚生労働省:循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル、pp.22-23、2019年12月、(<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000124204.html>)。)
- 4) (公財)日本建築衛生管理教育センター:レジオネラ症防止指針(第5版)、pp.125、2024年9月。
- 5) 藤田賢二 監修:水道工学、pp.273、技報堂出版(株)、2006年10月。
- 6) 高知県、オゾン殺菌方式による浴室等の衛生及び安全に関する管理要領 (<https://www.pref.kochi.lg.jp/soshiki/131901/h24-ozonikenkoubo-kekka.html>、2022/3/24時点、2023/2/13リンク切れ)。
- 7) (特非)日本オゾン協会:オゾンハンドブック(改訂版)、pp.151-158、2016年10月。
- 8) Foller, P. C. and Tobias, C. W.: The anodic evolution of ozone, *Journal of The Electrochemical Society*, Vol. 129, No.3, pp.506-515, 1982.
- 9) Staehelin, J. and Hoigne, J.: Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions, *Environmental Science & Technology*, 19, pp.1206-1213, 1985.
- 10) 宮崎朋美、安田奏平、中川健斗、高鳥浩介、釜瀬幸広、黒松久、櫻井美栄、白井淳資:オゾン水の殺糸状真菌(カビ)効果におけるpHの影響、家畜衛生学雑誌、

44、pp.1-7、2018年。

- 11) 金子光美 著：水の消毒(初版)、pp.172-175、(財)日本環境整備教育センター、1997年8月。
- 12) (公社)日本産業衛生学会：許容濃度等の勧告(2022年度)、産業衛生学雑誌、p.p.255、Vol.64、No.5、2022年。

#### F. 研究発表

紙上発表

なし

口頭発表

1. 小森正人,金井博哉,齋藤利明, 泉山信司,田栗利紹, 電解オゾン水を用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒試験, 日本オゾン協会 第33回年次研究講演会, 2024年。

#### G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし



図1 試験浴槽

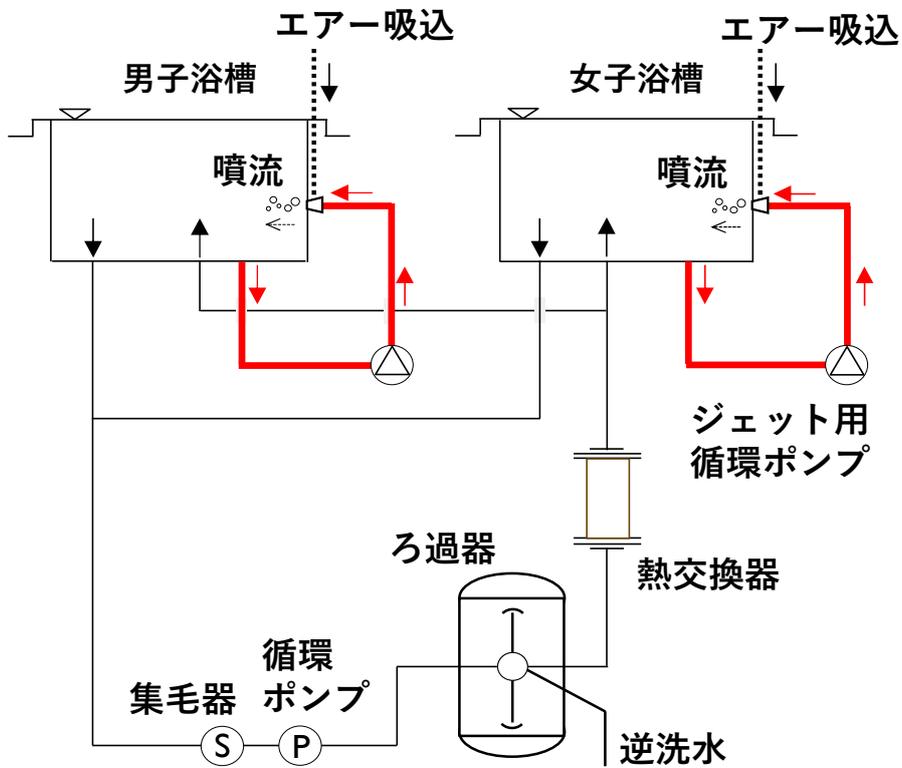


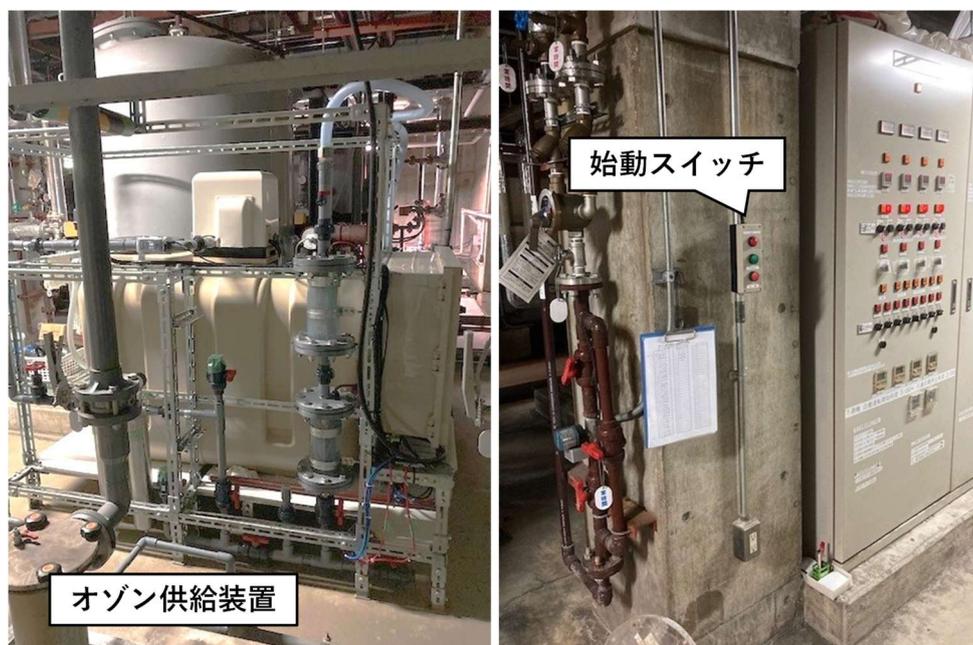
図2 試験浴槽循環系統図

表1 試験条件

オゾン 生成方式	濃度	流量	供給時間 min	供給量		頻度 回/日	試験施設
	mg-O <sub>3</sub> /L	L/min		L/回	g-O <sub>3</sub> /回		
水電解 (井水)	0.5,1.0, 1.3,1.5	26	70	1800	0.9,1.8 2.4,2.7	1 (逆洗前)	スーパー銭湯 入館者数：1000～2000人/日 浴槽：ジェット風呂（男女）11m <sup>3</sup> ×2 源泉水（42℃、pH7.5）



図3 試験ろ過器



オゾン供給装置

始動スイッチ

図4 オゾン供給装置設置状況

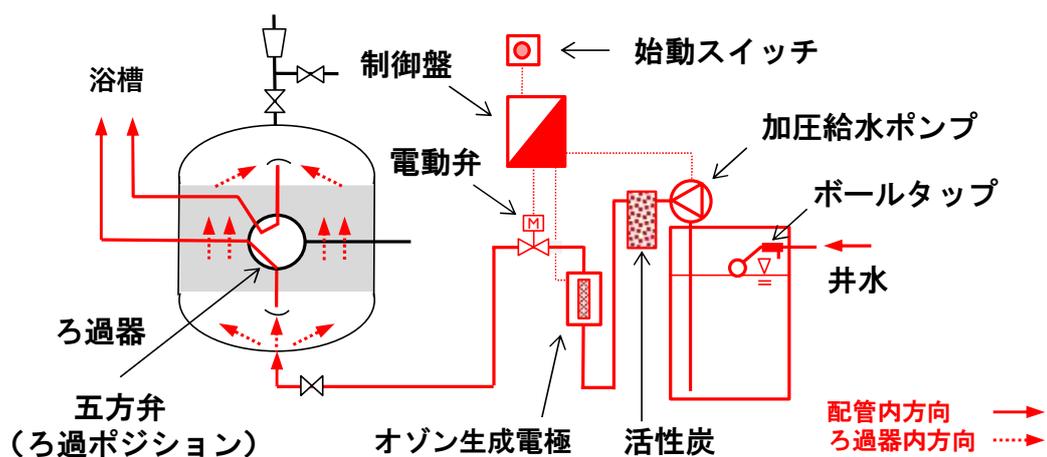


図5 試験装置概略

実線矢印および破線矢印は、それぞれ洗浄中の配管内オゾン水通水方向およびろ過器内オゾン水通水方向を示している。



図6 オゾン生成電極



図7 電解槽

表 2 オゾン生成電極仕様(電解槽 1 個あたり)

	寸法	枚数	定格電力	使用数
	cm	枚	W	個
オゾン生成陽極	5 W × 20 L × 0.1 t	8	480 (AC100V)	1~2
陰極		9		

表 3 分析項目および分析方法

項目	単位	測定方法
レジオネラ属菌	CFU/100mL	通常の培養法(公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査)
水中オゾン濃度	mg/L	デジタル比色計 O3-3F、笠原理化工業(株)
気相中オゾン濃度	ppm	オゾンチェッカー OC-300、(有)オゾンテクニカ オゾンガスモニタ OZG-EM-010K、(株)アプリクス

表 4 分析サンプル採水タイミング

曜日	月・火	水		木			金	土	日	
時刻	0時	0時	17時	0時	2時~5時	17時	0時	0時	0時	2時~5時
オゾン供給	○	○		○			○	○	○	
換水					○					○
浴槽水採水			○ 換水前			○ 換水後				
逆洗水採水 (オゾン有)				○ 換水前			○ 換水後			
逆洗水採水 (オゾン無)									○ 換水前	

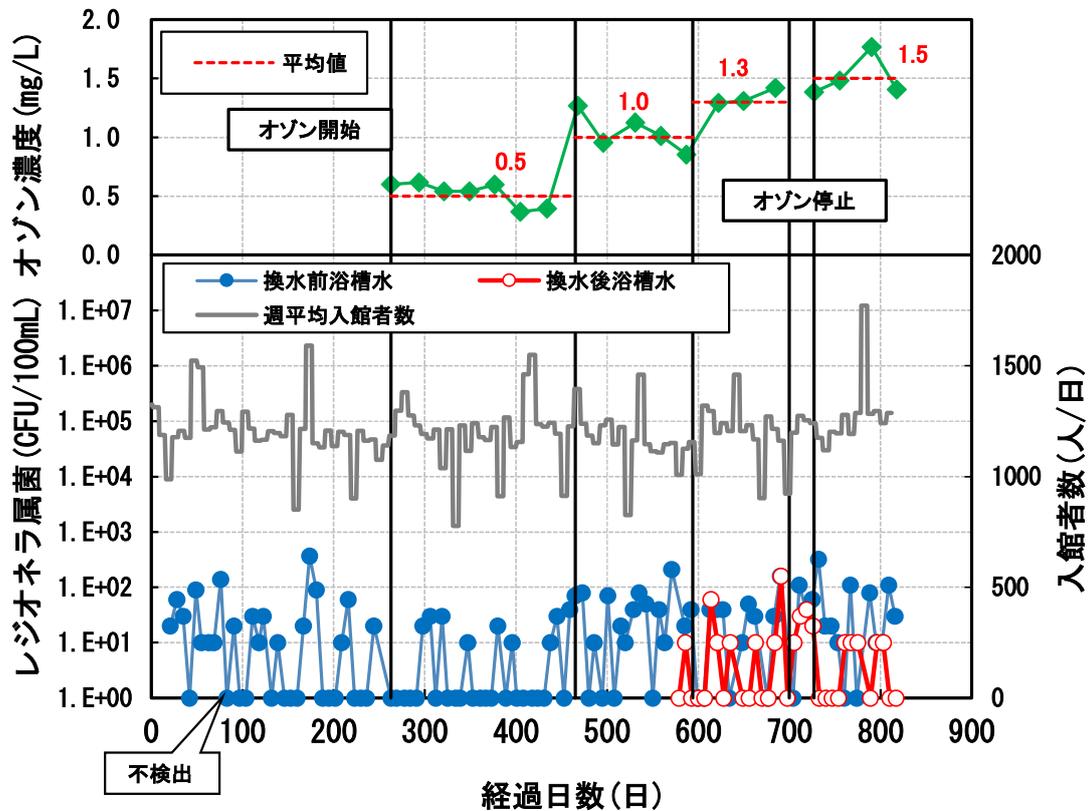


図8 オゾン濃度、週平均入館者数および浴槽水レジオネラ属菌経日変化

レジオネラ属菌の1CFU/100mLは不検出(検出限界10CFU/100mL)を示している。浴槽水は代表して男子浴槽から採水し、オゾン供給は図の263日目より開始した。オゾン電極の枚数を調節することにより、465日目に0.5mg/Lから1.0mg/Lへ、594日目に1.0mg/Lから1.3mg/Lへとオゾン濃度(平均値)を段階的に上昇させた。700日目から727日目までの約1ヶ月間は電極の故障によりオゾン供給を停止したが、727日目からは電極槽を更新しオゾン濃度1.5mg/Lで再開した。

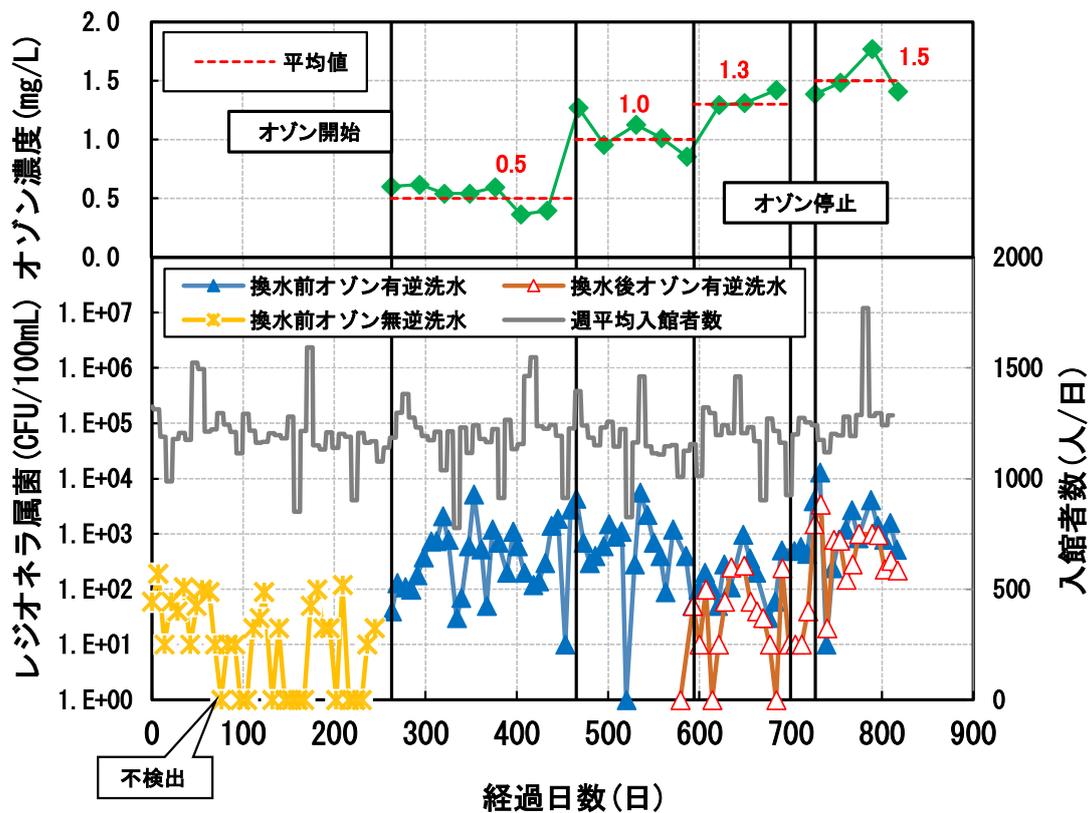


図9 オゾン濃度、週平均入館者数および逆洗水レジオネラ属菌経日変化

図の内容と軸などはおよそ図8同様だが、浴槽水ではなく、逆洗水のレジオネラ属菌濃度を表示している。700日目から727日目までの約1ヶ月間は電極の故障によりオゾン供給を停止したが、その間のオゾン有逆洗水のプロットは、オゾンがなくても便宜的に同様の採水測定の結果を表示している。

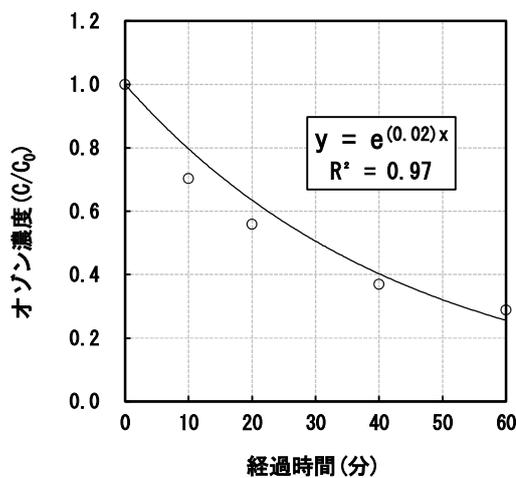


図10 電解オゾン水濃度経時変化

薬湯の循環ろ過器をオゾンで逆洗浄する試み

研究分担者： 田栗 利紹 長崎県環境保健研究センター  
研究協力者： 井上 浩章 アクアス株式会社  
研究協力者： 木村 哲也 株式会社ヤマト  
研究協力者： 小森 正人 株式会社ヤマト  
研究協力者： 小田 康雅 シスメックス株式会社  
研究協力者： 下田 貴宗 株式会社シモダアメニティサービス  
研究協力者： 蔡 国喜 長崎県環境保健研究センター

研究要旨

オゾンは遊離塩素消毒より強い殺菌効果があるが、気相のオゾンは毒性があって管理が容易ではないのでこれを避けて、気相にオゾンが漏れにくい、水の電気分解による電解オゾン水をろ過器消毒に応用することを試みた。浴槽水からはレジオネラ属菌が検出されないが、ろ過器排水からは検出される潜在的な汚染のある循環式浴槽のろ過器に対して、逆洗浄時に電解オゾン水を注入した。このろ過器は、薬湯を遊離塩素消毒する循環式浴槽に付随するもので、日常のろ過器の逆洗浄や定期的な化学的洗浄が徹底されてはいたが、レジオネラ属菌問題が生じやすい状況にあった。当初はろ過器に電解オゾン水を注入しても、逆洗浄水から微量ながらレジオネラ属菌の消長が繰り返された。ろ過器内水の排水後に電解オゾン水を注入しても、改善されなかった。消毒の開始から8か月経過後にろ材交換したところ、廃ろ材からレジオネラ属菌とその遺伝子は何も検出されず、電解オゾン水の効果があったと考えられた。しかしながら、電解オゾン水供給後も微量のレジオネラ属菌が検出されていたため、精査したところ、その原因は越流水の排水溝上蓋の高度のレジオネラ属菌汚染であった（詳細は令和5年度総括分担報告書に記載）。今回、汚染源を排除した前後で各種指標を比較したところ、ATP量、フローサイトメトリーによる細菌数および従属栄養細菌数の平均値に差はなかったが、レジオネラ属菌の培養検査（平板培養法とレジオラート）、レジオネラ属菌生菌遺伝子、レジオネラ属菌全遺伝子（以上  $P<0.01$ ）および残留塩素濃度に差が認められた（ $P<0.05$ ）。対処後の清浄な状態はその後約1年間継続しており、雑菌の汚染が若干あっても、レジオネラ属菌は抑制できていた。ろ材の清浄化とその維持は電解オゾン水によるものと考えられた。

A. 研究目的

入浴施設の衛生上の問題の一つに、レジオネラ属菌があり、これを保護して消毒等から回避させる生物膜への対策が重要となる<sup>1)</sup>。生物膜の発生が強く懸念される循環式浴槽の

ろ過器では、汚れや生物膜の除去に、通常のろ過とは逆方向に水を送る、逆洗浄作業が行われる<sup>2)</sup>。これまで逆洗浄時に、強い酸化力が期待できる電解オゾン水を注入することで、生物膜を剥離し強く消毒する方法の有効性を報

告してきた<sup>3)</sup>。本研究ではさらなる事例の追加になる試験を実施した。

適用した循環系統は、過去のフローサイトメトリー法による調査で継続的に高い細菌数が確認されており、薬湯系統の回収槽水や逆洗水の消毒効果が十分でないと思われた<sup>4)</sup>。よって、当該系統には塩素より強い殺菌力が期待できる電解オゾン水を適用して消毒を強化することとした。

今回はレジオネラ属菌対策に苦慮している薬湯への、約2年間にわたる長期の試験を実施したので報告する。調査に非培養の検査法を活用し<sup>4)</sup>、レジオネラ属菌の増減を追うだけでなく生物膜と密に関係すると思われる細菌数やATPといった汚染指標と並行して比較検証することで電解オゾン水の抗レジオネラ属菌作用をこれまでと異なる視点で考察した。

## B. 材料と方法

### 1. 施設の衛生管理の状況と調査の推移

1日の入浴者数が千人規模の営業施設の協力を得て試験を実施した。施設では、温泉（塩化物泉）と井水を利用しており、次亜塩素酸ナトリウムにより消毒されていた。温泉には除鉄・除マンガン処理もなされていた。それぞれの循環系統に回収槽があり、週1回の清掃・消毒が行われていた。生物膜対策として、週1回の頻度で20 mg/L×1時間の高濃度塩素による洗浄と、年3回の配管の化学的洗浄が行われていた。なお、当該浴槽水は毎日換水されている。

今回、電解オゾン水発生装置を設置したのは薬湯で、井水に入浴剤や生薬などを入れていた。そのろ過器は単独の循環系統でその大きさは約100 L、浴槽水の水量は約3 m<sup>3</sup>であった。試験前の消毒は、次亜塩素酸ナトリウムにより残留塩素濃度1.0~2.0 mg/Lと高めに管理されていたが、回収槽の存在や薬湯の影響により、ろ過器内の強い汚染が懸念された。

また、電解オゾン水は反応性が高い分だけ不安定で水温の高い浴槽水では長時間には維

持されないこと、浴槽水中の電解オゾン水濃度を維持するには水の電気分解では不足で空気中の放電が必要になること、気相のオゾンガスは毒性が高く安全の確保が困難であること、気相のオゾンガスを水に溶解させる効率が低く廃オゾン処理が必要になり複雑さが相当に増すこと、電解オゾン水と塩素消毒は打ち消し合って共存できないこと、等があり、本研究ではろ過器の消毒に限って電解オゾン水を使用した。

ろ過器を電解オゾン水で逆洗浄する処理の概要は、以下の通りである。まず、電気分解によりオゾンが発生させる装置を使用した<sup>3)</sup>。簡単に記載すると、毎日のろ過器逆洗前に、ろ過槽の有効容量分（ろ材充填量）以上の電解オゾン水を自動注入する単純なシステムである。オゾン生成電極外観、電気分解時の状況およびオゾン生成電極は既報のとおりである<sup>4)</sup>。

本報告では、機器を設置する1ヶ月前の2022年9月24日から、2024年9月29日の2年間に実施した結果を記載する。10月に装置を施設に設置し、11月8日から電解オゾン水注入（流量10 L/min、電解オゾン水約1.2~1.8 ppm、注入時間20分（200 L））を開始した。月~土曜日の営業終了後、ろ過器の逆洗浄時に、毎日電解オゾン水注入を実施し、毎週日曜日に高濃度塩素洗浄を行い、電解オゾン水処理をしないため、採水は、土曜日夜の逆洗浄時に行った。浴槽水は逆洗浄後に毎日換水されており、採水時は営業終了後の有機物等が最も蓄積した状態と推定されるため電解オゾン水の効果が最も期待される。

電解オゾン水処理の開始後3ヶ月経過すると、排水からレジオネラ属菌が検出されて効果が認められにくくなった。そこで電解オゾン水の消毒効果がより強く発揮されることを期待して、ろ過槽内水を一旦排水した後から電解オゾン水を注入する方式に変更した（以降排水オゾン処理という）。排水オゾン処理は2023年2月17日以降、日曜日以外毎日行うようにした。なお、電解オゾン水注入開始から

オゾン効果が十分に期待できる排水オゾン処理までの期間を試運転期間とした。

その後も微量のレジオネラ属菌が検出される傾向は変わらなかったために、電解オゾン水処理開始後 8 か月後（2023 年 6 月 22 日）にろ材を交換した。それでもレジオネラ属菌が検出され、レジオネラ属菌汚染源を究明して改善に至った経緯は既に報告したとおりである<sup>5)</sup>。即ち、電解オゾン水開始から約 10 ヶ月後（2023 年 8 月 5 日）にレジオネラ汚染源が循環排水溝上蓋にあることを発見し、当該部の消毒洗浄処理を開始し、2024 年 9 月 29 日まで続けた。

逆洗浄水の採水は、調査全般にわたって月 1 ～2 回の頻度で実施したが、浴槽水の安全性を確認するために、2023 年 11 月～2024 年 5 月の間は逆洗浄水と同時に浴槽水を調査した。

詳細な採水の操作は、次のとおり実施した。即ち、逆洗浄前に予め検水の遊離塩素濃度を測定し、ろ過器内水を排水した。電解オゾン水発生装置を稼働させたら、半自動的に逆洗浄を開始して、逆洗浄中の電解オゾン水濃度を測定した。20 分間の電解オゾン水処理後に、逆洗浄水を採水した。浴槽水を詳細に検査する場合、当日 19:00 の遊離塩素濃度測定と同時に検水を採取した。採水した検水は冷蔵で実験室に運び入れ、非培養検査（ATP 法、FCM 法と生菌遺伝子検査）と培養検査（平板培養法とレジオラート）を実施した。これらの検査は 48 時間以内に行ったが、レジオネラ全遺伝子の検査については検水の 100 倍濃縮物を冷凍保管しておき、概ね 1 か月以内に纏めて実施した。調査の途上で交換したろ材を用いてレジオネラ属菌の検査を実施した。300 g のろ材に 300 mL の滅菌蒸留水を加えてよく混釈した上清を 100 倍濃縮して各種検査に供試した。

## 2. 調査で用いた検査法

### 2.1. 遊離塩素濃度と電解オゾン水濃度の測定

検水の遊離塩素濃度は DPD (*N,N*-diethyl-*p*-phenylenediamine, Hach) 法を用いて測定し

た。オゾン濃度はデジタル比色計 (O3-3F, 笠原理化工業) により計測した。

### 2.2. ATP 法

ルミテスター PD-30 (キッコーマンバイオケミファ) と ATP ふき取り検査システム (ルシパック A3 Water (液体測定用), キッコーマンバイオケミファ) を用いて、添付の取扱説明書<sup>6)</sup>に従って処理した。

### 2.3. FCM 法

フローサイトメーター (RF-500, Sysmex 社製) を使用し、田栗らの方法<sup>7)</sup>に準拠して設定した測定領域 (Gate) を用いて、各種浴用水に含まれる雑菌の量を測定した。Gate 内の菌数が暫定的な基準値 (200 cells/mL, 以降基準値という) 未満であった場合は「消毒効果有り」と判定し、基準値以上の場合は「消毒効果不十分」と判定した。

### 2.4. レジオネラ属菌遺伝子検査法

レジオネラ属菌遺伝子検査は磯部ら<sup>8)</sup>の方法に準拠した。逆洗浄水を対象とし、浴槽水からの濃縮および DNA 抽出法と同様に処理した。レジオネラ属菌全遺伝子を定量する qPCR 法は、Lysis Buffer for *Legionella* (タカラバイオ) および Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit (タカラバイオ) を用いた<sup>9)</sup>。レジオネラ属菌生菌遺伝子を検出する EMA-qPCR 法は、DNA 抽出の前に、Viable *Legionella* Selection Kit for PCR Ver. 2.0 (タカラバイオ) および LED Crosslinker 12 (タカラバイオ) を用いて、EMA 処理を実施した。得られた遺伝子コピー数を CFU 相当に換算した。EMA-qPCR と qPCR の CFU 換算値をそれぞれ生菌遺伝子量 (CFU-equivalent unit: CFU-eU/100mL) と全遺伝子量 (CFU-eU/100mL) とした。本検査法の検出限界は 1 CFU-eU/100mL である。

### 2.5. レジオネラ属菌の培養法

レジオネラ属菌の培養検査は森本らの方法<sup>10)</sup>でろ過濃縮法により行った。培地は GVPC $\alpha$  培地 (ビオメリュー) を使用し、100 倍濃縮

した検水を、酸処理か熱処理の後、塗抹して36°Cで3～7日間培養した。システイン要求性の湿潤集落をレジオネラ属菌として計数した。レジオラート(アイデックス)は淀谷らの報告<sup>11)</sup>に準拠して、10 mLの検水に適量の前処理剤(アイデックス)を加えて10分間反応、水酸化カリウムにより反応停止後に、37°Cで7日間培養した。

## 2.6. 従属栄養細菌数

2023年2月以降、従属栄養細菌数の検査を追加した。これは電解オゾン水による消毒が認められるようになってから細菌汚染とレジオネラ汚染の相関が認められなくなったため、細菌汚染検証の必要が生じた。方法はR2A寒天培地(塗抹法)を用いて30°Cで7日間培養した。

## 2.7. 統計処理

ろ過器外のレジオネラ属菌の汚染源の発見前後で集計した2つのグループを比較するために、スチューデントのt検定を使用した。差は、有意水準0.05および0.01の両側検定で確保した。値は、汚染源発見前が31回、発見後が16回の独立した調査の平均±SDで示した。各検査法において不検出の場合は値を0として統計処理に供した。

## C. 結果および考察

電気分解式の電解オゾン水生成装置(ヤマト)を、入浴施設の薬湯に適用した。装置設置前を含む、約2年間、薬湯の逆洗浄水を採水して、各種試験を実施した。

逆洗浄水への電解オゾン水注入後1ヶ月間のレジオネラ属菌は、処理前と比べて抑制される傾向を示したが、2ヶ月ほどたつと効きづらくなった(図1)。

2023年2月17日以降排水オゾン処理により電解オゾン水処理を強化したところ、一定の抑制は認められたが、低濃度とは言え散発的にレジオネラ属菌の生菌が検出され、一過性に高い濃度のレジオネラ属菌遺伝子が検出された。その後も、微量とはいえ逆洗浄水か

ら、レジオネラ属菌の検出が続いた。ろ過器のろ材は長期に使用して交換されていなかったことから、2023年6月にろ材を交換し、廃ろ材を検体としてレジオネラ属菌を検査したところ、廃ろ材からはレジオネラ属菌の生菌も遺伝子も全く検出されなかったため、ろ材がレジオネラ属菌の汚染源であるとは考えにくかった。これら循環ろ過系統以外のレジオネラ属菌汚染源の発見と対応の詳細については既報のとおり、レジオネラ属菌汚染源が循環排水溝上蓋にあることを発見し、当該部の消毒洗浄処理を開始してからはレジオネラ属菌は検出されなくなった<sup>5)</sup>。

レジオネラ汚染源発見前の5か月間と発見後の1年2ヶ月間について、各種測定値の平均値を比較した(表1)。このとき、レジオネラ属菌の培養検査で不検出の値は欠損値とせず0として計算した。ATP法、FCM法による細菌数はあまり変化が認められなかった。細菌数が高かったために検査を追加した従属栄養細菌数でも倍半分以上の差にはならなかった。

レジオネラ属菌の平板培養法では、電解オゾン水供給前の7.50±10.35 CFU/100mLから、電解オゾン水供給後に10.50±12.12 CFU/100mLと少し上昇し、排水オゾン処理を始めると5.00±5.77 CFU/100mLと減少したが、レジオネラ属菌汚染源の改善後は不検出となった。レジオラートも類似の傾向を示した。レジオネラ属菌遺伝子検査の生菌遺伝子も、汚染源を発見後に減少した。レジオネラ属菌全遺伝子も類似の傾向を示して、汚染の発見後に減少した。

なお、採水時の遊離塩素濃度と、電解オゾン水濃度は、レジオネラ属菌汚染源の発見前後で大きな変動はなかった。強いて、遊離塩素濃度は減少しているが、レジオネラ属菌の汚染が解消して強い消毒の必要がなくなったことが理由と考えられた。

なお、2023年11月～2024年5月の間に検査した浴槽水からは、レジオネラ属菌の培養

検査（平板培養法とレジオラート）と遺伝子検査（レジオネラ属菌生菌遺伝子および全遺伝子）において、逆洗浄水と同様に培養検査では何も検出されず、遺伝子検査でもほとんど検出されなかった（生菌遺伝子:  $1.51 \pm 1.08$  CFU-eU/100mL, 全遺伝子:  $3.19 \pm 2.85$  CFU-eU/100mL, N=16）。

以上のように、電解オゾン水供給の有無や排水オゾン処理による若干の変動は認められたものの、すべての指標で大きな差は認められなかった。レジオネラ属菌汚染源の改善前と改善後の平均値を比較すると、ATP 量、細菌数および従属栄養細菌数では差が認められなかったが、レジオネラ属菌の培養検査（平板培養法とレジオラート）、レジオネラ属菌の生菌遺伝子、同全遺伝子および残留塩素濃度で差が認められた（両側 t 検定、SPSS ver.25.0）。

レジオネラ属菌汚染源の問題が解消後は、レジオネラ属菌の検出がほとんどなく、この状況は約 1 年間継続することができた。細菌汚染は持続しているにもかかわらず、レジオネラ属菌を抑制できていることになり、これはろ過器を対策できていることが背景にあると考えられた（図 1）。排水オゾン処理中にはろ材を交換したが、その時に検査した使用済ろ材からはレジオネラ生菌および遺伝子は検出されなかった。電解オゾン水のろ過器逆洗浄による清浄化作用はこれまでの報告<sup>3)</sup>でも認められており、電解オゾン水の消毒効果は期待通りに得られていたと考えられた。一方で、電解オゾン水供給後も微量のレジオネラ属菌汚染が続いたのは、ろ過器とは別の汚染源が理由であり、ろ過器の外にあった汚染源に電解オゾン水が通用しなかったのは当然であった。

過去の電解オゾン水逆洗浄処理では、ATP 量、一般細菌数および FCM による細菌数が減少していた<sup>3,4)</sup>。しかしながら、今回はほとんど変化が認められなかった（表 1）。施設衛生管理者によると、レジオネラ属菌汚染源であった排水溝上蓋の ATP 量は、改善後の 8 月 5

日以降もゼロになることはなく、時に  $10^3 \sim 10^4$  RLU を示したとのこと（データ不掲載）。すなわち、逆洗浄水から検出された細菌は、排除しきれない生物膜由来と考えられた。浴場にとって生物膜の生成は避けられず、常時の消毒と定期的な洗浄が重要であることはまちがいない。今回の調査により、衛生管理者には設備の監視と洗浄消毒を継続して行うことの必要性を理解してもらうことができた。

このような細菌数の高さから生物膜再発が懸念されたが、ろ過器の逆洗浄水からレジオネラ属菌は検出されず、電解オゾン水消毒は機能していたと考えられた（図 1）。なお、レジオネラ属菌汚染源改善前の、2023 年 11 月～2024 年 5 月の浴槽水からもレジオネラ属菌の生菌は検出されず、遊離塩素消毒の効果もあったと考えられた。

#### D. まとめ

薬湯の循環ろ過器にオゾン逆洗浄を行った。当初、レジオネラ属菌の検出がわずかに続いたが、それはろ過器の問題ではなく、排水溝にレジオネラ属菌の汚染源によるものだった。汚染源の対策により、その後はレジオネラ不検出の状態を長期に維持できた。ろ過器内部のろ材が清浄化されて、オゾン逆洗浄の消毒効果が確認できた。一方で、回収経路の見落としで少量とはいえ長期にレジオネラ検出が続き、回収経路の管理は容易ではないと考えられた。回収経路を含め、浴槽全体の生物膜管理の重要性を改めて認識した。

#### E. 参考文献

1. 厚生労働省:循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル, p5, 2019 年 12 月, <https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/01401965.pdf>
2. 厚生労働省:公衆浴場における衛生等管理要領等について, p13, 2024 年 12 月, <https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/01375914.pdf>

3. 泉山信司ら, オゾンを用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒・洗浄試験, 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」令和 3 年度総括研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 33-51, 2021.
4. 田栗利紹ら, フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究, 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)「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和 4 年度総合研究報告書, 研究代表者: 泉山信司, 77-89, 2022.
5. 田栗利紹ら, フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究, 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)「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和 5 年度総合研究報告書, 研究代表者: 泉山信司, 102-115, 2023.
6. キッコマンバイオケミファ, ルシパック A3 Water (液体測定用) 取扱説明書, <https://biochemifa.kikkoman.co.jp/download/?id=11410>.
7. Taguri, T, *et.al.*, Bacterial counts by flow cytometry can determine presence/absence of *Legionella* in bath water. In the 10th International Conference on *Legionella* 2022, P-53, 2022.
8. 磯部順子ら, レジオネラ属菌迅速検査法の評価, 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」平成 30 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 13-22, 2018.
9. タカラバイオ, Cycleave PCR™ Legionella (16S rRNA) Detection Kit 取扱説明書, [https://catalog.takara-bio.co.jp/PDFS/cy240\\_cy240s\\_j.pdf](https://catalog.takara-bio.co.jp/PDFS/cy240_cy240s_j.pdf)
10. 森本 洋ら, レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み-: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 24 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 倉 文明, 93-130, 2012.
11. 淀谷雄亮ら, 新規酵素基質培地キットであるレジオラート/QT 法の有効性の検討-: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」令和 3 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 87-92, 2021.

## F. 研究発表

紙上発表

なし

学会発表

小森正人、金井博哉、齋藤利明、泉山信司、田栗利紹、電解オゾン水を用いた温浴施設循環式ろ過器の消毒試験、日本オゾン協会第 33 回年次研究講演会、2024 年 6 月、京都府京都市

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

オゾン供給前

オゾン不足(試運転)

ろ過器内排水後オゾン水供給

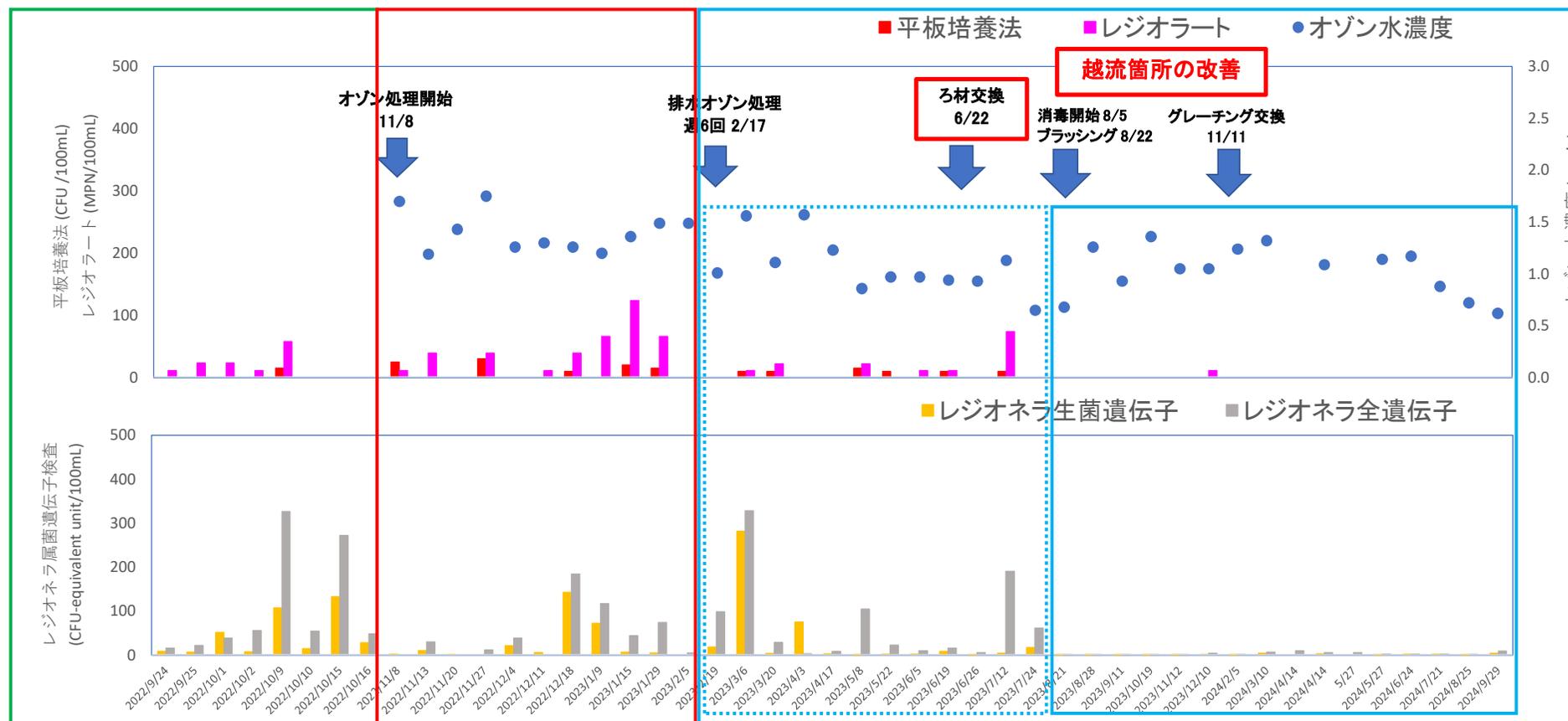


図1 ろ過器のオゾン処理によるレジオネラ属菌解析結果

緑枠: オゾン供給前 2022年9月24日~10月16日, 赤枠: オゾン不足 2022年11月8日~2023年2月5日

青枠: ろ過器内排水後のオゾン供給 2023年2月17日~2024年9月29日(レジオネラ汚染源の特定 2023年8月5日)

青枠内部は、レジオネラ汚染源発見する前(破線)と発見後対応して以降(実線)、電解オゾン水処理によっても微量ながらレジオネラ汚染を認めたためろ材交換、循環系排水溝からの越流箇所の改善(消毒、ブラッシング、グレーチング交換)を行った。

検出限界: 平板培養法 (10 CFU/100mL), レジオラート(10 MPN/100mL), レジオネラ属菌遺伝子検査 (1 CFU-equivalent unit/100 mL)

表1 オゾン運転状況による逆洗浄水内の各種検査指標の比較

採水時の運転状況	ATP (RLU <sup>1)</sup> )	Flow cytometry <sup>1</sup> (cells/mL)	レジオネラ属菌検査		レジオネラ属菌遺伝子検査		従属栄養細菌数 (R2A法) (CFU/mL)	遊離塩素濃度 (mg/L)	
			平板培養法 (CFU <sup>2</sup> /100mL)	レジオラート (MPN <sup>3</sup> /100mL)	EMA-qPCR (CFU-eU <sup>4</sup> /100 mL)	qPCR (CFU-eU/100 mL)			
ろ過器外の汚染発見前 (n=31)	オゾン供給前 (n=8)	58.19±51.06	55,640±98,944	7.50±10.35	15.75±19.56	41.89±51.44	104.02±122.07	NT <sup>5)</sup>	1.51±0.66
	オゾン供給初期 (n=10)	63.10±26.74	67,409±103,704	10.50±12.12	39.50±38.43	26.46±46.10	50.21±59.96	NT	1.93±0.16
	ろ過器内排水後 オゾン供給(n=13)	48.08±28.27	22,574±38,972	5.00±5.77	11.62±20.52	31.88±77.77	67.7±95.97	3,386±6,070	1.83±0.30
	小計	55.53±34.46	45,570±80,829	7.67±9.39*	22.40±29.32*	34.46±60.58*	73.65±93.16*	3,386±6,070	1.79±0.42 <sup>#</sup>
ろ過器外の汚染発見後 (n=16)	88.89±61.86	33,252±46,422	0 <sup>6)</sup> *	0.69±2.75*	1.51±1.08*	3.19±2.85*	6,449±14,250	1.10±0.76 <sup>#</sup>	

<sup>1)</sup> Relative Lights Unit, <sup>2)</sup> Colony Forming Unit, <sup>3)</sup> Most Provable Number, <sup>4)</sup> CFU-equivalent Unit, <sup>5)</sup> Not Tested, <sup>6)</sup> All samples were below the detection limit. !: The RF-500 Flow Cytometer (Sysmex.co.) was used in this study. *t*-test: \*, *P*<0.01, #; *P*<0.05, The values below the detection limit were calculated as 0 in the *t*-test.

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）

令和6年度 分担研究報告書

公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

研究代表者： 泉山信司 国立感染症研究所

フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究

研究分担者： 田栗 利紹 長崎県環境保健研究センター  
研究分担者： 前川 純子 国立感染症研究所 細菌第1部  
研究分担者： 中西 典子 神戸市健康科学研究所  
研究協力者： 平塚 貴大 広島県立総合技術研究所保健環境センター  
研究協力者： 井上 浩章 アクアス株式会社  
研究協力者： 縣 邦雄 アクアス株式会社  
研究協力者： 新道 欣也 株式会社お風呂のシンダー  
研究協力者： 鳥井 良太 株式会社お風呂のシンダー  
研究協力者： 木村 哲也 株式会社ヤマト  
研究協力者： 小森 正人 株式会社ヤマト  
研究協力者： 山本 哲司 花王株式会社  
研究協力者： 細川 賢人 花王株式会社  
研究協力者： 小田 康雅 シスメックス株式会社  
研究協力者： 下田 貴宗 株式会社シモダアメニティサービス  
研究協力者： 蔡 国喜 長崎県環境保健研究センター

研究要旨

入浴施設におけるレジオネラ属菌の問題には、アメーバや生物膜による消毒からの回避など制御の難しさに加えて、施設の営業規模や泉質の違いなど、衛生状態が多様である等の課題がある。従来は培養時間と専門性を要する平板培養法によるレジオネラ属菌検査がなされてきたが、多様な施設や衛生状況をあまり考慮できていなかったかもしれない。本研究は、従来とは異なる視点で培養検査法を補完できる、ATP法、フローサイトメトリー (FCM) 法、レジオネラ属菌生菌遺伝子および全遺伝子検査法などの非培養検査法に着目し、現場の状況を効率的に把握して衛生管理に反映させることを目的に検証を行った。具体的には4ヶ所で現地調査を実施し、迅速検査法の結果をもって、施設衛生管理者との対話を試みた。最初の2つの入浴施設調査では、高温の温泉を利用する掛け流し式で、外冷気の影響を受けやすい冬季と保温しやすい夏季で調査を行った結果、貯湯槽の高温保持、適切な洗浄と配管洗浄が重要であることが確認された。残りの2つの施設は、省力化配管洗浄剤を適用した事例で、迅速検査法による洗浄汚濁物可視化により、施設営業者は配管洗浄の重要性を認識できた。これらの事例では、洗浄時の検体からFCM法により細菌を確認し、顕微鏡により配管から剥離したと思われる生物膜様物質を観察した。

これらに加えて、令和5年度から取り組んできたモノクロラミン消毒装置の設置施設において、消毒対象を拡大して、最終的に4系統の循環ろ過式浴槽を一括管理することにより全ての浴槽でレジオネラ属菌が不検出の状態を長期にわたり維持することができた。

保健所や民間事業者等と連携したこれらの実践は、多様な施設や衛生状態に関わらず、入浴施設のレジオネラ問題を軽減できるものと期待された。

## A. 研究目的

レジオネラ属菌は、レジオネラ症およびポンティアック熱の原因となる細菌であり、公衆衛生上懸念される水媒介病原体である。レジオネラ属菌は、生活環境中では人工水中に遍在しており、原生動物や微生物群により形成される生物膜の中で消毒から保護されることが知られている<sup>1)</sup>。消毒の難しさに加えて、泉質による消毒効果の違いや、営業規模や設備による管理の違いもあり、施設の衛生状態は様々である。こうしたことが現場におけるレジオネラ属菌の制御を複雑化させており、入浴施設のレジオネラ属菌対策や衛生管理を難しくしている。

レジオネラ属菌の検査は培養法が標準検査とされているが、7～10日間を必要とする専門性の高い検査であるために、現場の日常的な指標として衛生管理に反映させるにはかなりの努力を要する。我々は、これまでに現場への迅速な適用を目指して、ATP法、フローサイトメトリー（FCM）法および遺伝子検査法の非培養検査法を用いて、浴槽水のレジオネラ属菌汚染に関する衛生状態を迅速に評価する方法を検討してきた。それぞれの方法の有用性は認められてきたものの、これら検査法の現場への実装は簡単ではない。迅速な非培養検査法の利点を生かしての、現場の衛生管理への反映を実証する必要がある。

ATPは、あらゆる生物がエネルギー源として保持する物質で、細菌などの微生物をはじめ、肉・野菜などの食べ物、ヒトの体液といった、多くの物に含まれている。食品製造や医療の現場では、ATP量が微生物汚染の指標として活用されている<sup>2)</sup>。入浴施設でも衛生管理に応用されて、いわゆる白湯において有効性が高いことが知られている<sup>3)</sup>。

FCM法は、さまざまな分野で各種細胞の性状解析等に利用される方法で、浴槽水中の浮

遊細菌をフローサイトメーターで測定することで、レジオネラ属菌汚染リスク汚染の指標となりうることが示されてきた<sup>4)</sup>。予め核酸染色した浴槽水試料をフローサイトメーターにセットすると、サンプルが微細な流路に取り込まれ、個々の細胞が一行となって照射レーザーを通過する。このときに得られる散乱光と蛍光がそれぞれ細菌の大きさと細菌由来の核酸に対応しており、細菌数を迅速に計測することができる。さらに、遊離塩素消毒下で破壊された細菌は蛍光強度が変化して生細胞と区別されるために、消毒状態を速やかに判定することができ、その結果がレジオネラ汚染の存否と密に関連するとされる。

遺伝子検査法は、レジオネラ属菌の遺伝子の特異的に検出することで、浴槽水中のレジオネラ属菌を定量することが可能である。膜透過性を利用した生死鑑別法を組み合わせることにより、生きたレジオネラ属菌による汚染を評価できる<sup>5)</sup>。

本研究では、これらFCM法等の非培養検査法の結果を施設衛生管理者と共有し、対話により衛生状態の理解を促すことで、公衆浴場の施設自身による衛生管理の向上を期待している。

本研究では迅速検査法を活用して入浴施設現場施設の調査・予防・改善につなげる実施例を蓄積する。ここでは施設4事例の適用事例を紹介する。モノクロミン消毒については迅速検査法との関係の中で遊離塩素消毒と異なる知見が得られたので報告する。

## B. 材料と方法

### 1. 調査で用いた検査法

#### 1.1. 遊離塩素濃度の測定

検水の遊離塩素濃度はDPD (*N,N*-diethyl-*p*-phenylenediamine, Hach)法を用いて測定した。モノクロミン消毒の場合は全塩素測定

用の DPD 法を用いた。この時、遊離残留塩素濃度は遊離残留塩素用試薬（笠原理化工業社製）、モノクロロミンは全残留塩素用試薬（笠原理化工業社製）を残留塩素測定容器中濃度用（柴田科学社製）を用いて測定した。本検査法の検出限界は遊離塩素濃度の場合 0.1 mg/L モノクロロミン消毒に適用した全塩素濃度の場合 2.0 mg/L である。

### 1.2. ATP 法

ルミテスターPD-30（キッコーマンバイオケミファ）と ATP ふき取り検査システム（ルシパック A3 Water（液体測定用），キッコーマンバイオケミファ）を用いて、添付の取扱説明書<sup>6)</sup>に従って処理した。

### 1.3. FCM 法

フローサイトメーターとして、RF-500（Sysmex 社製）を使用し、田栗らの方法<sup>7)</sup>に準拠して設定した測定領域（Gate）を用いて各種浴用水を測定した。Gate 内の細菌数が暫定的な基準値（200 cells/mL，以降基準値という）未満であった場合は「消毒効果有り」と判定し、基準値以上の場合は「消毒効果不十分」と判定した。現地での測定を求められた場合には、携帯型フローサイトメーター miniPOC（Sysmex-Partec 社製）を用いた。これは従来用いていた装置で、蛍光試薬と測定原理は同じであるが、RF-500 とレーザー光の波長および解析方法が異なり、感度が異なるために、検出限界値は 1300 cells/mL、消毒効果の基準値は 1000 cells/mL である<sup>8)</sup>。

### 1.4. レジオネラ遺伝子検査法

レジオネラ遺伝子検査は磯部ら<sup>5)</sup>の方法に準拠した。qPCR 法は、Lysis Buffer for *Legionella*（タカラバイオ）および Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit（タカラバイオ）を用い、添付の取扱説明書<sup>9)</sup>に従い実施した。EMA-qPCR 法は、qPCR 法における DNA 抽出の前に、Viable *Legionella* Selection Kit for PCR Ver. 2.0（タカラバイオ）および LED Crosslinker 12（タカラバイオ）を用いて、EMA 処理を実施した。得られた遺

伝子コピー数を取扱説明書に従って CFU に換算した。EMA-qPCR と qPCR の CFU 換算値をそれぞれ生菌遺伝子量（CFU-equivalent unit: CFU-eU/100mL）と全遺伝子量（CFU-eU /100mL）とした。

### 1.5. レジオネラ属菌の培養方法

平板培養法によるレジオネラ属菌の培養検査は森本らの方法<sup>10)</sup>でろ過濃縮法により行った。培地は GVPC $\alpha$ 培地（ビオメリュー）を使用し、100 倍濃縮した検水を、酸処理か熱処理の後、塗抹して 36°C で 3~7 日間培養した。システイン要求性の湿潤集落をレジオネラ属菌として計数した。消毒剤としてモノクロロミン消毒を供した施設では平板培養法と同時にレジオラート（アイデックス）を行った。同法は淀谷らの報告<sup>11)</sup>に準拠して、10 mL の検水に適量の前処理剤（アイデックス）を加えて 10 分間反応、水酸化カリウムにより反応停止後に、37°C で 7 日間培養した。

### 1.6. 従属栄養細菌検査法

FCM 法で大量に細菌が検出されるなど浴槽水の消毒に影響を与えそうな場合は、施設と相談の上で、細菌の生死を確認するために従属栄養細菌の検査を実施した。従属栄養細菌数は R2A 寒天培地（塗抹法）を用いて 30°C で 7 日間培養した。

### 1.7. 共焦点レーザー顕微鏡法

研究の中で細菌の顕微鏡学的証明のために用いた共焦点レーザー顕微鏡法は下記のとおりである。

即ち、洗浄中、中和後の浴槽水を 3 mL ずつ、それぞれ 15,000 rpm、10 分間遠心後、沈査をスライドグラスに塗抹し蛍光試薬で染色して共焦点レーザー顕微鏡（LSM880、ZEISS 社製）で観察した。蛍光試薬は核酸染色用に SYTO9（Thermo Fisher Scientific 社製）、糖の染色用に Rhodamine Concanavalin A（VECTOR LABORATORIES 社製）を、カルシウムとマグネシウムを含まない生理食塩水（DPBS, Thermo Fisher Scientific 社製）にて最終的にそれぞれ 1,000、250 倍に希釈され

るように混合して用いた。顕微鏡観察時の光路設定は付属のソフトウェア ZEN2 の Smart Setup により SYTOX Green、rhodamine を選択して設定した。透過光観察像と重ね合わせて画像を取得した。

## 2. 施設調査

### 2.1.1. 施設調査の方法

施設調査は田栗らの報告<sup>7)</sup>に倣って実施した。即ち、1 番目に、保健所や民間の衛生管理事業者等と連携して入浴施設に研究協力を申し入れる。2 番目に、施設の衛生管理者との対話の中で、調査対象とする浴槽水、貯湯タンク水、ろ過器排水、ろ過器逆洗浄水などの試料と検査方法を定める。この時、非培養検査法を中心に提案するが、管理者の意向によっては培養検査法も加える。計画に基づいて検査を実施する。3 番目に検査結果を施設の衛生管理者と共有する。4 番目に、4-a：衛生状態が良好な場合は、維持を伝える。4-b：衛生状態に問題があった場合は、消毒の強化等の改善手段を提案し、必要に応じて配管洗浄等を含めて、これら対策を衛生管理者に実施してもらう。5 番目に、培養法で浴槽水のレジオネラ属菌陰性を確認する。6 番目の最終的に、以上から導き出される重要管理点を、施設の衛生管理マニュアルに反映、日常管理に役立ててもらおう。

### 2.1.2. 検水の採取方法

検水を採取する場合には、最初に検水をそのまま用いて遊離塩素濃度と ATP 量を測定し、その後検水に含まれる塩素を中和した後のサンプルを用いて FCM 法、遺伝子検査法、培養法に用いた。

FCM 法用の試料は 100 mL 滅菌採水瓶（栄研, TG2000）、培養法用の試料は 1 L 滅菌済みポリ容器に採水した。共に終濃度 50 mg/L チオ硫酸ナトリウムにて塩素を中和し、FCM 法用試料はさらに終濃度 0.05% グルタルアルデヒド (GA) で固定した。試料は冷蔵保存して遅くとも 1 週間以内に試験に供した。遺伝子

検査法は平板培養法の濃縮サンプルを用いた。

## 2.2. O 入浴施設の調査

### 2.2.1. 施設の衛生管理状況

最初に協力を得た O 施設は高温の温泉利用の掛け流し式施設で、4 階建て構造の全客室で温泉を直接利用している。105°C 超の源泉を冷却装置で 60°C 程度にして受湯槽に貯留させ、ポンプで屋上の貯湯槽に組み上げたお湯を各室に配湯する仕組みとなっている（図 1-a）。冷却装置は吐出時に析出するスケール除去にも役立っている。

今回の調査は、管轄保健所主催の営業施設向け衛生講習会が縁で実施した。自主管理として実施している高圧洗浄による貯湯槽の洗浄と高濃度次亜塩素酸ナトリウムによる配管洗浄の有効性について、O 施設の経営者から相談を受けたものである。なお、本施設では年 2 回の貯湯槽洗浄消毒と月 1 回の高濃度塩素による配管洗浄を行っていた。

### 2.2.2. 調査の概要

外冷気の影響を受けやすい冬季と保温しやすい夏季で比較するために、調査は令和 5 年 12 月と令和 6 年 8 月の 2 回行った。一次冷却後の受湯槽、屋上の貯湯槽並びに客室浴槽について、湯温を現地で測定し、ATP 法、FCM 法、レジオネラ遺伝子検査法の検体を採水した（図 1-a）。配管汚染を探知するために貯湯槽から最も遠い位置にある客室の浴槽水（直前に貯めたもの）を採水したが、冬季の ATP 量が高く浴槽壁汚染の影響を排除できなかったため、夏季には浴槽水から湯口水に変更し、貯湯槽近辺と遠方の客室から採取して比較した。

## 2.3. P 入浴施設の調査

次に協力を得た施設は O 施設と同じ地域の温泉で、同じく高温の温泉を利用している。施設から離れた場所にグランピング (GP) 施設を設置して令和 5 年春から営業している。

こちら保健所主催の衛生講習会の際に、

長距離配湯におけるリスク管理について質問を受けたことから調査協力を得たものである。

### 2.3.1. 施設の衛生管理の状況

当温泉は間欠泉で、最初に源泉から吐出された熱湯を近くにある本館のコンクリート製貯湯槽に貯留していた（図 2-a）。GP 施設へは、約 1 km の配管を通して本館貯湯槽から配湯され、GP 施設の貯湯槽を介して 10 棟の入浴設備に分配する構造となっていた。本施設と GP 施設の貯湯槽は温度管理を徹底しており、年 1 回程度、全部排水後に高圧洗浄機を用いてスケール除去していた。

### 2.3.2. 調査の概要

O 施設と同様に、調査は令和 5 年 12 月と令和 6 年 8 月の 2 回行った。源泉、本館貯湯槽、GP 施設貯湯槽および GP 施設湯口水について、湯温を現地で測定し、ATP 量、FCM、レジオネラ遺伝子検査の検体を採水した（図 2-a）。

## 2.4. Q 入浴施設の調査

3 番目に協力を得た循環ろ過施設は、令和 5 年度に循環系外のレジオネラ汚染源を発見して改善に至った施設である<sup>12)</sup>。流路の排水溝上蓋のモニタリングを ATP 法にて定期的実施していたところ、 $10^4$  オーダーの高値が出るようになったことで施設衛生管理者から相談を受け、省力化配管洗浄剤の適用を試みた。

### 2.4.1. 施設の衛生管理の状況

利用者数は 1 日あたり約 700 人であった。対象は 1 t 規模の壺形浴槽が野外に 3 つ併設されている循環系統で、ほぼ同量の回収槽を持つ構造となっていた。塩素消毒とともに週 1 回の高濃度塩素洗浄（20 mg/L×2 時間）と年 3 回の配管洗浄を実施していた。

### 2.4.2. 調査の概要

浴槽水と回収槽水（合計約 6 t）を省力化配管洗浄剤<sup>13)</sup>（花王株式会社、R3 年度厚労科研の成果品）で処理した。作業マニュアルに沿って洗浄作業を行った。A 剤、B 剤、C 剤の 3 つ

の薬剤を浴槽水 1 トンあたり各 2 kg の割合で浴槽水に投入して 1 時間反応させたのち、1 kg の中和剤で 15 分処理し、すすぎ操作を 2 回実施した。主な作業工程のうち濃縮作業が不要な①洗浄前、②洗浄中、③中和後、④すすぎ 2 回後および⑤翌日の浴槽水を ATP 法と FCM 法に供した。②洗浄中と③中和後のサンプルは濃縮操作が困難であったため、レジオネラ属菌培養検査法および遺伝子検査法用には①洗浄前、④すすぎ 2 回後および⑤翌日の浴槽水を検査に供した。

## 2.5. R 入浴施設の調査

4 番目に協力を得た施設は、入所者 150 人程度の社会福祉施設であった。研究協力者である民間事業者を通じて、消毒装置故障後の営業再開について相談を受けたものである。循環停止中の生物膜除去のために省力化配管洗浄を試みた。

### 2.5.1. 施設の衛生管理の状況

当該施設の浴槽は男女 2 つの浴槽が単一の 200 L 規模のろ過器を用いた循環ろ過がなされており、毎日 50 人程度が利用していた。自動注入による遊離塩素消毒管理で、塩素濃度は毎日計測されており、0.4~1.0 mg/L に保たれていた。今回、消毒装置タンク底部に経年劣化により穴が開き 1 週間ほど装置を止めていた。原水は井水だが、200 L 程度の温泉由来の鉱石をろ材として使用していた。年 3 回、過炭酸ナトリウムでの洗浄を行っていた。

### 2.5.2. 調査の概要

女湯（2 t）と男湯（1 t）を省力化配管洗浄剤で処理した。洗浄剤を投入して 1 時間反応させたのち、中和剤で 15 分処理した後すすぎ操作を 2 回程度実施した。①洗浄前、②洗浄中、③中和後、④すすぎ 2 回後の浴槽水を ATP 法と FCM 法に供した。濃縮作業が必要なレジオネラ属菌の平板培養法とレジオネラ属菌遺伝子検査法用には、女湯の④すすぎ 2 回目後

と⑤翌日の塩素消毒後の浴槽水を採水した。

### 3.1. モノクロラミン消毒の適用事例

既報の通り<sup>12)</sup>、令和5年9月から17t規模の循環系統にモノクロラミン消毒装置を供用して安定的なモノクロラミン濃度を保ち、実施した全ての検査でレジオネラ属菌が検出されなかった施設において、本年度はモノクロラミン消毒装置の機能拡大を試みた。

同じ井水を利用する他の循環系統でもモノクロラミン消毒を行うため、令和6年7月に、既存の消毒装置に制御装置と分配配管を増設した。設置済のジェット浴18tに加え、野外にある歩行浴25tおよびサウナと併設する冷水浴8tを対象とし、3つの系統は同時制御とした。消毒装置から分配された配管をこれらの循環系統の消毒液注入口に連結して、タイマー制御により20分毎に自動的に分配先が切り替わるように設定した。モノクロラミンの生成条件等は既報のとおりである<sup>12)</sup>。毎日4~5回DPD法によりモノクロラミン濃度を測定し、高濃度の場合は停止させるなどして概ね4.0~4.5 mg/Lを目標値として調整していた。既報<sup>12)</sup>のとおり、本処理の実施期間において、施設から毎日の浴槽水の残留塩素濃度のデータを入手し、各月のモノクロラミン濃度としてその推移を比較した。

さらに令和6年10月に追加工事を行い、同じ井水を用いる6t規模の薬湯系統もモノクロラミン消毒の対象とした。調整器の仕様により分配機能は3系統に限られたため、毎日換水のジェット浴と薬湯を独立分配制御とし、7日間隔の換水でモノクロラミン濃度が安定していた歩行浴と冷水浴は1本の分岐配管に接続して手動切り換えとした(図1)。

以上のとおり、10月の増設後は井水系統全てをモノクロラミン消毒に切り替えた。水質検査は、7月以降3系統、10月以降4系統の浴槽水を月1回の間隔で採水し、ATP法、FCM法、従属栄養細菌数検査、レジオネラ属菌の培養検査法およびレジオネラ属菌遺伝子検査法

を実施した。施設側の要望を受けて同菌の特異的検出に有効なレジオラート法を平板培養法と同時に供試した。

## C. 結果および考察

### 1.1. O 入浴施設の調査

図1(b)にO施設の冬季と夏季の測定結果をまとめた。冬季の受湯槽、貯湯槽および遠方客室浴槽水の温度はそれぞれ57.5℃、51.5℃および47℃、ATP量はそれぞれ41 RLU、28 RLU、132 RLU、FCMによる細菌数は733 cells/mL、1047 cells/mLおよび807 cells/mLであった。受湯槽、貯湯槽および遠方客室浴槽水のレジオネラ属菌遺伝子検査法においてレジオネラ属菌の全遺伝子は、それぞれ12 CFU-eU/100mL、12 CFU-eU /100mL および32 CFU-eU /100mLであったが、生菌遺伝子はすべて不検出(<1 CFU-eU/100 mL)であり全て死菌由来の遺伝子と判定された(図1 O-1)。冬季の結果から配管の汚染状況を精査するために、夏季の調査では客室検体を浴槽水から湯口水に変更するとともに、貯湯槽に近い客室を加えた。本研究のFCM法では細菌の生死判別ができないのでFCM法で検出された細菌の状態を確認するために従属栄養細菌数を項目に追加した。夏季の受湯槽、貯湯槽、近辺客室および遠方客室湯口水の温度はそれぞれ63℃、64℃、54℃および55℃、ATPはそれぞれ44 RLU、12 RLU、16 RLU および44 RLUであった。FCMによる細菌数は<200 cells/mL、13,827 cells/mL、<200 cells/mL および27,760 cells/mLであったが、従属栄養細菌数は全て検出限界以下(<200 CFU/mL)であった。レジオネラ遺伝子量は検査した全ての検体で生菌遺伝子および全遺伝子ともに検出限界(<1 CFU-eU/100 mL)以下を示した(図2 O-2)。

O施設で、受湯槽と貯湯槽温度が60℃に達しなかった冬季では受湯槽と遠方客室からレジオネラ属菌遺伝子(死菌由来)が検出されたが、60℃を超えた夏季では不検出となった。

夏季に貯湯槽や遠方客室で細菌増殖が確認されたがほぼ殺菌されていた。このように、受湯槽、貯湯槽および遠方客室の状態によりレジオネラ遺伝子が僅かに増加することがあっても、細菌とレジオネラ属菌は全て殺菌されていると考えられ、受湯槽や貯湯槽の高温管理はレジオネラ属菌制御に効果があるととも**60℃**という値が維持管理の目標値として適切であることが改めて確認された。

本施設は原水が**100℃**を越す高温泉であり、一旦冷却装置を通して一次冷却とスケール除去したお湯を屋上の貯湯槽に送る構造をとっていた(図 1(a))。高温のために冷却装置の洗浄管理はできないが温度によりリスクは低いと考えられていた。今回の調査で冬場の受湯槽と遠位客室の浴槽水からのみレジオネラ属菌の遺伝子が検出される一方で夏季には同じ調査箇所からレジオネラ属菌遺伝子は検出されなかった。これらのことから受湯槽の高温管理の重要性が認識されるとともに施設が自ら逸脱を感知する手段が必要と考えられた。今回の調査で高温管理が難しい冬季には ATP 法がレジオネラ属菌遺伝子の出現を感知できおり有用なスクリーニング手段と考えられた。

#### 1.1.2. 調査に基づく対応

O 施設では冬場の温度管理が重要管理点の一つであることが明らかとなり、対策としてリスクの高い受湯槽、貯湯槽および遠方客室の定期的な温度測定を提案して了承された。また、これまで定期的実施されてきた貯湯槽の洗浄消毒と塩素剤による配管洗浄の有効性が確認されたことと ATP 法が汚染指標として優れていたことも伝えて、施設責任者により今後の衛生管理に活用する旨の回答を得た。

#### 1.2. P 入浴施設の調査

図 2 (b) に P 施設の測定結果を示した。冬季の源泉、貯湯槽、GP 施設貯湯槽および GP 施設湯口水の温度はそれぞれ**90℃**、**79.1℃**、**56.3℃**および**57.5℃**、ATP 量はそれぞれ**69 RLU**、**19 RLU**、**35 RLU**および**66 RLU**、FCM

による細菌数は**240 cells/mL**、**227 cells/mL**、**220 cells/mL**および**233 cells/mL**であった。これらのレジオネラ遺伝子量は全ての検体で生菌遺伝子および全遺伝子ともに検出限界(**<1 CFU-eU/100 mL**)以下を示した(図 2 P-1)。夏季の調査では、O 施設と同様に細菌の生死判別のために従属栄養細菌数を項目に追加した。受湯槽、貯湯槽、GP 施設貯湯槽および GP 施設湯口水の温度はそれぞれ**80.4℃**、**81.8℃**、**63.5℃**および**51.5℃**、ATP 量はそれぞれ**12 RLU**、**16 RLU**、**44 RLU**および**13 RLU**であった。FCM による細菌数は**2460 cells/mL**、**5480 cells/mL**、**2360 cells/mL**および**473 cells/mL**であったが、従属栄養細菌数は全て検出限界以下(**<200 CFU/mL**)であった。レジオネラ遺伝子量は GP 施設の貯湯槽と湯口水でわずかに検出された(それぞれ**27 CFU-eU/100mL**と**17 CFU-eU/100mL**)が、生菌遺伝子はともに検出限界(**<1 CFU-eU/100 mL**)以下を示した(図 2 P-2)。

P 施設の貯湯槽は冬季でも**79.1**と高温を保持できており、源泉や GP 湯口水から若干の ATP は検出されたものの、細菌数やレジオネラ遺伝子は低く保たれていた。当該温泉は間欠泉で微量の土砂が含まれることを確認しており(データ不掲載)、ATP はこの土砂に由来すると推測された。しかしこの ATP が貯湯槽で低下していたことと、季節を問わず貯湯槽では他の指標も低く抑制されていたことから、これらの現象は貯湯槽での何らかの制菌作用が疑われ、当該施設の貯湯槽がコンクリート製であったことから、その保温性の高さによるものと考えられた。

夏季の GP 施設貯湯槽では、冬季には見られなかった ATP とレジオネラ遺伝子(死菌由来)の集積が認められた。その量はどちらもわずかで湯口水では減少しており、若干検出された細菌も全て死菌であった。この GP 施設の貯湯槽もコンクリート製であったことから、その保温性による微生物制御により湯口水のリスクも低く保たれていると考えられた。

### 1.2.2. 調査に基づく対応

P 施設では貯湯槽の優れた温度保持により温度制御の難しい冬場でも温泉の清浄度が保たれていると考えられた。施設には貯湯槽の保温性が優れているため衛生状態が良好に保たれていることと、既に実施されている貯湯槽の温度管理の徹底と年 1 回の洗浄の継続を伝えて調査を終了した。

### 1.3. Q 入浴施設の調査

Q 施設の調査結果を表 1 に示した。①洗浄前、②洗浄中、③中和後、④すすぎ 2 回目後および⑤翌日の ATP 量は、それぞれ 457 RLU、1066 RLU、1071 RLU、51 RLU および 2 RLU、FCM による細菌数は 1292 cells/mL、44,337 cells/mL、4029 cells/mL、60 cells/mL および 99 cells/mL であった。①洗浄前、④すすぎ 2 回目後および⑤翌日のレジオネラ属菌数はそれぞれ <10 CFU/100mL、40 CFU/100mL および <10 CFU/100mL で、レジオネラ遺伝子量はそれぞれ <1 CFU-eU/100mL、13 CFU-eU/100mL および <1 CFU-eU/100mL であった。

処理前に培養検査や遺伝子検査で検出限界以下であったにもかかわらず、2 回目のすすぎ後の検体からレジオネラ属菌およびレジオネラ属菌遺伝子が検出されたが、翌日の検水からは検出されなかった。一方で、ATP 量と細菌数は洗浄中に急激に上昇し、すすぎにより減少していた。施設の意向で写真を掲載できなかったが、通常透明な浴槽水が洗浄中に茶褐色に着色し、中和時には黒色に変化してすすぎにより透明化した。衛生管理者によるとこの色の変化はこれまでの配管洗浄では認められなかった。メーカーによるとこれらの変化は生物膜に付着した鉄イオンが中和により析出したもので、生物膜と思われる有機物が剥離・洗浄されたと考えられた。これらのことから、すすぎ水に含まれていたレジオネラ属菌は剥離された生物膜が影響していたのではないかと思われた。

今回の調査で、洗浄処理前の浴槽水からは

レジオネラ属菌もその遺伝子も検出されなかった（表 1）。洗浄処理後のすすぎ水から検出されたものの、その量は僅かで洗浄剤による生物膜除去後に認められた。排水口の上蓋は汚染時の木製から鉄製に交換されており、定期的な洗浄・消毒も実施されていた<sup>12)</sup>。これらのことから、すすぎ 2 回目後のレジオネラ属菌は上蓋汚染の再発と考えるよりは、ろ材か配管内生物膜深層に定着したレジオネラ属菌が洗浄剤により顕在化したと考える方が適切かもしれない。

### 1.3.2. 調査に基づく対応

調査の結果を施設に伝えたのち、施設の衛生管理の中で排水口上蓋表面の月 1 回程度の定期的な監視と洗浄・消毒に加えて年 3 回の配管洗浄を継続することとなった。

今回の事例では特に衛生管理の強化に繋がることはなかったが、衛生管理者に対して、循環システムの潜在リスクの存在と生物膜対策の必要性認識を高めるには大いに役立った。昨年度<sup>12)</sup>よりも衛生状態が改善していたことは明らかであったものの、定着したレジオネラ属菌排除の難しさが感じられた事例であった。

### 1.4. R 入浴施設の調査

R 施設の調査結果を表 2 に示した。①洗浄前、②洗浄中、③中和後、④すすぎ 2 回目後および⑤翌日の ATP 量は、それぞれ 0 RLU、1 RLU、10 RLU、23 RLU および 5 RLU、FCM による細菌数は 233 cells/mL、197,740 cells/mL、2633 cells/mL、913 cells/mL および 433 cells/mL であった。④すすぎ 2 回目後および⑤翌日のレジオネラ属菌数はそれぞれ <10 CFU/100mL および <10 CFU/100mL で、レジオネラ遺伝子量はそれぞれ 14 CFU-eU/100mL および <1 CFU-eU/100mL であった。

各工程からは ATP はほとんど検出されなかった（表 2）。色の変化は洗浄前無色、洗浄中に褐色に変化して、中和で黒色化、2 回のすすぎで元に戻った。洗浄時には浴槽水の褐色化

が進行し、中和時には多量の泥状物が出現して ATP 法の結果と矛盾する現象が認められた (図 3 A,B-a) が、すすぎ 2 回目後の浴槽水は無色・透明 (井水の色) にもどった。施設側の強い要望により中和時に出現した泥状物の探索を行った。洗浄中の浴槽水からは、FCM により大量の細菌が検出され (表 2, 図 3 A-b)、共焦点レーザー顕微鏡でも多量の核酸と糖が観察された (図 3 A-c)。これらのことから、泥状物は配管系統から剥離された生物膜に由来すると考えられた。

ATP 法は細菌汚染を推察する有用な方法であるが、温泉への応用では時に反応阻害を生じるとされている<sup>3)</sup>。今回調査した浴槽水は井水を利用していたが、ATP 量測定 of 明らかな阻害が観察された。前項に示した Q 施設も井水であったが ATP 法は細菌汚染の状況を反映できており、R 施設とは全く異なる結果であった (表 1)。目視結果は FCM 法や顕微鏡観察により証明されたため、施設の衛生管理者とよく対話したところ、ろ材の中に温泉由来の鉱石を含んでいることが明らかとなった。ATP 法の阻害は本成分によるものと考えられたが、原石が入手できず確認できていない。しかし、ATP 法の結果が目視の状況と矛盾していたことは明らかで、現地測定での活用を目指す場合は、事前に反応阻害がないことを確認する必要があると考えられた。

#### 1.4.2. 調査に基づく対応

本施設では、もともと消毒装置の故障から循環式衛生管理の停止を検討していたが、今回の調査結果を伝えたところ、施設側が循環式浴槽における生物膜対策の重要性とその難しさを再認識し、衛生管理方法を再考することが了承された。また、調査終了後に自主検査を実施してレジオネラ属菌が不検出であったとの報告を受けた。また、後日、施設側が自ら毎日完全換水方式への切替を決断、切り替えたと聞いている。

### 2.1. モノクロラミン消毒の適用事例

図 4-1 にモノクロラミン製造装置と本消毒を適用した循環系統の概要図を示した。

図 4-2 に 4 つの循環系統における浴槽水中残留塩素濃度の推移を示した。各月のサンプル数は概ね 120~135 であった。

ジェット浴では設置直後の令和 5 年 10 月と、追加系統増設後の令和 6 年 8 月に若干の値のばらつきが認められたものの一貫して概ね 3.5~4.5 mg/L を維持しており調査期間を通して安定して推移していた (図 4-2)。歩行浴と冷水浴はほとんど値のばらつきが認められず推移した。薬湯は、容量が小さいことから、他の浴槽と比べて値のばらつきが大きいようであった (図 4-2)。施設では薬剤費に関して、コスト的に満足いく状況とのコメントがあった。

表 3 にモノクロラミン消毒時の各種微生物指標の値をまとめた。ジェット浴、歩行浴、冷水浴及び薬湯の ATP 量は、それぞれ  $548 \pm 407$  RLU、 $140 \pm 68$  RLU、 $121 \pm 103$  RLU および  $177 \pm 25$  RLU であり、FCM による細菌数は  $137,483 \pm 156,338$  cells/mL、 $2,783 \pm 2,599$  cells/mL、 $2,115 \pm 1,867$  cells/mL および  $103,019 \pm 59,173$  cells/mL と、他に比べて高い値であった。しかしながら、全ての浴槽水でレジオネラ属菌は平板法とレジオラートともに不検出であった。田栗ら<sup>14)</sup>は、次亜塩素酸ナトリウム消毒下では FCM 法 (報告では RDM 法と記載) による細菌数がレジオネラの平板培養法結果のスクリーニング法として有用であると述べている。今回はモノクロラミン消毒を行ったが、次亜塩素酸ナトリウム消毒の場合と異なり、細菌数とレジオネラ属菌の関連は認められなかった。またレジオネラ属菌の遺伝子検査では、レジオネラ属菌全遺伝子がジェット浴で  $80 \pm 103$  CFU-eU/100mL という値を示したものの歩行浴と冷水浴の値は検出限界値 (1 CFU-eU/100mL) 程度に過ぎず、これらは全てのレジオネラ属菌生菌遺伝子は不検出であり全て死菌と判定された。従属栄養細菌数は  $3,177 \pm 4,194$  CFU/mL、230

± 296 CFU/mL、2,014 ± 2,563 CFU/mL および 537 ± 611 CFU/mL を示したことから、ATP と FCM の値は従属栄養細菌に由来すると考えられた。従属栄養細菌対策として月に1回程度 10 mg/L×3 時間程度の高濃度モノクロラミン洗浄を行うようにした。

#### D. まとめ

レジオネラ汚染の制御を目的に、FCM 法などの非培養検査法を用いて、浴槽水の衛生状態を迅速評価して、その結果を施設管理に反映するための調査を実施した。今回調査した施設のうち2施設は掛け流し式、残り2施設とモノクロミン消毒の導入施設は循環ろ過式入浴施設であった。

・高温の温泉利用の O 施設は、温度と比較した非培養検査法の結果から、施設管理者は独自の冷却装置と配管給湯の遠位客室の管理の必要性を認識できた。冬季と夏季の成績比較により、60°C という管理指標の有益性を施設管理者は認識できた。保温の難しい冬季は特に管理目標の遵守が重要である。

・高温の温泉利用の P 施設も、温度と非培養検査法の結果から、施設管理者は温泉の湧出個所と GP 施設をつなぐ長い配管のリスク管理の必要性を認識できた。施設管理者が貯湯槽の材質がコンクリート製であったことで保温性が高まり、レジオネラ属菌を含む微生物制御に役立つことことを認識できた。

・Q 施設は、配管洗浄により、衛生管理の強化に繋がることはなかったが、培養法に非培養検査法を加えることで、衛生管理者に対して循環系統の潜在リスクの存在と生物膜対策の必要性認識を高めるには大いに役立った。生物膜由来と思われるレジオネラ属菌が認められ、施設管理者は循環系統の潜在リスクと生物膜対策の重要性を再認識できた。

・R 施設では、非培養検査法と顕微鏡検査により、配管洗浄の泥状成分が細菌を含む生物膜と確かめられた。施設管理者は循環式浴槽の生物膜対策の重要性とその難しさを認識し、

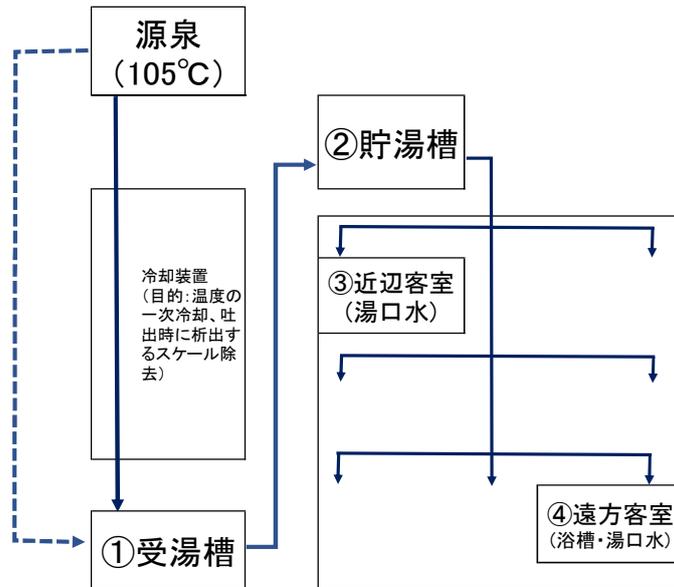
衛生管理の見直しに繋がった。

・モノクロラミン消毒の適用事例では、4つの循環系統に利用拡大した後でも、モノクロラミン濃度は安定し、レジオネラ属菌の不検出を長期間に維持できた。非培養検査法を用いた評価により施設衛生管理者は従属栄養細菌対策の重要性を認識し、定期的な高濃度モノクロラミン消毒の導入に繋がった。

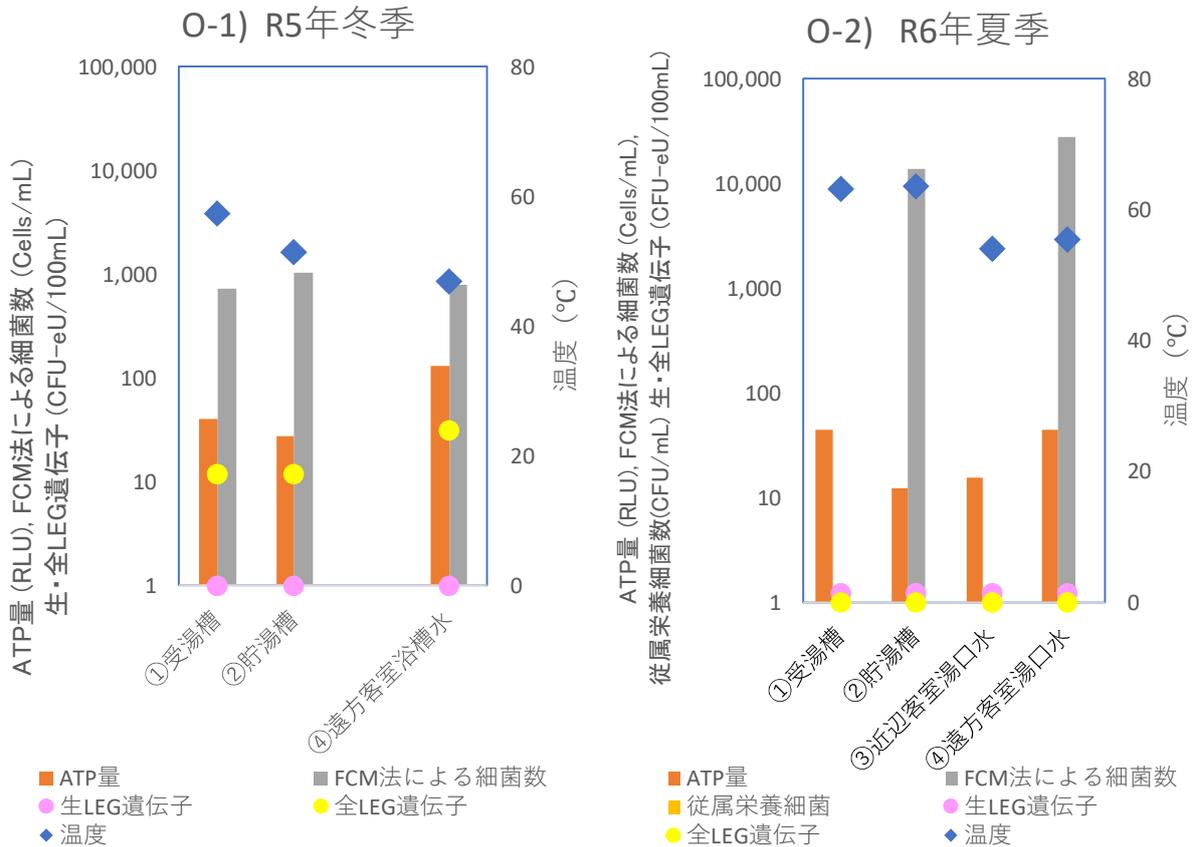
#### E. 参考文献

1. United States Environmental Protection Agency, *Legionella: Drinking Water Health Advisory*, Office of Science and Technology Office of Water, Washington, DC 20460, EPA-822-B-01-005, 2001. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/legionella-report.pdf>.
2. Poulis JA, et.al., Assessment of cleaning and disinfection in the food industry with the rapid ATP-bioluminescence technique combined with the tissue fluid contamination test and a conventional microbiological method, *Int J Food Microbiol*, 109-16, 1993.
3. 上木隆人ら, 平成 22 年度地域保健総合推進事業「保健所のレジオネラ対策における簡易迅速な検査法の実用化と自主管理の推進に関する研究」報告書, 15-22, 2011.
4. 田栗利紹ら, レジオネラ属菌検査が現地で可能となるフローサイトメトリー技術の開発, 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」平成 28~30 年度総合研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 31-36, 2019.
5. 磯部順子ら, レジオネラ属菌迅速検査法の評価, 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」平成 30 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 13-22, 2018.

6. キッコーマンバイオケミファ, ルシパック A3 Water (液体測定用) 取扱説明書, <https://biochemifa.kikkoman.co.jp/download/?id=11410>
  7. 田栗利紹ら, フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究, 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)「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和4年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 泉山信司, 77-89, 2022.
  8. 田栗利紹ら, 携帯型フローサイトメーターによる環境水中レジオネラリスクの現地評価技術の標準化, 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」令和3年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 52-86, 2021.
  9. タカラバイオ, Cycleave PCR™ Legionella (16S rRNA) Detection Kit 取扱説明書, [https://catalog.takara-bio.co.jp/PDFS/cy240\\_cy240s\\_j.pdf](https://catalog.takara-bio.co.jp/PDFS/cy240_cy240s_j.pdf).
  10. 森本 洋ら, レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み-: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24年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 倉 文明, 93-130, 2012.
  11. 淀谷雄亮ら, 新規酵素基質培地キットであるレジオラート/QT法の有効性の検討-: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」令和3年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 87-92, 2021.
  12. 田栗利紹ら, フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究, 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)「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和5年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 泉山信司, 102-115, 2023.
  13. 泉山信司ら, 省力化配管洗浄法の開発と営業施設における実地試験, 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」令和元年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 14-26, 2020.
  14. 田栗利紹ら, レジオネラ属菌検査が現地で可能となるフローサイトメトリー技術の開発, 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」平成30年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 33-34, 2018.
- F. 研究発表**  
なし
- G. 知的財産権の出願・登録状況**  
なし



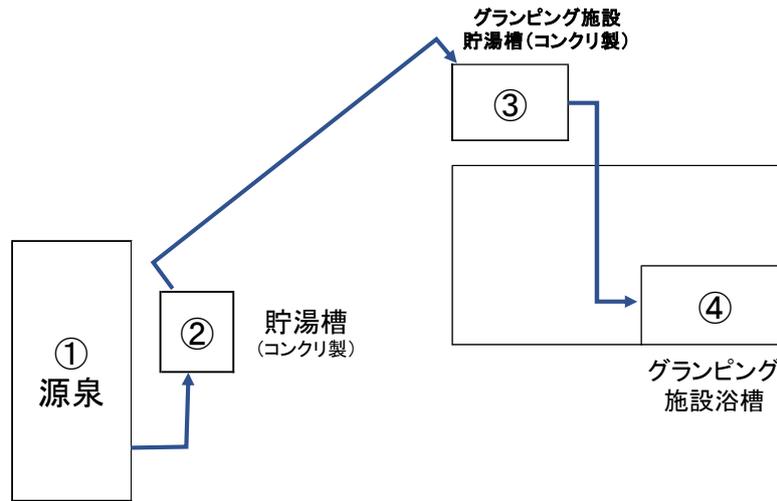
(a) O施設の構造と採水地点



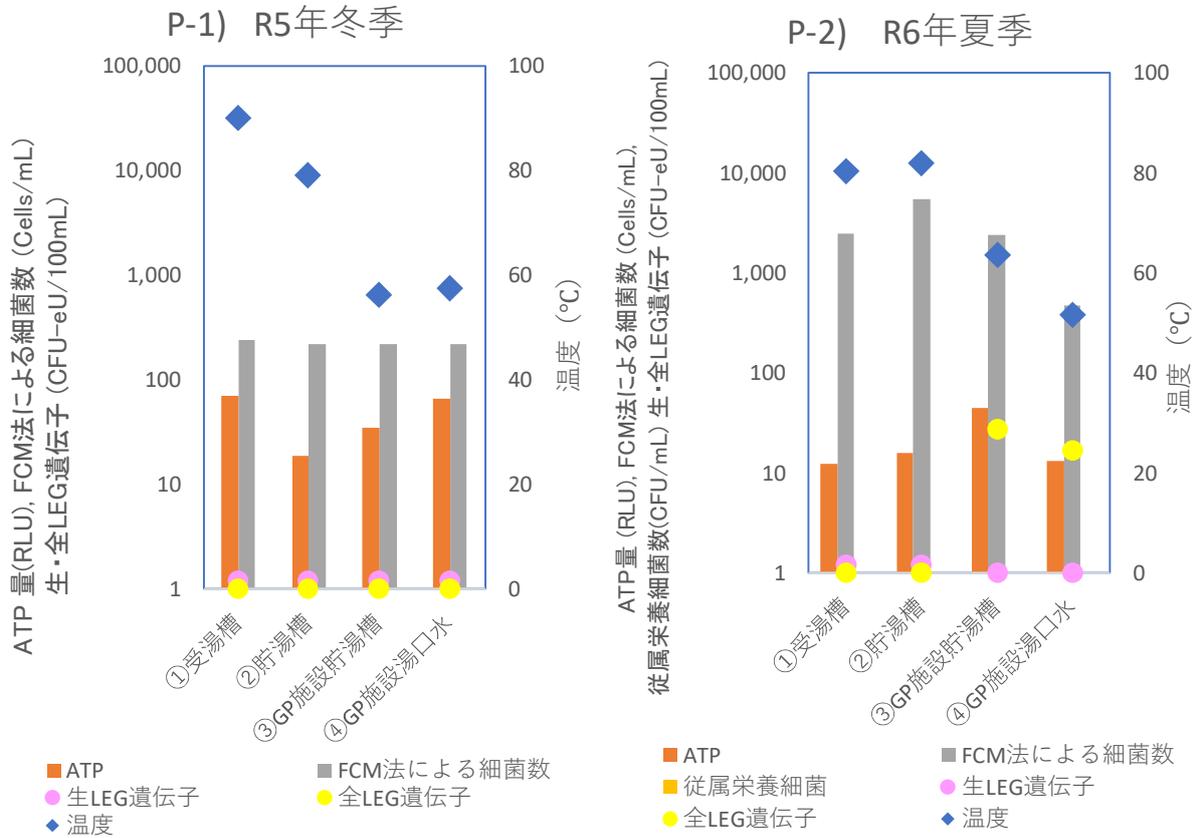
各種検査法の検出限界は ATP 法: 1 RLU, FCM 法による細菌数: 200 cells/mL (検出限界以下は非表記), 従属栄養細菌数 200 CFU/mL (検出限界以下は非表記), 遺伝子検査法: 1 CFU-eU/100mL.

(b) 冬季と夏季の各種指標の比較

図1. O施設の調査結果



(a) P 施設の構造と採水地点



各種検査法の検出限界は ATP 法: 1RLU, FCM 法による細菌数: 200 cells/mL, 従属栄養細菌数 200 CFU/mL (検出限界以下は非表記), 遺伝子検査法: 1 CFU-eU/100mL.

(b) 冬季と夏季の各種指標の比較

## 図2. P 施設の調査結果

表1 省力化配管洗浄剤による洗浄工程ごとの各種指標の推移(Q施設)

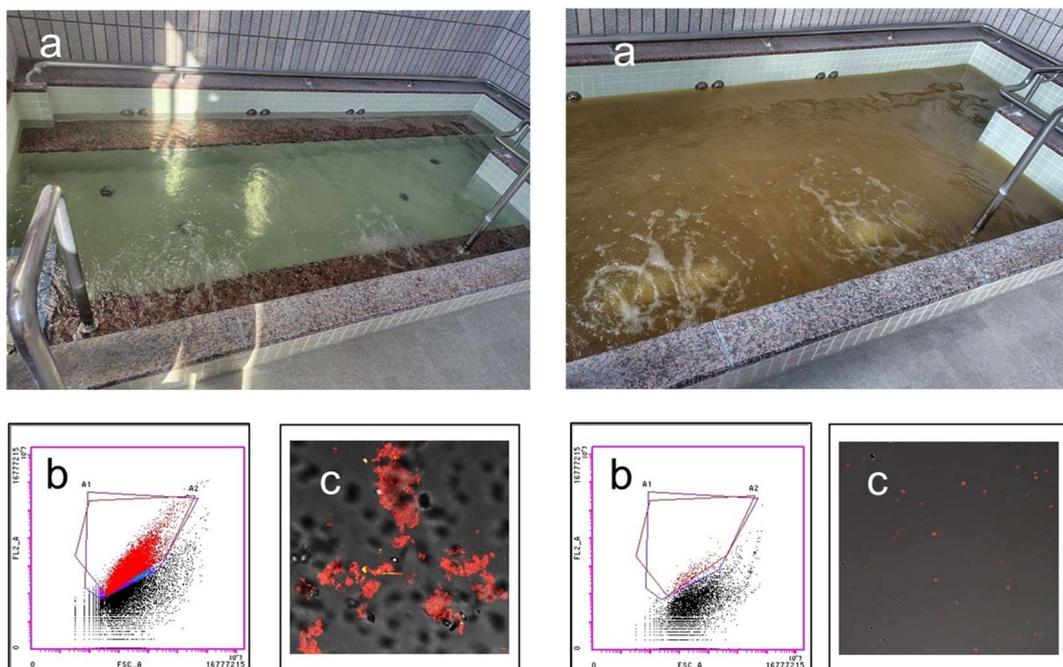
番号	作業工程	ATP (RLU <sup>1)</sup> )	Flow cytometry (cells/mL)	レジオネラ属菌 (CFU <sup>2)</sup> /100 mL)	レジオネラ遺伝子 (CFU-eU <sup>3)</sup> /100 mL)
①	洗浄前	457	1,292	<10	<1
②	洗浄中	1,066	44,337	NT	NT <sup>4)</sup>
③	中和後	1,071	4,029	NT	NT
④	すすぎ2回目	51	<200	40	13
⑤	翌日	2	<200	<10	<1

<sup>1)</sup>Relative Lights Unit, <sup>2)</sup>Colony Forming Unit, <sup>3)</sup> CFU-equivalent Unit, <sup>4)</sup> Not Tested, 各種検査法の検出限界は、ATP法:1 RLU, FCM法による細菌数: 200 cells/mL, レジオネラ属菌検査: 10 CFU/100mL, 遺伝子検査法: 1 CFU-eU/100mL.

表2 省力化配管洗浄剤による洗浄工程ごとの各種指標の推移(R施設)

番号	作業工程	ATP (RLU <sup>1)</sup> )	Flow cytometry (cells/mL)	レジオネラ属菌 (CFU <sup>2)</sup> /100 mL)	レジオネラ遺伝子 (CFU-eU <sup>3)</sup> /100 mL)	従属栄養細菌 (CFU/mL)
①	洗浄前	<1	233	NT	NT <sup>4)</sup>	NT
②	洗浄中	1	197,740	NT	NT	NT
③	中和後	10	2,633	NT	NT	NT
④	すすぎ2回目	23	913	<10	14	230
⑤	翌日	5	433	<10	<1	<200

<sup>1)</sup>Relative Lights Unit, <sup>2)</sup>Colony Forming Unit, <sup>3)</sup> CFU-equivalent Unit, <sup>4)</sup> Not Tested, 各種検査法の検出限界は、ATP法:1 RLU, FCM法による細菌数: 200 cells/mL, レジオネラ属菌検査: 10 CFU/100mL, 遺伝子検査法: 1 CFU-eU/100mL, 従属栄養細菌検査: 200 CFU/mL.



【A\_洗浄処理中】

【B\_中和処理中】

図3 省力化配管洗浄剤の洗浄工程の写真(R施設)

a: 目視写真、b: フローサイトメリーのスクアッタグラム(赤は細菌)  
c: 共焦点レーザー顕微鏡写真(赤は糖、緑は核酸、黄は両者の重なり部分)

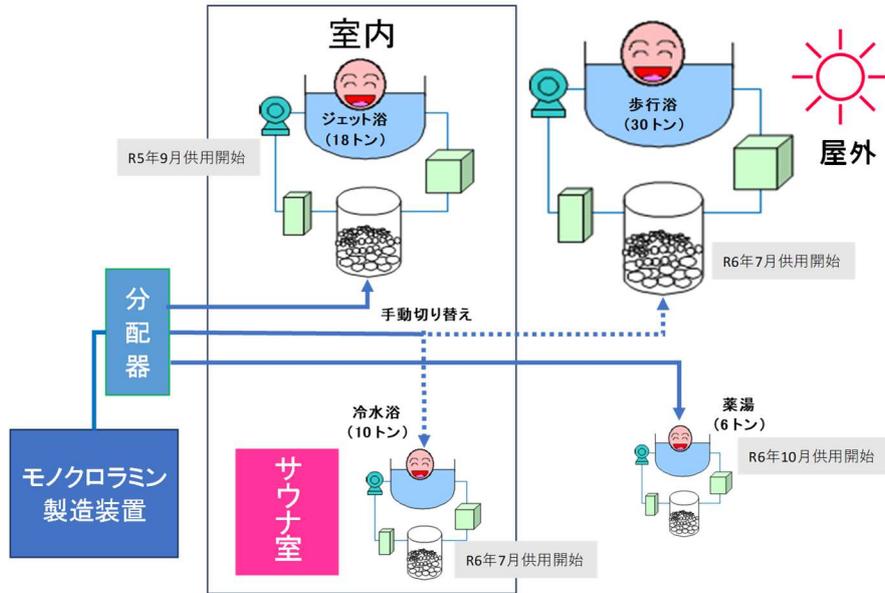


図4-1 モノクロラミン製造装置と循環系の模式図(Q施設)

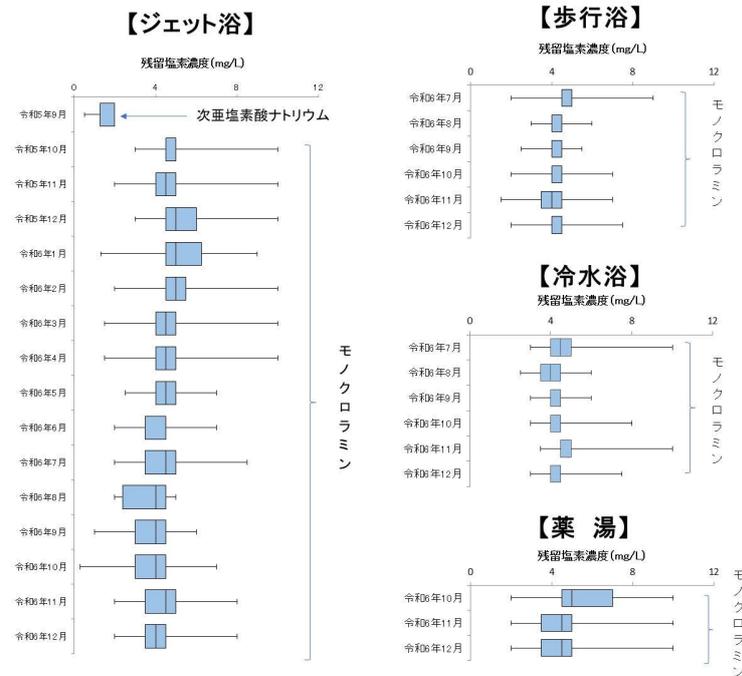


図4-2 モノクロラミン適用前後の浴槽水中の残留塩素濃度の推移(Q施設)  
モノクロラミン濃度は毎日4~5回測定した値を各月で集計し比較した。各月のサンプル数は120~135。

表3 モノクロラミン消毒下の各種指標の比較(平均±標準偏差)(Q施設)

循環系統	N数	ATP量 (RLU <sup>1)</sup> )	Flow cytometry (cells/mL)	レジオネラ属菌		レジオネラ遺伝子		従属栄養細菌 (CFU/mL)
				平板培養法 (CFU <sup>2)</sup> /100 mL)	レジオラート (MPN <sup>3)</sup> /100 mL)	生菌 (CFU-eU <sup>4)</sup> /100 mL)	全遺伝子 (CFU-eU/100 mL)	
ジェット浴	11	548±407	137,483±156,338	<10	<10	<1	80±103	3,177±4,194
歩行浴	7	140±68	2,783±2,599	<10	<10	<1	11±8	230±296
冷水浴	7	121±103	2,115±1,867	<10	<10	<1	13±9	2,014±2,563
薬湯	3	177±25	103,019±59,173	<10	<10	NT <sup>5)</sup>	NT	537±611

<sup>1)</sup> Relative Lights Unit, <sup>2)</sup> Colony Forming Unit, <sup>3)</sup> Most Probable Number, <sup>4)</sup> CFU-equivalent Unit, <sup>5)</sup> Not Tested

各種検査法の検出限界はATP法: 1 RLU, FCM法による細菌数: 200 cells/mL, 平板培養法: 10 CFU/100mL, レジオラート: 10 MPN/100mL, 従属栄養細菌数 200 CFU/mL, 遺伝子検査法: 1 CFU-eU/100mL

高濃度塩素消毒の効果を迅速に評価する FCM 細菌数の方法

研究分担者： 田栗 利紹 長崎県環境保健研究センター  
研究協力者： 井上 浩章 アクアス株式会社  
研究協力者： 小田 康雅 シスメックス株式会社  
研究協力者： 下田 貴宗 株式会社シモダアメニティサービス  
研究協力者： 蔡 国喜 長崎県環境保健研究センター

研究要旨

浴槽にレジオネラ属菌が増殖することから、生物膜対策として高濃度塩素消毒が行われる。その効果を、フローサイトメトリー（FCM）による浴槽水の細菌数測定で予測できないか検討した。現場での迅速評価を想定した可搬式 FCM（miniPOC）による細菌数測定、レジオネラ属菌の遺伝子検査（LAMP 法または PCR 法）、およびレジオネラ属菌平板培養法の結果を比較した。FCM 細菌数が多いほど、レジオネラ属菌遺伝子量が多く、レジオネラ属菌平板培養法の生菌検出も増加傾向が見られた。なお、FCM 細菌数とレジオネラ属菌の関係は、高濃度塩素消毒の影響と思われる判定不一致が多く表れ特異度が低くなる傾向があった。高濃度塩素消毒における洗浄効果の判定閾値は、報告されてきた基準値よりも細菌が破壊されて減少したことで、通常の消毒時よりも FCM 細菌数が低くなることを、判定に際して考慮した。FCM 細菌数は、迅速に測定結果が得られること、現場に持ち込んでの測定が可能なこと、そしてレジオネラ属菌の汚染量との相関が見られることから、浴槽水の衛生管理、特に高濃度塩素消毒の評価に活用できることが確認された。

A. 研究目的

フローサイトメトリー（FCM）は、さまざまな分野で各種細胞の解析に利用される方法で、浴槽水への応用では、細菌数を測定することで、レジオネラリスク判定の指標となりうることを示されてきた<sup>1,2)</sup>。これは FCM 法の細菌数が、細菌を消毒する効果を反映するためと説明される<sup>3)</sup>。本研究では、浴場現場での迅速な生物膜対策として、FCM 法による細菌数の応用を進めた。

他のレジオネラ属菌の迅速検出方法として、遺伝子検査法が挙げられるが、生菌のみならず死菌も検出されることから、レジオネラの

遺伝子検査法はあまり応用されていないかもしれない。浴槽水の検査に汎用される平板培養法の代替法として、死菌の遺伝子増幅を抑制して生菌由来の遺伝子を検出する、エチジウムモノアジド（EMA）を利用する方法も考案されている<sup>4)</sup>。しかし、レジオネラ死菌が多いなどの影響で、死菌の遺伝子増幅が抑制しきれない場合もありえる<sup>5)</sup>。

今回、高濃度塩素消毒の効果を迅速に評価することを目標としたが、洗浄消毒が生物膜対策として重要であること、消毒の程度や頻度が施設の衛生管理にとっては大事なことがあった。すなわち本研究において、消毒の十

分・不十分を迅速に判定すべく、FCMによる細菌数測定、レジオネラ属菌遺伝子検査（LAMP法またはPCR法）、レジオネラ属菌平板培養法の結果を比較して、FCM細菌数が有用であることを確認した。現場での適用を想定して、実際に温浴施設（2施設）においてFCMで細菌数を測定した。持ち帰って測定したレジオネラ属菌のPCR、平板培養法の結果と比較することで、現場適用が十分に可能であることを確認した。

## B. 材料と方法

### 1. 調査に用いた検水

2023年1月から2024年2月にかけて54検体、2024年10月から11月にかけて95検体、合計149検体の高濃度塩素洗浄後の浴槽水試料を全国各地の温浴施設等から収集した。54検体についてはFCMによる細菌数測定と遺伝子検査（qPCRとEMA-qPCR）の定量結果および平板培養法によるレジオネラ属菌検査結果を比較した。95検体については、田栗らのFCMによるレジオネラ属菌のリスク評価方法を基に遺伝子検査（qPCRまたはLAMP）の定性結果とレジオネラ属菌の生菌数を比較して高濃度塩素消毒の効果を評価した。

茨城県内の2ヶ所の温浴施設（A、B）において現地でのFCM測定を実施した。施設A（2024年6月20日実施）は天然温泉で茶褐色の濁質を含んでおり、日頃より遊離塩素処理されている。定期的にレジオネラ属菌平板培養検査を実施しており、過去に源泉タンクからレジオネラ属菌が平板培養法で検出されたことがある。施設B（2024年8月2日実施）は井水の沸かし湯で濁質等は特に見られず、日頃より遊離塩素処理されている。定期的にレジオネラ属菌検査を実施しており、レジオネラ属菌が検出された記録は見られない。

浴槽水は生物膜対策として用いられる高濃度塩素消毒後の検水を使用した。現地では10mg/L×2時間の消毒後の採水を推奨しているが基本的に施設衛生管理者に作業を任せてい

るため採水時の消毒状態は必ずしも一定ではない。各施設では、高濃度塩素消毒後に中和して換水し、残留塩素濃度を測定したのちにチオ硫酸ナトリウム入り滅菌ポリ容器に採水して、冷蔵状態で検査施設に持ち込み、搬入後24時間以内に検査に供した。

### 2. 調査で用いた検査法

#### 2.1. 遊離塩素濃度の測定

検水の遊離塩素濃度はDPD（N,N-diethyl-p-phenylenediamine, Hach）法を用いて測定した。

#### 2.2. FCM法

フローサイトメーターとして、miniPOC（Sysmex-Partec社製）およびRF-500（Sysmex社製）を使用し、田栗らの方法<sup>6)</sup>に準拠して設定した測定領域（Gate）を用いて浴槽水の細菌数を測定した。田栗らは浴槽水の消毒効果を判定する閾値（以降基準値という）について、Gate内の細菌数を1000 cells/mLと設定していたが、今回の調査では基準値として適用できなかった。よって高濃度塩素消毒による洗浄効果を判定するにあたり、遺伝子検査および平板培養法検査結果と比較したのちに基準値を設定して、その基準値に基づいて消毒効果を判定した。

#### 2.3. レジオネラ属菌遺伝子検査法

qPCR法は、2.4で後述するろ過濃縮法により調製した100倍濃縮液（2mL）さらに遠心濃縮し、その全量をアルカリ熱抽出した。アルカリ熱抽出後の試料をNucleoSpin gDNA Clean-up kit（タカラバイオ）で精製し<sup>7)</sup>、Cycleave PCR *Legionella*（16S rRNA）Detection Kit（タカラバイオ）を用い、添付の取扱説明書<sup>8)</sup>に従い実施した。EMA-qPCR法は、qPCR法におけるDNA抽出の前に、Viable *Legionella* Selection Kit for PCR Ver. 2.0（タカラバイオ）およびLED Crosslinker 12（タカラバイオ）を用いて、EMA処理を実施した。得られた遺伝子コピー数を取扱説明

書に従って CFU (Colony Forming Unit) に換算した。EMA-qPCR と qPCR の CFU 換算値をそれぞれ生菌遺伝子量 (CFU-equivalent-Unit: CFU-eU/100mL) と全遺伝子量 (CFU-eU/100mL) とした。LAMP 法は Loopamp® レジオネラ検出試薬キット E を用いて、付属の取扱説明書に従い試料を調製し、リアルタイム濁度測定装置 LoopampEXIA (栄研化学) を用いて検出した。反応 60 min 以内に LAMP 特有の遺伝子増幅が認められた試料を LAMP 陽性と判定した。これら遺伝子検査法の検出限界は概ね後述する培養法と同レベルに調整している。

#### 2.4. レジオネラ属菌の平板培養法

レジオネラ属菌の培養検査は ISO 11731<sup>9)</sup> に準拠したろ過濃縮法により行った。培地は GVPC $\alpha$ 培地 (日研生物) を使用し、100 倍濃縮した検水を、酸処理の後、塗抹して 36°C で 3~7 日間培養した。システイン要求性の湿潤集落をレジオネラ属菌として計数した。本試験の検出限界は 10 CFU/100 mL である。

### C. 結果および考察

~~3.1.~~ 54 検体の浴槽水の測定結果、FCM (miniPOC) による細菌数測定値と qPCR (または EMA-qPCR) のレジオネラ遺伝子量の関係を図 1 に示す。FCM (miniPOC) 細菌数が多いほどレジオネラ属菌の遺伝子量が多く、平板培養法によるレジオネラ属菌の生菌検出も増加する傾向が見られた。qPCR と EMA-qPCR の大きな違いは認められず、EMA 処理の効果は限定的であった。

54 検体のうち 34 検体についてはより精度の高い FCM (RF-500) 法による細菌数測定も実施し、同様にレジオネラ属菌遺伝子量と比較した (図 2)。RF-500 も miniPOC と同様で、細菌数が多いほど遺伝子量が多く、レジオネラ属菌の生菌検出も増加する傾向にあった。

図 3 に、浴槽水 95 検体について FCM (miniPOC) 細菌数と残留塩素濃度を比較したうえでレジオネラ属菌遺伝子とレジオネラ

属菌の検出結果をプロットしたグラフを示した。田栗らの方法に準拠し消毒効果判定の基準値を 1000 cells/mL としたところ、消毒効果ありと判定してもレジオネラ属菌平板培養法で生菌が検出されるケースが散発した。そこで改めてレジオネラ属菌遺伝子及びレジオネラ属菌の生菌と比較して解析すると 630 (=2.8log) cells/mL という値が得られた (図 3)。得られた基準値によりレジオネラ属菌平板培養結果を比較したところ、消毒効果ありと判定された検体は 42 検体であった。消毒効果なしと判定された 53 検体のうちレジオネラ属菌の生菌が検出された検体は 15 検体であった (表 1)。このときの FCM によるレジオネラリスク評価は感度 100%、特異度 53%で、有効率 60%であった。

田栗ら<sup>10)</sup>は miniPOC によるレジオネラリスク判定法の判定閾値を 1000 cells/mL とした。これはレジオネラニューモフィラ標準液の検出限界値に基づくものであった。一方で、田栗らは、別の報告<sup>3)</sup>で FCM 法による消毒効果の評価は塩素消毒における塩素要求量と関係し、塩素要求量を超えて消毒を行うことにより清浄化ステージに達することを述べている。

今回、田栗ら<sup>10)</sup>と同じフローサイトメーターを使用したのが、その基準値は判定閾値として適切ではなく、レジオネラ属菌の消毒効果を判定するにはより低い基準値 (630 cells/mL) が必要であった (図 3、表 1)。これは、消毒という観点から高濃度塩素消毒により細菌破壊が亢進した可能性と、測定の観点からは細菌の検出感度が一定でなかった可能性が考えられる。いずれにせよ、FCM 法により高濃度塩素洗浄後の消毒効果を判定するためには、予めレジオネラ属菌や大腸菌などの標準懸濁液を準備して、消毒条件に基づく基準値と標準試料の検出限界を決定するなど、評価の妥当性を確認する必要があると考えられた。すなわち、高濃度塩素消毒の効果を判定する場合には通常の塩素管理の状態と区別する必要

がある。

表 2 に 95 検体の浴槽水の測定結果から FCM 細菌数の分布に応じてレジオネラ属菌遺伝子検査陽性、平板培養法陽性の試料数を抽出して示した。この結果からも FCM 法の測定値が高くなるほどレジオネラの陽性率が上がっており、特に FCM 法の測定値が 10,000 cells/mL を超えた全ての試料について遺伝子検査、平板培養法ともにレジオネラ属菌陽性であった。一方、100~999 cells/mL と 1000~9999 cells/mL のレジオネラ属菌遺伝子の陽性率はそれぞれ 38% と 65%、レジオネラ属菌生菌の陽性率はそれぞれ 9% と 30% にすぎなかった。これは高濃度塩素消毒処理が影響しており、FCM 法によるレジオネラ属菌リスク評価の特異度が低いことにつながっていると考えられた (表 1、表 2)。なお、FCM 法は標的が細菌全体でレジオネラ属菌を特異的に検出しているわけではなく、あくまでレジオネラ属菌リスクの迅速判定法であり、平板培養法の代替法としての利用を想定していない。塩素濃度が低く FCM 法の測定値が高い場合はレジオネラ属菌の生菌検出のリスクが高くなることは間違いなさそうである。

以上の結果を踏まえて、現場施設における現場測定を 2 施設において実施した (表 3、4)。施設 A では FCM の測定値が総じて高く、大半の検体が閾値 630 CFU/mL を超えていた。すなわち高濃度塩素消毒の効果が不十分と判定された。しかしながら、施設 A は天然温泉であり、温泉由来の茶褐色の濁質が多く存在することでノイズが生じ、FCM 測定値が高い傾向となることが考えられた。判定は別の検査でも裏付けられており、実験室持ち帰りの 8 試料中 7 試料からレジオネラ属菌遺伝子が検出され、消毒が不十分と考えられた。この施設 A は過去に源泉タンクからレジオネラ属菌の生菌が検出されており、濁質が多いことも相まって系内にバイオフィームが残存している可能性が示唆された。

施設 B は FCM 法による細菌数の測定値が

低く、閾値を超えることがなく、PCR、平板培養法でもレジオネラ属菌不検出であった。すなわち高濃度塩素消毒の効果は十分に発揮されていたことが裏付けられた。レジオネラ属菌検出の経験がなく、日頃から衛生管理が徹底されており、洗浄消毒の効果が得られやすいと考えられた。例数は少ないが、高濃度塩素消毒の効果判定に、FCM 細菌数を現場で実施することができた。

#### D. まとめ

FCM 細菌数が多いほどレジオネラ遺伝子量が多く、平板培養法によるレジオネラ属菌の生菌も検出される傾向となった。これまでの研究と比較して、高濃度塩素消毒後は FCM 細菌数による判定閾値は低くなった。濁質を多く含む天然温泉では、ノイズが生じて FCM 法の測定値が高くなる傾向にあるが、FCM 細菌数は、迅速に測定結果が得られること、現場に持ち込んでの測定が可能なこと、そしてレジオネラ汚染との相関が見られることから、浴槽水の衛生管理や高濃度塩素による消毒効果の評価に提案したい。

#### E. 参考文献

1. Taguri, T, Oda, Y, Sugiyama, K, Nishikawa, T, et.al., A rapid detection method using flow cytometry to monitor the risk of Legionella in bath water. J. Microbiol. Methods, 86, 25–32, 2011.
2. Taguri, T, et.al., Bacterial counts by flow cytometry can determine presence/absence of Legionella in bath water. In the 10th International Conference on Legionella 2022, P-53, 2022.
3. 田栗 利紹ら, フローサイトメトリー法における不連続点を越えた塩素消毒の清浄化判定, 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 23 年度総括・

- 分担研究報告書, 研究代表者: 倉 文明, 53–56, 2011.
4. 金谷 潤一ら, 入浴施設の環境水におけるレジオネラ迅速検査ガイドライン作成, 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」令和 2 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 66–75, 2020.
  5. Inoue, H., et al., Detection of *Legionella* species in environmental water by the quantitative PCR method in combination with ethidium monoazide treatment. *Biocontrol Sci.*, 20, 71-74, 2015.
  6. 田栗利紹ら, 携帯型フローサイトメーターによる環境水中レジオネラリスクの現地評価技術の標準化, 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」令和 3 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 52–86, 2021.
  7. Inoue, H., et al., Phylogenetic characterization of viable but-not-yet cultured *Legionella* groups grown in amoebic cocultures: a case study using various cooling tower water samples. *Biocontrol Sci.*, 24, 39-45, 2019.
  8. タカラバイオ, Cycleave PCR™ *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit 取扱説明書, [https://catalog.takara-bio.co.jp/PDFS/cy240\\_cy240s\\_j.pdf](https://catalog.takara-bio.co.jp/PDFS/cy240_cy240s_j.pdf).
  9. International Organization for Standardization. Water quality – Detection and enumeration of *Legionella*. ISO 11731: 2017.
  10. 田栗 利紹ら, レジオネラ属菌検査が現地で可能となるフローサイトメトリー技術の開発, 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」平成 29 年度総括・分担研究報告書, 研究代表者: 前川純子, 87–93, 2017.

**F. 研究発表**  
なし

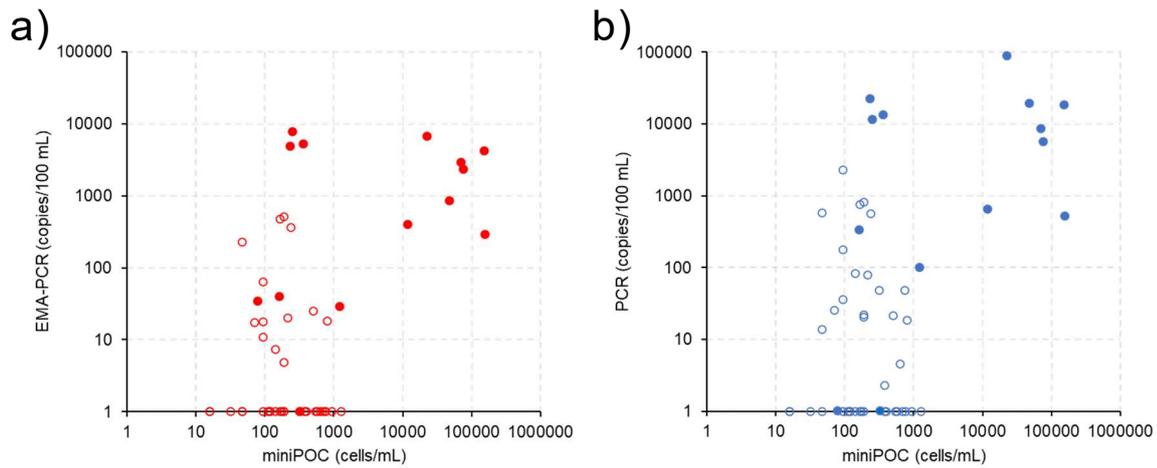


図 1 FCM (miniPOC) による全菌数とレジオネラ遺伝子量 (a は EMA 処理あり、b は EMA 処理なし) の関係 ( $n = 54$ )

●は平板培養で生菌検出，○は平板培養で生菌不検出

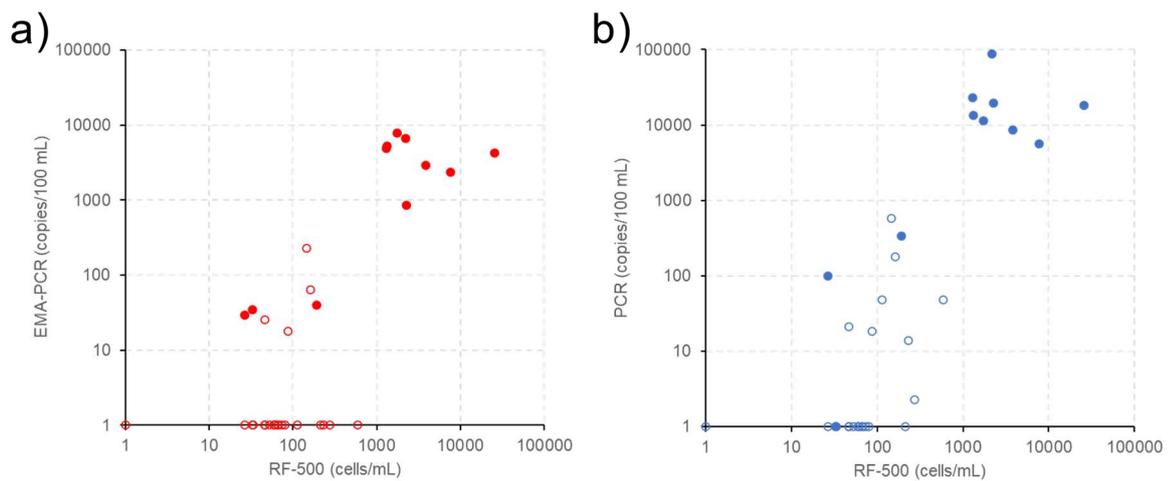


図 2 FCM (RF-500) による全菌数とレジオネラ遺伝子量 (a は EMA 処理あり、b は EMA 処理なし) の関係 ( $n = 34$ )

●は平板培養で生菌検出，○は平板培養で生菌不検出

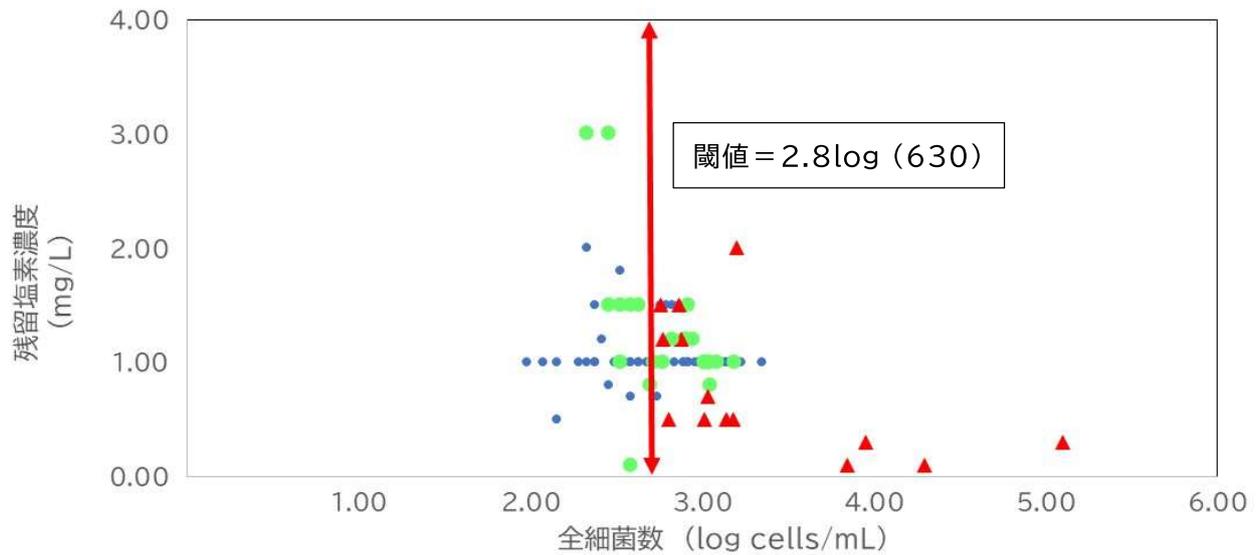


図3 残留塩素濃度とFCM (miniPOC) による全菌数の関係と消毒効果の判定閾値 ( $n = 95$ )

●レジオネラ不検出 ●レジオネラ遺伝子検出 ▲平板法レジオネラ検出

表1 基準値に基づくFCMの測定値と平板培養法の陽性の関係 ( $n = 95$ )

		レジオネラ平板法	
		$\geq 10$ CFU/100mL	$< 10$ CFU/100mL
フローサイトメトリー	洗浄効果なし $\geq 630$ (cells/mL)	15	38
	洗浄効果あり $< 630$ (cells/mL)	0	42
合計		15	80

感度:100%, 特異度:53%, 有効性:60%

表2 FCMの測定値と遺伝子検査法および平板培養法の陽性の関係 ( $n = 95$ )

FCM(miniPOC) の測定値 (cells/mL)	試料数	LAMP/PCR 陽性試料数	平板培養法 陽性試料数
100未満	2	0 (0%)	0 (0%)
100-999	68	26 (38%)	6 (9%)
1000-9999	23	14 (65%)	7 (30%)
10000以上	2	2 (100%)	2 (100%)
合計	95	42 (45%)	15 (16%)

表3 施設 A の測定結果

	FCM (cells/mL)	レジオネラ PCR (+/-)	レジオネラ平板培養 (CFU/100 mL)
浴槽 1	6,167	+	<10
浴槽 2	1,857	+	<10
浴槽 3	476	-	<10
浴槽 4	4,857	+	<10
浴槽 5	6,095	+	<10
浴槽 6	1,952	+	<10
浴槽 7	571	+	<10
浴槽 8	3,619	+	<10

FCM は現場測定，PCR と平板培養は持ち帰り測定

表 4 施設 B の測定結果

	FCM (cells/mL)	レジオネラ PCR (+/-)	レジオネラ平板培養 (CFU/100 mL)
浴槽 1	95	-	<10
浴槽 2	190	-	<10
浴槽 3	190	-	<10
浴槽 4	190	-	<10
浴槽 5	190	-	<10
浴槽 6	95	-	<10

FCM は現場測定，PCR と平板培養は持ち帰り測定

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）

公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

研究代表者 泉山 信司 国立感染症研究所

分担研究報告書

レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡便な検査法の開発

研究分担者

○金谷 潤一 富山県衛生研究所

研究協力者

井上 浩章	アクアス株式会社	枝川 亜希子	大阪健康安全基盤研究所
小池 真生子	大阪健康安全基盤研究所	西澤 尚文	株式会社ゴーフォトン
三谷 康正	株式会社ゴーフォトン	花輪 由記	さいたま市健康科学研究センター
大島 萌愛	富山県衛生研究所		

研究要旨

富山県の入浴施設におけるレジオネラ汚染の実態把握と、採水現場で測定可能なモバイル qPCR 法の検討を行った。モバイル qPCR 法は、これまで構築してきたプロトコルをさらに改良した、微細流路チップを用いたろ過濃縮・簡易 DNA 抽出法を用いた。検水の約 3 割からレジオネラ属菌が陽性となり、レジオネラ症の主な原因菌である *Legionella pneumophila* 血清群 1 が含まれていたことから、入浴施設における衛生管理の一層の徹底が必要と考えられた。ここから 44 検体をモバイル qPCR 法の検討に用いたが、4 検体は詰まって全量 40mL の半量程度しかろ過濃縮できなかった。濃縮できた 40 検体の平板培養法の成績（浴槽水、シャワー水・カラン水：陽性 13、陰性 27）を基準として、モバイル qPCR 法の感度は 84.6%、特異度は 92.6%、陽性的中率は 84.6%、陰性的中率は 92.6%、一致率は 90.0%であった。濃縮できなかった 4 検体を除外した比較にはなるが、モバイル qPCR 法の感度は LAMP 法と同等、特異度と一致率は LAMP 法や qPCR 法より高く、比較した中でモバイル qPCR 法が培養法の結果に最も近かった。参考としてモバイル qPCR 法の再現性は、例数は少なく 16 倍に希釈した試料を用いたものの、5 機関の実験室で冷凍 6 検体（4 陽性、2 陰性）の輸送試料を用いた結果がおよそ一致した。モバイル qPCR の反応にはインターナルコントロールの反応も含まれており、その 5 機関におけるネガティブコントロールの（インターナルコントロールの）Ct 値は、 $31.8 \pm 1.0$  と安定であった。モバイル qPCR 法は、レジオネラ属菌の検査経験があれば問題なく実施可能かつ、現場測定により他の検査法よりも迅速に平板培養法に近い結果が得られる有用な検査法と考えられた。

## A 研究目的

2024 (R6) 年の国内におけるレジオネラ症患者報告数は、2,419 件 (暫定値) であり、前年比 106.5%であった<sup>1,2)</sup>。レジオネラ症対策として、感染源のおよそ 4 割を占める入浴施設の衛生管理の向上は重要である<sup>3)</sup>。したがって、入浴施設におけるレジオネラ属菌の汚染実態を把握するため、公衆浴場におけるレジオネラ属菌の検出状況を調査した。

浴槽水などを対象としたレジオネラ属菌検査は、濃縮検体を用いた平板培養法が広く普及している。しかしながら、レジオネラ属菌は発育が遅く、検査結果が判明するまでに 7~10 日を要する。そのため、培養法と関連する遺伝子検査法は、入浴水の衛生状態を的確に、かつ早期に把握する点から重要な方法である。近年、モバイル型のリアルタイム PCR 装置が普及し始めており、採水現場で直接レジオネラ属菌の遺伝子検出による、迅速な結果の還元も可能な状況となりつつある。本研究では、採水現場で測定可能なモバイル型装置を使用した qPCR 法 (モバイル qPCR 法) について、平板培養法や他の遺伝子検査法 (qPCR 法および LAMP 法) との相関を検討した。モバイル qPCR 法をより簡便に行えるよう、これまで構築してきたプロトコルの改良も目指した。

## B 材料と方法

### 1 検査材料

2024 (R6) 年に富山県内の公衆浴場から採水した浴槽水 30 検体、シャワー水 8 検体、カラン水 8 検体を用いた。浴槽水は、浴槽の中央付近上部から採水した。シャワー水・カラン水は、温度を約 35~40°C に設定し、たまり水も含めて採水したが、温度調節が出来ない設備の場合は、そのまま採水した。すべての検体について、チオ硫酸ナトリウム入り滅菌採水瓶に 500 mL×2 本採水した。46 検体について培養試験を実施した。このうち 2 検体についてはモバイル qPCR 法を実施できなかったため、遺伝子検査法の比較対象とする LAMP 法、qPCR 法についても実施しなかった。モバイル qPCR 法には濃縮前の検水を用いた。フィルター吸引ろ過に

より 100 倍濃縮液を用意して、培養試験、LAMP 法、qPCR 法に使用した。

### 2 平板培養法

平板培養法は、「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法 (薬生衛発 0919 第 1 号)」に準じて実施し、10 CFU/100 mL 以上を陽性とした。分離菌の血清型別は、病原体検出マニュアル (国立感染症研究所) に従い加熱抗原を作製後、レジオネラ免疫血清 (デンカ) および *Legionella* Latex Test (Thermo Fisher Scientific) を用いて実施した。

### 3 モバイル qPCR 法

微細流路チップ (ピリューチップ、ゴーフトン) を固定治具 (ゴーフトン) にセットし、検水 40 mL をシリンジでフィルターろ過した<sup>4)</sup>。滅菌水で洗浄後、カネカ簡易 DNA 抽出キット version2 (カネカ) を用いて DNA を抽出した。A 液 20 µL をフィルターに添加後、固定治具ごと 60°C のヒートブロックで 2 分間加熱した。ここから回収した試料 (約 15~20 µL) に、B 液 2 µL と混合して、1 反応あたり 5 µL を鋳型 DNA として PCR に用いた。なお、44 検体を対象に実施したが、4 検体はフィルターが詰まってる過できなかったため、40 検体の平板培養法の成績 (浴槽水、シャワー水・カラン水: 陽性 13、陰性 27) と比較した。

qPCR 反応は、PicoGene® *Legionella* spp. Kit (ゴーフトン) および PicoGene® PCR1100 (ゴーフトン) を用いて実施し、レジオネラ遺伝子およびインターナルコントロールを検出した。なお、このモバイル qPCR 法の成績は、他の検査と同様に試験室で行い、現場では行ったものではない。標的遺伝子が検出された場合 (Ct 値 42 未満) を陽性と判定した。

### 4 LAMP 法

検水の 100 倍濃縮液 2 mL を用いて、Loopamp レジオネラ検出試薬キット E (栄研化学) を使用して取扱説明書に従い実施した。標的遺伝子が検出された場合を陽性と判定した。

## 5 qPCR 法

使用する各種試薬の取扱説明書に従い実施した。100倍濃縮検体 1 mL から Lysis Buffer for *Legionella* (タカラバイオ) を用いて DNA を抽出後、Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit (タカラバイオ) を用いて qPCR 反応を実施した。標的遺伝子が検出された場合 (Ct 値 45 未満) を陽性と判定した。

## 6 複数機関でのモバイル qPCR 法の評価

同一検体を 5 機関で評価した。3 mL の冷凍した検水 12 本 (6 検体×2 回分) を各機関に送付した。各機関では、解凍後に滅菌水 45 mL を添加して 16 倍希釈後、通常の検水とみなしてモバイル qPCR 法を実施した。

## C 結果

### 1 平板培養法による結果

浴槽水の 30% (9/30 検体)、シャワー・カラン水の 31% (5/16 検体) から 10 CFU/100 mL 以上のレジオネラ属菌が検出された (表 1)。菌数別に見ると、浴槽水では 10~99 CFU/100 mL が 6 検体、100~999 CFU/100 mL が 2 検体、1,000 CFU/100 mL 以上が 1 検体であった。一方、シャワー・カラン水では 10~99 CFU/100 mL が 4 検体、100~999 CFU/100 mL が 1 検体であった。分離菌の血清群別の結果、*L. pneumophila* 血清群 1 が浴槽水の 6 検体、シャワー・カラン水の 3 検体から分離され、最も多かった (表 2)。

### 2 モバイル qPCR 法による結果

44 検体について実施したが、4 検体はフィルターが詰まり、半量程度しかろ過できなかった。40 検体中、13 検体 (32.5%) が陽性となった (表 3A)。濃縮できなかった 4 検体を除外した比較にはなるが、40 検体の平板培養法を基準として、モバイル qPCR 法の感度は 84.6%、特異度は 92.6%、陽性的中率は 84.6%、陰性的中率は 92.6%、一致率は 90.0%であった。

### 3 LAMP 法による結果

44 検体について実施した結果、22 検体 (50.0%) が陽性となった (表 3B)。平板培養法に対する感度は 85.7%、特異度は 66.7%、陽性的中率は 54.5%、陰性的中率は 90.9%、一致率は 72.7%であった。

### 4 qPCR 法による結果

44 検体について実施した結果、30 検体 (68.2%) が陽性となった (表 3C)。平板培養法に対する感度は 92.9%、特異度は 43.3%、陽性的中率は 43.3%、陰性的中率は 92.9%、一致率は 59.1%であった。

### 5 モバイル qPCR 法および qPCR 法における、ろ過から DNA 抽出までの抽出効率の比較

同一検体からモバイル qPCR 法および qPCR 法を目的に抽出した 2 つの DNA を、2 つとも Cycleave PCR *Legionella* (16S rRNA) Detection Kit を用いて qPCR 反応を行い、DNA 抽出方法の違いを Ct 値で比較した。40 検体について検討した結果、モバイル qPCR 法と qPCR 法の相関係数は 0.84 であった。両方の方法で陽性となったのが 14 検体、両方陰性が 13 検体、モバイル qPCR 法のみ陽性が 1 検体、qPCR 法のみ陽性が 12 検体であった。qPCR 法のみ陽性の 12 検体中の 11 検体は、Ct 値が 36 より高く、培養陰性であった (図 1)。

### 6 モバイル qPCR 法の 5 機関での再現性評価

冷凍送付した 6 検体 (6 検体×2 回分) を 5 機関で評価した結果を図 2 に示した。すべての機関で 4 検体陽性、2 検体陰性、ネガティブコントロール (NC) 陰性となり、判定結果はおよそ一致した (図 2A)。ただし、陽性と判定した 4 検体のうち、機関 B、D については 2 検体が、2 回のうち 1 回の実施でレジオネラ遺伝子およびインターナルコントロールが検出されず、希釈試料を用いたにも関わらず、増幅阻害と判定された (図 2B、C)。また、陽性と判定した機関 D の 1 検体については、2 回のうち 1 回の実施でレジオネラが検出されず、偽陰性と判定された。この検体のインターナルコントロールの Ct 値は 37.6 であった。5 機関における NC のインターナルコントロールの Ct 値は、 $31.8 \pm 1.0$

の範囲内であった（図 2C）。

## 7 冷蔵検体と冷凍検体を用いたモバイル qPCR 法の比較

上述の結果から一部の冷凍保存検体で反応阻害が確認されたため、検水を冷凍保存することによる影響を検討した。この検討には、16 倍希釈ではなく、検水原液の 4 検体を用いた。冷蔵および冷凍保存後の試料から、核酸抽出～モバイル qPCR 法を行い比較した。その結果、4 検体すべてで、冷凍後はインターナルコントロールの Ct 値が高くなる、もしくは不検出となった（表 4）。レジオネラ遺伝子についても同様の傾向であった。

## D 考察

富山県内における入浴施設のレジオネラ属菌の汚染実態を調査した結果、検水の約 3 割からレジオネラ属菌が検出され、入浴施設の水系にはレジオネラ属菌がある一定の割合で生息していた。レジオネラ症は、レジオネラ属菌を含むエアロゾルを吸い込むことが原因で発症することから、特にエアロゾルが多く発生するシャワー水の管理は重要である。衛生管理状況を見直し、適切な消毒等により対策をとる必要がある。検出されたレジオネラ属菌を菌種・血清群別に見ると、浴槽水およびシャワー・カラン水からは *L. pneumophila* 血清群 1 が最も多く検出された。*L. pneumophila* 血清群 1 はレジオネラ肺炎の原因菌の 80%以上を占めるため、軽視できない状況であった<sup>5, 6)</sup>。

モバイル qPCR 法の検討では、今年度は採水現場での測定を想定し、微細流路チップを用いたろ過濃縮法と市販試薬の簡易 DNA 抽出法を組み合わせた新たな方法を検討した。ほとんど（40/44 検体）の検体については問題なく実施できた一方で、目視で茶褐色の沈殿が認められた 4 検体（1 施設）については、フィルターが詰まって半量程度しかろ過できなかった。したがって、このような検体についてモバイル qPCR 法を実施する場合には、ろ過できた範囲で試験することが考えられる。ろ過水量の倍半分は、qPCR にとっては Ct 値が 1 の違いでしかなく、NC のインターナルコントロー

ルの誤差程度（±1）の違いでしかない。レジオネラ検査は多い水量を濃縮してから一部だけを検査しているが、その理由は想像するに、バイオフィームなどの分散していない試料であっても、精度良く定量できるようにするためであり、濃縮できない試料の検査を排除することが目的ではない。もし半量が気になるのであれば、2 枚のフィルターで半量ずつ濃縮を実施し、同じ抽出液を用いて順番に DNA を抽出して濃縮率を合わせる方法もありえる。

平板培養法を基準にしたモバイル qPCR 法の相関は、濃縮できなかった 4 検体を除いた 40 検体の場合、感度は LAMP 法と同等、特異度と一致率は LAMP 法や qPCR 法より高く、検討した範囲で最も平板培養法に近いものであった。仮に濃縮のできなかった 4 試料を不検出相当とみなしたとしても（感度 78.6%、特異度 93.3%、陽性的中率 84.6%、陰性的中率 90.3%、一致率 88.6%）、平板培養法に近い結果であった。試験した範囲では、モバイル qPCR 法が、現場で最も早く、平板培養法に近い結果が得られることとなった。

モバイル qPCR 法が平板培養法に近い結果が得られた理由として、ろ過から DNA 抽出までの抽出効率が qPCR 法と比較して低いため、平板培養法陰性であっても qPCR 法では少ない遺伝子量（高い Ct 値）が検出された検体については、モバイル qPCR 法では検出されなかった可能性が考えられた。しかし、同一検体からモバイル qPCR 法および qPCR 法で抽出した DNA の遺伝子量を qPCR 法の Ct 値で比較した結果は両者の相関を示しており、全体的に qPCR 法で抽出した DNA の方が遺伝子量が多かったとしても、モバイル qPCR 法を目的とした DNA のろ過抽出方法には問題がないと考えられた。モバイル qPCR 法が、丁度良く感度が低いことについては、検査にとって都合が良いと言えた。一方、qPCR 法でのみ陽性となった 12 検体中 11 検体は、平板培養法で陰性であったことから、死菌を感度良く検出した可能性が考えられた。

冷凍保存した 6 検体（16 倍希釈）を用いてモバイル qPCR 法を行って施設間の再現性を見たが、5 機関の判定結果は一致した。NC のインターナルコントロールの

Ct 値も安定しており、モバイル qPCR 法は通常レジオネラ属菌の検査を実施している機関・実施者であれば、問題なく実施可能な方法と考えられた。一部の検体については、希釈したにも関わらず遺伝子の増幅阻害が認められたが（インターナルコントロールの Ct 値が 37.6 と高い）、事後の検討により、冷凍保存した検体は増幅阻害が生じることが判明した。冷凍保存した検体ではフィルターろ過の際に詰まりやすい傾向にあったため、冷凍することにより目視では確認できない結晶などが生じた、凍結融解で DNA の分解が促進したなどにより、遺伝子増幅を阻害する影響があった可能性が考えられた。本研究では同一検体を複数機関で検討するため検水を冷凍輸送したが、実際の検査では検水を冷凍することなくモバイル qPCR 法を実施するため、この悪影響は問題にならない。現に冷凍前の、希釈をしていない、濃縮できた 40 検体では、この悪影響を受けていない。仮に現場試験で増幅阻害がかかれば、インターナルコントロールの反応から問題が把握でき、一旦は判定不能とする、あるいは鋳型量を減らして再試験する、試験室に持ち帰って通常の検査に切り替える、といった次善策での対応が考えられる。

以上の通り、本研究で検討したモバイル qPCR 法は、平板培養法と 관련된 遺伝子検査法として有用であると 考えられた。

## E 結論

富山県内における入浴施設のレジオネラ属菌の汚染実態を調査した結果、検水の約 3 割からレジオネラ属菌が検出され、入浴施設の水系にはレジオネラ属菌がある一定の割合で生息していた。レジオネラ症の主な原因菌である *L. pneumophila* 血清群 1 が検出されたため、レジオネラ症発生防止のためには、施設の衛生管理が重要であると考えられた。モバイル qPCR 法の検討では、今年度は採水現場での測定を想定し、微細流路チップを用いたろ過濃縮・簡易 DNA 抽出法を組み合わせた新たな方法を検討した。平板培養法を基準として、モバイル qPCR 法の感度は LAMP 法と同等、特異度と一致率は LAMP 法や qPCR 法より高く、モバイル

qPCR 法は平板培養法に近い結果が得られる遺伝子検査法として有用と考えられた。5 機関でモバイル qPCR 法を実施した結果、判定結果は概ね一致した。

## 参考文献

- 1) 国立感染症研究所感染症発生動向調査週報 (IDWR) 速報データ 2024 年第 52 週。  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/data/13081-idwr-sokuho-data-j-2452.html>
- 2) 国立感染症研究所感染症発生動向調査週報 (IDWR) 速報データ 2023 年第 52 週。  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/data/12442-idwr-sokuho-data-j-2352.html>
- 3) Amemura-Maekawa J, et al. *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species isolated from legionellosis patients in Japan between 2008 and 2016. *Appl Environ Microbiol.* 2018, 84(18), pii: e00721-18.
- 4) 井上浩章, 他: 微細流路チップとモバイルリアルタイム PCR 装置を用いたオンサイトでのレジオネラ属菌迅速検査に関する検討. 日本防菌防黴学会第 50 回年次大会. 2023.8.29-30.
- 5) Yu VL, et al. Distribution of *Legionella* species and serogroups isolated by culture in patients with sporadic community-acquired legionellosis: an international collaborative survey. *J Infect Dis*, 2002, 186(1), 127-128.
- 6) Amemura-Maekawa J, et al. Characterization of *Legionella pneumophila* isolates from patients in Japan according to serogroups, monoclonal antibody subgroups and sequence types. *J Med Microbiol*, 2010, 59 (Pt 6), 653-659.

## F 研究発表

- 1) Kanatani J, et al. Prevalence and molecular epidemiology of Legionnaires' disease in Toyama Prefecture, Japan. The 8th ESGLI Meeting. Dresden, Germany. October 2024.

## G 知的財産権の出願・登録状況 なし

表1. 検出されたレジオネラ属菌の菌数

CFU/100 mL	検体数(%)	
	浴槽水	シャワー・カラン水
< 10	21 (70.0)	11 (68.8)
10-99	6 (20.0)	4 (25.0)
100-999	2 (6.7)	1 (6.3)
> 1,000	1 (3.3)	0 (0)
計	30 (100)	16 (100)

表2. 分離菌の菌種・血清群

菌種・血清群	検体数	
	浴槽水	シャワー・カラン水
<i>L. pneumophila</i> 血清群1	6	3
<i>L. pneumophila</i> 血清群3		1
<i>L. pneumophila</i> 血清群4	4	
<i>L. pneumophila</i> 血清群5		2
<i>L. pneumophila</i> 血清群6		2
<i>L. pneumophila</i> 血清群8	2	1
<i>L. pneumophila</i> 血清群9	1	
<i>L. pneumophila</i> 血清群10	1	
<i>L. micdadei</i>	1	

表3. 平板培養法と各種遺伝子検査法との相関

A) モバイルqPCR法\*

		平板培養		
		+	-	計
モバイルqPCR	+	11	2	13
	-	2	25	27
		13	27	40

\*4検体は、フィルターが詰まりろ過できなかった

感度	84.6%
特異度	92.6%
陽性的中率	84.6%
陰性的中率	92.6%
一致率	90.0%

B) LAMP法

		平板培養		
		+	-	計
LAMP	+	12	10	22
	-	2	20	22
		14	30	44

感度	85.7%
特異度	66.7%
陽性的中率	54.5%
陰性的中率	90.9%
一致率	72.7%

### C) qPCR法

	平板培養			
	+	-	計	
タカラqPCR	+	13	17	30
	-	1	13	14
		14	30	44

感度 92.9%  
 特異度 43.3%  
 陽性的中率 43.3%  
 陰性的中率 92.9%  
 一致率 59.1%

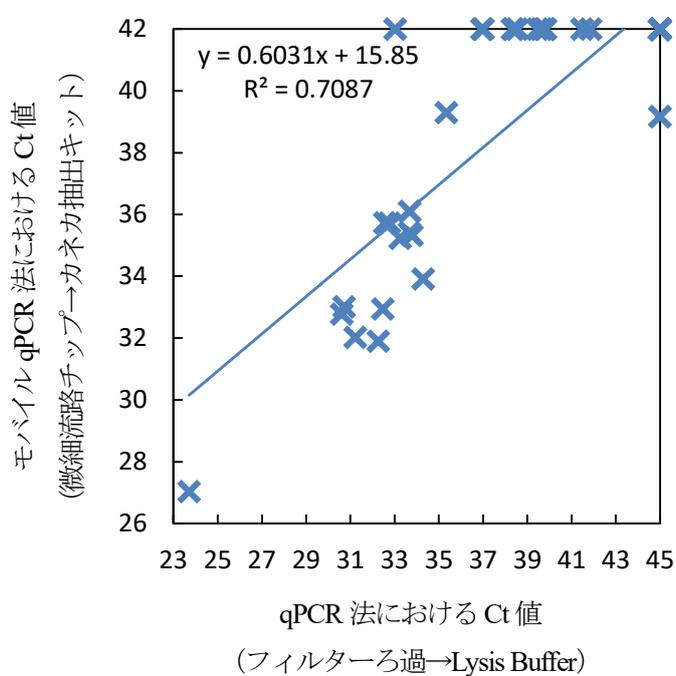


図1. モバイルqPCR法およびqPCR法で抽出したDNAの遺伝子量(Ct値)の比較  
 モバイルqPCR法におけるCt値42、qPCR法におけるCt値45は不検出を意味する。

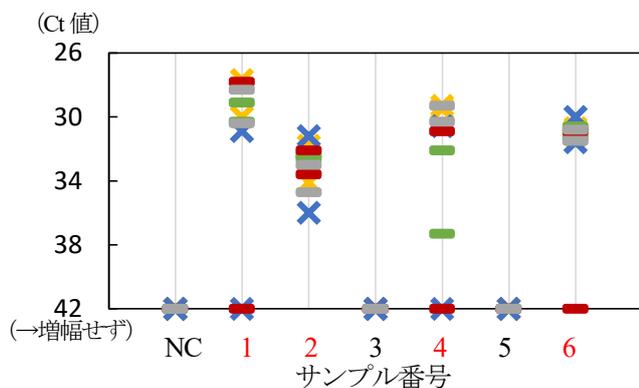
A) 判定結果まとめ (N=2)

サンプル番号	機関A	機関B	機関C	機関D	機関E
NC	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
1	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性
2	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性
3	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
4	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性
5	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
6	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性

\*青下線は、2回のうち1回の測定において増幅阻害が確認された検体

\*青点線は、2回のうち1回の測定において偽陰性となった検体

B) Ct 値まとめ (レジオネラ遺伝子)



C) Ct 値まとめ (インターナルコントロール)

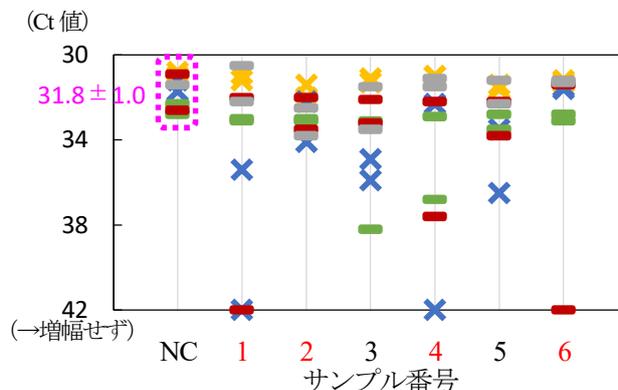


図2. 冷凍保存同一検体を用いた5機関でのモバイル qPCR 法の評価結果

Ct 値 42 は不検出を意味する。

黄色×印；機関 A、青色×印；機関 B、緑色一印；機関 C、赤色一印；機関 D、灰色一印；機関 E。

表4. 冷蔵検体と冷凍検体を用いたモバイル qPCR 法の比較

検体	標的 遺伝子	Ct値	
		冷蔵	冷蔵検体を 4日間冷凍
検体A	Leg	不検出	不検出
	IC	31.2	不検出
検体B	Leg	34.8	不検出
	IC	32.1	不検出
検体C	Leg	25.3	30.7
	IC	30.7	31.5
検体D	Leg	26.6	32.0
	IC	30.8	31.2

令和6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）  
「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究（22LA1008）」  
研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所寄生動物部  
分担研究報告書

保健所、衛生部局による公衆浴場でのレジオネラ症対応、監視指導の実態

研究分担者 小坂浩司 国立保健医療科学院生活環境研究部  
黒木俊郎 岡山理科大学獣医学部  
研究協力者 沢田牧子 国立保健医療科学院生活環境研究部

研究要旨

保健所等の職員を対象に、公衆浴場等でのレジオネラ症対応、監視指導の実態についてアンケート調査を行った。回答のあった21自治体36保健所等において、生活衛生関係施設に関する業務を行う部署の職員数は4～53人、平均は16.7人、中央値は14人で、そのうち監視員数は、0～31人、平均は7.6人、中央値は6人であった。各保健所等管内の令和4年度の監視施設割合は0～100%であり、平均値は旅館業で34.2%、公衆浴場で53.3%、特定建築物で25.9%であることから、概ね2～4年に1回の頻度で全施設に立入検査を行っていると考えられた。

調査対象の全てで、国の規定もしくは都道府県や市独自の規定のどちらか、もしくは両方を基に監視指導を行っていることがわかった。旅館業や公衆浴場の施設を対象としたレジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」は81%で整備されており、レジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等も67%で整備されていた。また、モノクロラミン消毒を条例あるいは他の規程で認めていたのは70%であった。通常の監視業務を行う際の立入検査人数は、1～4人の範囲、平均は1.7人で、所要時間は、15～120分の範囲、平均53.2分であった。

浴槽水の換水頻度等の維持管理記録は立ち入り全施設で確認が行われており、浴槽水や貯湯槽、ヘアキャッチャー、残留塩素濃度等の衛生状態も94%以上で（目視）確認されていた。また、立入検査時の「DPD法による遊離塩素濃度測定」は、97%の保健所等で導入されていることがわかった。

浴槽水等の水質、並びにレジオネラ属菌の検査結果は、前者が89%、後者が75%の大半が、立入検査時に確認されていた。浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の探知方法は、「施設からの報告」が100%と最も高く、保健所等としては、受け身の体制が主であることが判明した。浴槽水等における近年3年間のレジオネラ属菌の陽性検出は、80.6%の保健所等で検出報告を受けたことがあった。

レジオネラ症対策に関する内部向けの研修は、半数以上の保健所等で定期的実施されていた。その道具として、大半の保健所等で「都道府県や市・区が主催する研修、勉強会」（72%）や、「厚生労働省のHPや発出版物」（83%）を活用しており、次いで「厚生労働科学研究の研究成果」（61%）と本研究も一役を担っていた。「前任者や先輩職員等からのOJT」については、78%と非常に高い割合であり、経験を実地で継承していくことの重要性を改めて認識することとなった。

法改正等が行われた際や衛生管理に関する情報の、公衆浴場等に向けた伝達に関しては、「情報発信は行っていない」は0%であり、説明会や講習会、立入検査時や通知等、方法は様々ではあるが何らかの情報発信を行っていることがわかった。講習会、研修会、説明会等を行うにあたり、特に、衛生対策やレジオネラ症対策に関する全国共通の資料の提供が求められていること、また、地域の情報等を追加できるよう加工可能な電子データでの提供が強く求められていることがわかった。

A. 研究目的

近年、医療機関や公衆浴場等の生活衛生関係施設におけるレジオネラ症患者の発生やレジオネラ属菌の検出が問題となっている。レジオネラ症の原因となるレジオネラ属菌は水環境中でアメーバに寄生する形で増殖し、特に給湯設備

や循環式浴槽、冷却塔、加湿器などの人工的な水環境に注意が必要となる。これらの設備を有する施設では適切な衛生管理が必要であるが、実態としては不適切な管理体制、例えば情報や人材の不足によって、不十分な管理状況となっている部分がある。また、施設運営の管理者の側だ

けでなく、施設営業の許認可や監視指導を担当する側にとっても、情報や人材の確保は重要な課題となっている。都道府県や市、区の保健所や衛生部局等は、生活衛生関係営業（旅館、公衆浴場、理・美容所、クリーニング所、興行場等）の監視指導等、建築物衛生法上に基づく特定建築物の衛生確保指導等を行い、環境衛生監視員がその中心的な役割を担っている。これらを行う保健所等の働きが、直接間接に、施設の衛生向上に寄与するものであり、保健所等への支援は大事な課題の一つと考えられる。

そこで今回、環境衛生監視員を主な対象として、保健所等の現場でレジオネラ症の発生と関係の深い施設（公衆浴場や旅館業）への指導状況等の実態を把握するため、アンケート調査を実施した。

なお、本調査は実態把握のために行うものであり、各組織や個人の特定や問題点を調べるものではない。

## B. 研究方法

### 1. アンケート調査票の作成

生活衛生関係施設のうち、公衆浴場や旅館業に対する指導監督の状況や施設との関係性、監視員の状況について知るためのアンケート調査票を作成した。その内容は以下のとおりである。

（表 1）

- （1）環境衛生担当部署に係る情報（3問）
- （2）監視指導に係る規定等について（3問）
- （3）監視指導に係る状況等について（8問）
- （4）浴槽水のレジオネラ属菌等に係る対策について（8問）
- （5）所管内のレジオネラ症患者の対応状況について（近年3年間；令和2～4年度）（6問）
- （6）環境衛生監視員に対する研修等について（6問）
- （7）事業者に対する対応状況（5問）

### 2. 調査方法

生活衛生関係施設のうち、公衆浴場や旅館業に対する指導監督等を行う都道府県や市、区の保健所・衛生部局の職員を対象としたアンケート調査を実施した。アンケート調査票は、調査依頼書と共にメール送付した。

なお、調査回答期間は、2023年（令和5年）11月～2024年（令和6年）2月とした。

### 3. 調査対象者

- ・令和5年度国立保健医療科学院短期研修環境衛生監視指導研修受講者
- ・本研究班関係の保健所等職員

### 4. 回答数

46自治体に対してアンケート調査への協力を依頼したところ、21自治体36保健所から36回答を得た。この36回答から集計及び解析を行っ

た。図表における構成比は小数点以下第2位を四捨五入しているため、合計しても必ずしも100とはならない。また、複数回答ができる設問においては、構成比を算出していない。

### （倫理面への配慮）

本調査は各自治体の業務内容に関する調査であり、医学研究関連の倫理指針に関する事項、個人情報に含まれなかった。

## C. 研究結果およびD. 考察

### 1. 環境衛生担当部署に係る情報

#### 1-1 アンケート回答者の担当部署に係る情報

レジオネラアンケート調査回答者の所属先の担当部署について質問したところ、職員数は最小4人、最大53人、平均16.7人、中央値は14人であった。また、そのうち監視員数は、最小0人、最大31人、平均7.6人、中央値は6人であった（表2）。

なお、職員数については、再任用職員、臨時職員、非常勤職員並びに役職者（課長、室長、班長等）を含めた人数を記入することとし、産休や育休・病休休暇等により実勤務していない職員数は計上不要とした。また、うち環境衛生監視員数については、常勤職員、再任用職員、臨時職員、非常勤職員の区分に関わらず、有資格者として取り扱った。

得られた36回答から、所属組織名としては、保健所、保健福祉局、保健部等の様々な体制があり、部署名も生活衛生、衛生環境、食品衛生、保健衛生と様々な名称があるが、ここでは保健所等と表記することとした。

#### 1-2 所管する管内の生活衛生関係施設数（令和4年度末現在）

所管する管内の生活衛生関係施設数（旅館業、公衆浴場、特定建築物）について、表3に示す。保健所等の規模が様々であることから、生活衛生関係施設数についても差があることがわかった。また、各保健所等の生活衛生関係施設数と、1-1で回答のあった各保健所等の職員数等を基に、職員等一人あたりの施設数を算出した結果は、表4のとおりである。

#### 1-3 令和4年度監視回数（令和4年度末現在）

所管する管内の生活衛生関係施設に対する令和4年度監視施設数並びに延べ監視回数については、表5に示す。令和4年度の各保健所等管内の生活衛生関係施設に対する監視施設の割合は0%～100%で、平均値は旅館業で34.2%、公衆浴場で53.5%、特定建築物で25.9%であった。したがって、概ね2～4年に1回の頻度で全施設に立入検査を行っていると考えられた。

なお、各保健所等の生活衛生関係監視施設数及び延べ監視回数と、1-1で回答のあった各保健

所等の職員数を基に、職員一人あたりの監視数を算出した結果は、表6のとおりである。

## 2. 監視指導に係る規定等について

この質問においては、旅館業や公衆浴場関係の監視指導を行う上での規定等について質問を行った。

### 2-1 監視指導を行うにあたっての規定

保健所等の環境衛生監視員は、どのような規定に基づいて監視指導を行っているかを質問したところ、回答は表7のとおりとなった。

回答を改めて確認したところ、全ての回答で、国の規定もしくは都道府県や市独自の規定のどちらか、もしくは両方を基に監視指導を行っていることがわかった。なかでも、両方の規定を基に実施しているとの回答が22件(61%)であり、半数以上は国と自治体独自の両方の規定を基に監視指導を行っていることがわかった。なお、都道府県や市が独自に策定している規定等の一覧は表8のとおりである。

### 2-2 都道府県や市が独自に定める規定等

都道府県や市が独自に定める規定等について質問を行った。設問上「監視指導要領」「監視指導計画」「監視指導マニュアル」「監視指導手引き」「対応要領」「対応マニュアル」と表記しているが、これ以外の名称であっても、同様の趣旨のものがあれば有りとした。

#### ①監視回数や指導内容等を定める「監視指導要領」「監視指導計画」等の有無

有りとなつたのが22件(61%)、無しが13件(13%)、未回答が1件(3%)であった(表9)。半数以上の自治体で監視回数や指導内容等を定める規定を策定していることがわかった。

なお、監視回数や指導内容等を定める規定の名称一覧は表10のとおりである。

#### ②立入検査手法や監視時の指導項目等を記載した「監視指導マニュアル」「監視指導手引き」等

有りとなつたのが21件(58%)、無しが15件(42%)であった(表11)。半数以上の自治体で立入検査手法や監視時の指導項目等を記載した規定を策定していることがわかった。

なお、立入検査手法や監視時の指導項目等を記載した規定の名称一覧は表12のとおりである。

#### ③旅館業や公衆浴場の施設を対象としたレジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」等の有無

有りとなつたのが29件(81%)、無しが7件(19%)であった(表13)。8割以上の自治体で旅館業や公衆浴場の施設を対象としたレジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」等を策定していることがわかった。

なお、レジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」等の名称一覧は表14のとおりである。

#### ④レジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等の有無

有りとなつたのが24件(66.7%)、無しが11件(30.6%)、未回答が1件(3%)であった(表15)。半数以上の自治体でレジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等を策定していることがわかった。レジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等の名称一覧は表16のとおりである。

### 2-3 モノクロラミン消毒

都道府県や市において、浴槽水等の消毒方法のひとつとして、モノクロラミン消毒を認めているかどうかの質問を行った。

この結果、条例で認めているが24件(67%)、条例で認めていないがその他規定で認めているが1件(3%)と、半数以上の自治体で何らかの規定に基づきモノクロラミン消毒を認めていることがわかった(表17)。また、その他9件(25%)の回答があり、その意見として、消毒方法の規定や明記したものは無いが、消毒効果を有する場合モノクロラミン消毒を行うことを認めている回答が多数あつた。

## 3. 監視指導に係る状況等について

以降の質問においては、生活衛生関係施設のうち旅館業と公衆浴場の許可を有する施設(以下、施設とする。)に対する対応状況について質問を行った。

### 3-1 監視項目や注意事項等を記載した「監視指導票」や「チェック票」等の有無

都道府県や市独自の様式があるが21件(58%)、自治体独自で作成した様式があるが12件(33%)、また職員個人が作成した様式(5件)や過去の担当者が作成した様式(4件)も含めると、36回答者すべての保健所等に監視項目や注意事項等を記載した指導票等があることがわかった(表18)。

### 3-2 立入検査実施時の事前調整(アポイント等)

立入検査を実施する際に監視対象施設に対して、事前調整(アポイント等)をするかどうかの質問を行った。

その結果、「全ての施設に対して日程、訪問・滞在時間等の事前調整を行う」が22件(61%)、「一部の施設に対して事前調整を行う」が12件(33%)と、ほとんどの保健所等で事前調整を行っていることがわかった(表19,20)。本来であれば、抜き打ちの検査を行い、正確な管理実態を把握したいと考えるところではあるが、保健所等の業務日の関係で立入検査は平日に行われること、施設には利用者がいるため配慮が必要なこと、聞き取り時に浴場等の管理を行う担当者が不在では困ること等が事前調整を行う理由として推測される。

### 3-3、3-4 立入検査に要する人数と時間(通常監視時の代表的なケース)

集計各回答は、範囲での回答であったため、まず各回答の範囲から平均値を算出した。次に全

36 回答の平均値を求めた。

通常の監視業務を行う際の立入検査人数や所要時間について、代表的なケースを質問した。

この結果、最小 1 人～最大 4 人、平均 1.7 人で立入検査を行っていることがわかった (表 21, 図 1)。また、所要時間としては、最小 15 分～最大 120 分、平均 53.2 分となり、立入検査時間に大きな幅があった (表 22, 図 2)。

この要因としては、対象施設の施設規模の大小があり、また、男風呂・女風呂 (や脱衣所等) の両方の立ち入りに、監視員が男女ペアを組むと都合が良いこともある。旅館業と公衆浴場の両方の許可を有する場合、監視対象範囲がかなり広く、多くの項目の確認が必要となることも想定される。それから、過去にレジオネラ属菌が検出された施設や事前調整をおこなっていても施設の担当者が不在である場合、必要な資料が準備されていない場合は多くの時間を要すると考えられる。

限られた時間の中で、何を優先させて調査していくか、施設に合わせた対応が必要となり、このことは指導票だけでは判断が難しいと考えられる。これらの対応には、経験や先輩職員からのアドバイス等だけではなく、様々な経験を共有できる体制作りや監視員への助言体制が必要となってくるのではないかと考えられた。

### 3-5 立入検査時の主な監視項目

ここでは、通常の立入検査を行う際に、主に確認を行う項目、実施する項目を全て選択してもらい、立入検査時の主な監視項目についての確認を行った。また、旅館に関しては、大浴場等の共同浴室に対する項目のみを質問対象とし、客室内の浴室は除くとした。

結果は表 23 のとおりである。維持管理記録と浴槽水の換水頻度の確認は、立入検査時に全施設で行われており、浴槽水や貯湯槽、ヘアキャッチャー、残留塩素濃度等の衛生状態も 94%以上で確認されていた。これらのことから、浴槽水の衛生に直結するような項目については、重点的に毎度確認がなされていることがわかった。また、施設の衛生管理者の確認や既届出内容との相違確認も高い確率で確認を行っていることがわかった。

### 3-6 立入検査時に生じる困りごと

これまでに通常の立入検査を実施した際に生じた困りごとについて、感じたことのあるもの、近いものがあれば全て選択してもらうこととした。また、本項目の回答にあたっては、担当者自身の主観での回答をお願いした。

結果は表 24 のとおりである。特に「施設の詳細がわかる (施設側の) 担当者が不在で、監視項目を十分に確認できないことがある」が 26 件 (72%) であり、多くの保健所等で事前調整を行

っているにも関わらず、施設詳細の分かる担当者が不在となり、十分な確認ができず困っていることがわかった。保健所等の立入検査と言われると、施設側にとっては面倒なことだと感じやすいが、1 年や 2 年毎の施設の健康診断としての意味合いも強いことを広く周知できないかと考えられた。また、施設への説明資料として、全国共通の配布資料の提供が求められており、これまでの研究成果や厚生労働省として発信している情報等をわかりやすく伝える体制を整える必要性が考えられた。

その他意見ではあるが、監視員の性別により立入可能区域が限定されることで十分な監視を行うことが出来ず困っているとした意見があった。特に営業時間中に立入検査を行う場合は、必要な配慮であるが、施設への衛生面での確認が十分行えないことを考えると難しい問題である。

### 3-7 立入検査時の現場試験の実施

立入検査の現場での採水と試験が可能な方法について、利用の有無、利用無しの場合に関心の有無について、方法ごとに選択してもらった。また、回答者が都道府県 (本庁) 所属で、直接立入検査を行っていない場合は、保健所等の出先機関での利用の有無を、利用無し、もしくはわからない場合は、都道府県主管課担当の立場としての関心の有無を答えてもらうこととした。

「DPD 法による遊離塩素濃度測定」は 35 件 (97%) の回答があり、大半の保健所等で導入されていることがわかった (表 25)。その他の測定方法についても、導入されているものは少ないが、各測定方法に対して半数近くの保健所等が関心を示していることがわかった。

### 3-8 立入検査後のレジオネラ迅速試験<sup>1)</sup>

レジオネラ培養検査は待ち時間が 1～2 週間と長く、それを補う迅速な検査方法がいくつか整備されている。また、現場での試験は難しくても、試料を試験場所に宅配便等で送付するなど、検査施設との連携により時間短縮が可能な試験もあり、レジオネラ検出後の洗浄、消毒、その後の再開に有用と考えられる。このことから、レジオネラ迅速試験の各種方法における利用の有無、利用無しの場合の関心の有無について、方法ごとに選択してもらった。回答者が都道府県 (本庁) 所属で、直接立入検査を行っていない場合は、保健所等の出先機関での利用の有無を、利用無し (もしくはわからない) の場合は、都道府県主管課担当の立場としての関心の有無を答えてもらうこととした。

結果として「死菌も検出される PCR 法や LAMP 法 (PCR 検出、測定に数時間)」の利用有りが 10 件 (28%) と最も高く、それ以外の検査方法は現時点では、ほぼ利用されていないことがわかった (表 26)。

しかしながら、各検査方法への関心ありの割合は高く、導入はしていないものの関心が高いことがわかった。導入にあたっては、費用や場所、人員的な問題も多く難しいが、地域での共同検査や大学等との共同研究等による導入の可能性も含めて検討できればと考えられる。

#### 4. 浴槽水のレジオネラ属菌等に係る対策

##### 4-1 施設が自主的に実施した浴槽水等の水質検査結果の確認方法

施設が自主的に実施した浴槽水等の水質検査結果の確認方法について質問を行ったところ、「立入検査時に検査結果の確認を行う」が32件(89%)と大半を占めた。また、立入検査時確認に回答の無かった4件の保健所等では、「条例や規則、要領等により、毎年度報告を行うよう定めている」との回答があり、全ての保健所等で定期的な水質検査結果の確認がなされていることが明らかとなった。また、その他の回答として、水質検査基準に不適であった場合は報告を求めるとする保健所等もあった。(表27)

##### 4-2 施設が自主的に実施した浴槽水等のレジオネラ属菌検査結果の確認方法

施設が自主的に実施した浴槽水等のレジオネラ属菌検査結果の確認方法は、浴槽水の水質検査結果と同様に、「立入検査時に水質検査結果の確認を行う」が27件(75%)と大半を占めた。(表28) また、保健所等の単位での回答結果を見たところ、他回答「条例や規則・要領等により、毎年度報告を行うよう定めている」が11件(31%)、「陽性の場合、報告を求めている」が22件(61%)、「陽性の場合、報告がある」13件(36%)と、レジオネラ属菌検査の結果に対しては、多くの保健所等で検査結果を確認する体制が出来ていると考えられた。

なお、回答結果から、全ての保健所等で「立入検査時の確認」、「条例等により、毎年度報告を行うよう定めている」、「検査実施時に報告を求めている」、「陽性時、報告を求めている」、「陽性時、報告がある」のいずれか、もしくは複数の回答があったことから、レジオネラ属菌検査結果が陽性であった場合には、保健所等が探知できる体制が整っていることがわかった。

##### 4-3 浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の探知方法

ここからは、施設における浴槽水等のレジオネラ属菌検査で陽性時の対応について質問を行った。また、浴槽水以外のシャワー、冷却水、貯湯槽等において陽性になった場合も含むこととした。(以下、浴槽水等とする。)

浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の探知方法を質問したところ、「施設からの報告」が36件(100%)となり、すべての保健所等で施設からの連絡体制があることがわかった。保健

所等としては、受け身の体制が主であることが判明した。その他の結果から「立入検査時」、「検査機関からの報告」、「他部署からの報告」により検査陽性を探知する場合もあることから、複数の探知手段を有していることや、反対に施設からの報告が無い場合も想定されることが伺える結果となり、施設でのレジオネラ属菌検査陽性を全て把握するためには、課題があることもわかった。(表29)

##### 4-4 浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の対応

浴槽水等のレジオネラ属菌検査で陽性(10cfu/100 mL以上)を探知した場合の対応について質問したところ、「電話や対面等で施設の状況を確認した後、すみやかに立入検査を行う」の回答が36件(100%)であり、保健所等としてレジオネラ属菌検査陽性時の対応体制が確立されていることがわかった。(表30)

##### 4-5 浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性時の対応方法についてのフロー

レジオネラ属菌陽性時の対応方法について、自由記入もしくは別紙添付の形での質問をしたところ、保健所等から31件の回答があった。

保健所等によって形は様々であるが、探知から聞き取り調査、関係部署との調整、現地調査、施設への衛生対策の実施、陰性確認や行政指導等について定めており、保健所等において準備が整えられていることがわかった。

##### 4-6 都道府県や市・区でレジオネラ属菌検査可能な検査機関

都道府県や市・区において、検査実績に関わらずレジオネラ属菌検査可能な検査機関を有しているかどうかについて質問した結果を表31に示す。回答結果から、全ての保健所等において所属組織内の検査部署や地方衛生研究所といった検査可能な機関を有していることがわかった。

##### 4-7 都道府県や市・区が主導しての浴槽水等のレジオネラ属菌検査の実施

都道府県や市・区の自治体主導によるレジオネラ属菌検査の実施状況については、「自治体主導の検査は実施していない」が18件(50%)、「自治体主導の検査を実施している(検査費用は自治体の公費負担)」18件(50%)と半数ずつの結果であった。自治体主導の検査実施にあたっては、施設側の理解や検査費用の確保等の課題もあるが、浴槽水等のレジオネラ属菌による汚染実態の把握や、危機管理に生かせる有効な手段の一つであると考えられた。

また、「自治体主導の検査を実施している(検査費用は自治体の公費負担)」18件(50%)のうち検査を実施する検査機関を確認したところ、表32のとおりとなった。

##### 4-8 浴槽水等における近年3年間のレジオネラ

## 属菌の検出状況

これまでに保健所等が把握した浴槽水等のレジオネラ属菌の検出状況は、「管内施設で検出実績がある」が29件(80.6%)と約8割の保健所等で検出報告を受けていた。(表33)「管内施設で検出実績がある」と回答のあった29件についての検査施設数と検査検体数、レジオネラ属菌検出件数は、表34のとおりである。この検出状況の内訳から、毎年度、検査検体の約1割で陽性検出がなされていることがわかった。

この検査結果を、保健所単位でみて、どのくらいの割合の保健所で陽性検出が出ているのか確認したところ、毎年度半数程度の保健所等で1件以上の陽性検出がでていたこともわかった。今回、調査対象とした保健所は、全国各地、地域に偏りなく回答があったことから、全国どこであっても同様にレジオネラ属菌の汚染リスクが存在していることがわかった。

なお、「管内施設で検出実績がある」と回答のあった29件のうち、1件以上検査実施並びに検出ありと回答のあった自治体の各年度状況については、表35のとおりである。検出率については、全回答(36件)に対する値となっている。

### 5. 所管内のレジオネラ症患者の対応状況(近年3年間;令和2~4年度)

#### 5-1 近年3年間の管内施設におけるレジオネラ症患者の探知・通報件数

レジオネラ感染症は感染症法上の四類感染症に分類されており、全数報告対象であるため、診断した医師は直ちに最寄りの保健所に届出を行う必要がある。そこで、これまでに保健所で把握した届出に基づく報告件数について質問した。

(都道府県(本庁)回答の場合は、管轄保健所等から報告のあった件数の総数を計上。)

近年3年間の管内施設におけるレジオネラ症患者の探知並びに通報件数の総数を、表36に示す。また、管内施設で1件以上の探知・通報ありと回答した保健所等の各年度状況を、表37に示す。これらの結果から、毎年度、半数程度の保健所等で1件以上のレジオネラ症患者の探知・通報がなされていること、うち旅館業・公衆浴場関係の施設では毎年25%程度の探知・通報があることがわかった。

#### 5-2 旅館や公衆浴場等の生活衛生関係施設でレジオネラ症の患者が発生した(疑いがある)場合の対応

旅館や公衆浴場等の生活衛生関係施設でレジオネラ症の患者が発生した(疑いがある)場合の対応として、対陽性者についての主導は主に「感染症を所管する部署」21件(58%)であったが、生活衛生関係施設で発生した場合には「環境衛生監視員の所属する部署」が主導するといった回答も8件(22%)あった。また、対陽性者につ

いて連携する関係部署として、「環境衛生監視員の所属する部署」、「保健師の所属する部署」、「感染症法を所管する部署」が連携するとした回答が多くあった。

対施設について主導する対応部署としては、対象施設が旅館や公衆浴場といった生活衛生関係施設であることから、「環境衛生監視員の所属する部署」が32件(89%)と大半を占めた。また、対施設についての連携する関係部署としても対陽性者と同様に、「環境衛生監視員の所属する部署」、「保健師の所属する部署」、「感染症法を所管する部署」が連携するとした回答が多くあった。

なお、これらの設問に共通してであるが、保健所等ごとの組織体制が異なることから、感染症対応部署と保健師所属部署が同一所属である場合等もあった。

#### 5-3 旅館や公衆浴場等の生活衛生関係施設でレジオネラ症の患者が発生した(疑いがある)場合の患者発生探知後の対応方法についてのフロー

レジオネラ症患者発生(疑い)時の対応方法について、自由記入もしくは別紙添付の形での質問をしたところ、保健所等から32件の回答があった。

保健所等によって形は様々であるが、探知から聞き取り調査、関係部署との調整、現地調査、施設への衛生対策の実施、陰性確認や行政指導等について定めており、保健所等において準備が整えられていることがわかった。

#### 5-4 生活衛生関係施設以外の施設(高齢者施設、学校等)でレジオネラ症の患者が発生した(疑いがある)場合の対応

生活衛生関係施設以外の施設(高齢者施設、学校等)でレジオネラ症の患者が発生した(疑いがある)場合の対応については、環境衛生所管部署として「対応する(主導する)」が5件(14%)、「対応する(他部署と連携する)」13件(36%)と半数近くが常時対応を行うことがわかった。その他の回答からも、生活衛生関係施設以外の施設で発生した場合にも、状況に応じて環境衛生監視員として対応を行う体制があることがわかった。

生活衛生関係施設以外の施設(高齢者施設、学校等)で発生した場合の発生施設への対応については、環境衛生監視員として発生施設に対する指導権限を有しないことから、「発生した施設を所管する部署」が主導するといった回答が14件と最も多かったが、原因がレジオネラ症であることから、何らかの形で連携するといった意見も多くみられた。

#### 5-5 生活衛生関係施設以外の施設(高齢者施設、学校等)でレジオネラ症の患者が発生した(疑いがある)場合の患者発生探知後の対応方法についてのフロー

生活衛生関係施設以外の施設でレジオネラ症患者発生した(疑い)場合の対応方法について、自由記入もしくは別紙添付の形での質問をしたところ、保健所等から31件の回答があった。

生活衛生関係施設以外の施設での発生を対象とした設問であったため、定めていないとした回答が2件あったが、多くが設問5-3と同様の対応をすとしていた。また、環境衛生監視員としては所管施設ではないため、直接的な指導ではなく、関係部署と協力して進めるとのした回答も多くあり、生活衛生関係施設以外の施設でのレジオネラ症患者発生の場合であっても、保健所等において準備が整えられていることがわかった。

#### 5-6 レジオネラ症患者発生施設における浴槽水等の水質検査の実施

レジオネラ症患者が発生した施設での浴槽水等の水質検査の実施状況については、「行政検査を行う」(13件)、「施設に対して水質検査を実施するよう求める」(6件)、「水質検査の実施は求めるが、行政検査か自主検査は状況による」(13件)と、ほとんどの場合で浴槽水等の水質検査の実施を求めていることがわかった。また、これらの水質検査を実施する場合の検査機関については、表38のとおりである。

#### 6. 環境衛生監視員に対する研修等について

ここでは、所属する都道府県や市・区(以下、所属自治体という)における環境衛生監視員に対する研修等の実施状況について質問した。

##### 6-1 所属する都道府県や市・区において定期的に実施されるレジオネラ症対策に関する研修

所属自治体によるレジオネラ症対策に関する内部向けの研修は、半数以上の保健所等で定期的に実施されていた。(表39)保健所等が所属する自治体の規模にもよるが、定期的に研修等によって知識を得ること、情報共有の場を持つことの必要性を広めていくと共に、研究班としても研修等の場で使用できるような資料や情報の提供を行うことで支援ができるのではないかと推察された。

##### 6-2 「6-1」の研修を実施している場合の受講対象者

研修の受講対象者としては、環境衛生監視員が22件(61%)と最も多く、他には、新たに担当となった環境衛生監視員のみが3件(8%)、環境衛生研究所等の検査機関主体の職員が2件(6%)となった。

##### 6-3 「6-1」の研修を実施している場合の主な研修内容

研修内容としては、衛生管理に関する情報の共有24件(67%)、法改正等や国通知に関する事項21件(58%)、監視方法に関する情報の共有17件(47%)、問題事案や諸課題等に関する意見交換

14件(39%)と実際の業務に即した問題について多く取り上げられていた。他の回答として、実地訓練や仮想訓練9件(25%)や他部署との意見交換2件(6%)などがあった。

##### 6-4 外部機関(関連団体や民間会社)が実施する研修の活用

外部機関(関連団体や民間会社)が実施する研修の活用については、「活用している」が19件(53%)、「活用していない」が17件(47%)であり、半数が外部機関による研修を活用していることがわかった。

##### 6-5 「6-4」で外部研修を活用している場合、研修の実施主体

外部研修を活用しているとした回答の15件は、国立保健医療科学院が実施する研修の活用であり、国立保健医療科学院は環境衛生監視員に対する研修機関の一つとして重要な役割を担っていることもわかった。

##### 6-6 知識、技術を取得するための手段として活用しているもの

知識、技術を取得するための手段として活用しているものとして、「都道府県や市・区が主催する研修、勉強会」26件(72%)や、「厚生労働省のHPや発出版物」30件(83%)が大半の保健所等で活用されていることがわかった。次いで、「厚生労働科学研究の研究成果」22件(61%)と回答があり、本研究も現場の知識や技術の向上の一役を担っていた。また、「前任者や先輩職員等からのOJT」が28件(78%)と非常に高い割合であったことから、監視技術からちょっとしたやりとりの方法など、経験を実地で継承していくことの重要性を改めて認識することとなった。

#### 7. 事業者に対する対応状況

ここでは、旅館業や公衆浴場の許可を有する事業者に対する情報発信の状況や、都道府県・市・区等の自治体や保健所等が主体となって実施する事業者向けの衛生対策等に関する講習会・研究会・説明会等の開催状況を質問した。

##### 7-1 管内の事業者への情報発信方法(法改正等に関する情報)

法改正等が行われた際の情報発信として、「情報発信は行っていない」は0件(0%)であり、説明会や講習会、立入検査時や通知等、方法は様々ではあるが何らかの情報発信を行っていることがわかった(表40)。また、その他として回答のあった「自治体HPへの掲載」については、回答選択肢を設けていなかったため7件のみであったが、現在の状況を考えると、多くの自治体で情報発信方法の一つとして取り入れられていると考えられた。

##### 7-2 管内の事業者への情報発信方法(衛生管理に関する情報)

衛生管理に関する情報の発信方法として、「情

報発信は行っていない」は0件(0%)であり、講習会、立入検査時や通知等、方法は様々ではあるが何らかの情報発信を行っていることがわかった。また、その他として回答のあった「自治体HPへの掲載」については、回答選択肢を設けていなかったため8件のみであったが、現在の状況を考えると、多くの自治体で情報発信方法の一つとして取り入れられていると考えられた。

#### 7-3 事業者向けの衛生対策に関する講習会等の開催

事業者向けの衛生対策に関する講習会等の開催については、「毎年度開催する」11件(31%)、「不定期に開催する」9件(25%)、「直接所管する施設はなく、出先機関が個別に実施する」3件(8%)及びその他として何らかの形で開催している旨の回答5件(14%)と合わせて、計28件(77.8%)が定期、不定期の別はあるが、講習会を開催していることがわかった。

講習主体や対象は様々である考えるが、半数以上の保健所等で事業者に向けて情報発信する場が設けられていることがわかった。

#### 7-4 業者向けの講習会、研修会、説明会等を行う際に用いる、衛生対策やレジオネラ症対策に関する資料についての意見

業者向けの講習会、研修会、説明会等を行う際に用いる衛生対策やレジオネラ症対策に関する資料について意見を求めたところ、表41のとおりとなった。

特に、「全国共通の資料として、衛生対策関係のものがあれば良い(加工可能なもの、電子データにて提供)」29件(81%)、「全国共通の資料として、レジオネラ症対策関係のものがあれば良い(加工可能なもの、電子ファイルにて提供)」28件(78%)、「法改正等の大きな変更がある際には、全国共通の資料を提供して欲しい(電子データ)」29件(81%)とした意見があった。現状、厚生労働省所管課からは、法改正等の大きな変更時だけでなく、各種通知の送付やHPへの掲載など様々な情報提供がなされているところではあるが、業者等に向けた分かりやすい衛生対策やレジオネラ症対策に関する全国共通の資料の提供が求められていることがわかった。さらに、地域の情報等を追加できるよう加工可能な電子データでの提供が強く求められている。現状、これらの点については、今後、研究班としても厚生労働省所管課と協力をして対応していくことも、一案として考えられた。

#### 7-5 自由記載欄

レジオネラ症対策について、困っていること、課題、目標、質問等の自由意見を求めた。回答の中には、各設問に対する補足説明等もあったが、環境衛生監視を行う立場としての困りごとや研究班等専門知識を有する側に対しての要望、質

問も多くあった(表42)。

#### E. 結論

保健所等の職員を対象に、公衆浴場等でのレジオネラ症対応、監視指導の実態についてアンケート調査を行い、21自治体36保健所等から回答を得た。

- ・保健所等で生活衛生関係施設に関する業務を行う部署の職員数は4~53人の範囲、平均は16.7人、中央値は14人であった。また、そのうち監視員数は、0~31人の範囲、平均は7.6人、中央値は6人であった。
- ・令和4年度の各保健所等管内の生活衛生関係施設に対する監視施設の割合は0~100%であり、平均値は旅館業で34.2%、公衆浴場で53.3%、特定建築物で25.9%であることから、概ね2~4年に1回の頻度で全施設に立入検査を行っていると考えられた。
- ・調査対象の全てで、国の規定もしくは都道府県や市独自の規定のどちらか、もしくは両方を基に監視指導を行っていることがわかった。
- ・61%で、監視回数や指導内容等を定める「監視指導要領」「監視指導計画」等を整備し、半数以上で立入検査手法や監視時の指導項目等を記載した「監視指導マニュアル」「監視指導手引き」等を整備していた。
- ・旅館業や公衆浴場の施設を対象としたレジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」を81%で整備しており、レジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等は67%で整備していた。また、モノクロミン消毒を条例で認めていたのは67%で、加えて他の規程で3%が認めていた。
- ・通常の監視業務を行う際の立入検査人数は、最小1人~最大4人、平均1.7人で、所要時間は、15~120分、平均53.2分であった。
- ・維持管理記録と浴槽水の換水頻度の確認は、立入検査時に全施設で行われており、浴槽水や貯湯槽、ヘアキャッチャー、残留塩素濃度等の衛生状態も94%以上で確認されていた。
- ・立入検査時に生じる困りごととして、「施設の詳細がわかる(施設側の)担当者が不在で、監視項目を十分に確認できないことがある」が72%であり、多くの保健所等で事前調整を行っているにも関わらず、十分な確認ができず困っていることがわかった。
- ・立入検査時の現場試験として、「DPD法による遊離塩素濃度測定」が97%の保健所等で導入されていることがわかった。
- ・浴槽水等の水質、並びにレジオネラ属菌の検査結果は、前者が89%、後者が75%の大半が、立入検査時に確認されていた。
- ・浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の

探知方法は、「施設からの報告」が100%と最も高く、保健所等としては、受け身の体制が主であることが判明した。また、その他の回答からは、複数の探知手段を有していることや、反対に施設からの報告が無い場合も想定され、施設でのレジオネラ属菌検査陽性を全て把握するためには、課題があることもわかった。

- 浴槽水等における近年3年間のレジオネラ属菌の陽性検出は、80.6%の保健所等で検出報告を受けたことがあった。
- 所属自治体によるレジオネラ症対策に関する内部向けの研修は、半数以上の保健所等で定期的に行われていた。研修の受講対象者としては、環境衛生監視員が61%と最も多く、他には、新たに担当となった環境衛生監視員のみ8%、環境衛生研究所等の検査機関主体の職員が6%であった。
- 知識、技術を取得するための手段として、大半の保健所等では、「都道府県や市・区が主催する研修、勉強会」(72%)や、「厚生労働省のHPや発出物」(83%)を活用していることがわかった。次いで、「厚生労働科学研究の研究成果」(61%)と回答があり、本研究も現場の知識や技術の向上の一役を担っていた。また、「前任者や先輩職員等からのOJT」が78%と非常に高い割合であり、経験を実地で継承していくことの重要性を改めて認識することとなった。
- 法改正等が行われた際や衛生管理に関する情報の、公衆浴場等に向けた伝達に関しては、「情報発信は行っていない」は0%であり、説明会や講習会、立入検査時や通知等、方法は様々ではあるが何らかの情報発信を行っていることがわかった。
- 業者向けの講習会、研修会、説明会等を行うにあたり、特に、衛生対策やレジオネラ症対策に関する全国共通の資料の提供が求められていることがわかった。現状、厚生労働省所管課か

らは、法改正等の大きな変更時だけでなく、各種通知の送付やHPに掲載するなど様々な情報提供がなされているところではあるが、業者に向けた分かりやすい衛生対策やレジオネラ症対策に関する全国共通の資料の提供が求められていることがわかった。また、地域の情報等を追加できるよう加工可能な電子データでの提供が強く求められている。これらの点については、今後、研究班としても厚生労働省所管課と協力をして対応していくことも、一案として考えられた。

#### F. 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長. 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について(令和元年9月19日薬生衛発0919第1号). 2019.

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
沢田牧子, 黒木俊郎, 泉山信司, 小坂浩司. アンケートによる保健所等の公衆浴場等でのレジオネラ症防止対策の監視指導の実態調査. 令和6年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 920-921, 2024.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

表1 アンケート調査票

保健所等の環境衛生担当者を対象としたレジオネラ症に関する監視指導状況についてのアンケート調査

1. 環境衛生担当部署に係る情報

1-1 アンケート回答者の所属先情報 (所属名称非公開)  
(所属組織名,所属部署名,所属部署の職員数,うち環境衛生監視員数)

1-2 所管する管内の生活衛生関係施設数 (令和4年度末現在)  
旅館業 (旅館・ホテル営業,ホテル営業,旅館営業,簡易宿所営業,下宿営業)  
公衆浴場 (一般公衆浴場,その他)  
特定建築物

1-3 令和4年度監視回数 (令和4年度末現在)

2. 監視指導に係る規定等について

2-1 監視指導を行うにあたり、どのような規定に基づいて実施していますか? (複数選択可)  
 国が定める規定「衛生等管理要領等について」等  
 都道府県や市が独自に定める規定等  
 その他

2-2 都道府県や市が独自に定める規定等として以下の内容のものはありますか?  
 ①監視回数や指導内容等を定める「監視指導要領」「監視指導計画」等の有無  
 ②立入検査手法や監視時の指導項目等を記載した「監視指導マニュアル」「監視指導手引き」等の有無  
 ③旅館業や公衆浴場を施設を対象としたレジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」等の有無  
 ④レジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等の有無

2-3 消毒方法として、モノクロラミン消毒を条例で認めていますか?  
 条例で認めている  
 条例では認めていないが、規則や要領、マニュアル等で認めている  
 現在は条例で認めていないが、変更する予定がある  
 条例等で認めていない  
 その他

3. 監視指導に係る状況等について

3-1 監視項目や注意事項等を記載した「監視指導票」や「チェック票」等の有無 (複数回答可)  
 都道府県や市独自の監視指導要領等の規定で定める様式がある  
 自治体独自で作成した様式がある  
 職員個人が作成した様式がある  
 過去の担当者が作成した様式がある  
 監視指導票やチェック票はない  
 その他  
 監視指導業務を行っていないため分からない

3-2 立入検査実施時の事前調整 (アポイント等) について  
 全ての施設に対して日程、訪問・滞在時間等の事前調整を行う  
 一部の施設に対して日程、訪問・滞在時間等の事前調整を行う  
 日程、時間等の事前調整は行っていない  
 監視指導業務を行っていないため分からない  
 ⇒ 上記で事前調整を行うとした場合、事前調整を行うケースはどのような施設ですか?  
 旅館業の施設  
 公衆浴場の施設  
 大規模な施設  
 休業中の施設  
 担当者が少人数の施設  
 過去の経緯から事前調整が必要である施設  
 その他

3-3 立入検査に要する人数 (通常監視時の代表的なケース)          人～    人

3-4 立入検査に要する時間 (通常監視時の代表的なケース)          分～    分

3-5 立入検査時の主な監視項目について(通常時、主に確認を行う項目、実施する項目を全て選択)

- 施設で作成している維持管理記録(点検票、記録簿等)
- 浴槽水の換水頻度
- 逆洗の頻度
- 浴槽の清掃頻度
- ヘアキャッチャーの清掃頻度
- シャワーヘッドの清掃頻度
- 循環構造の有無
- 配管構造
- ろ過機の衛生状態
- 貯湯槽の衛生状態(温度、清掃、消毒)
- サウナ室及びサウナ施設
- 消毒剤の注入箇所
- 消毒剤の種類
- 残留塩素濃度の記録
- 残留塩素濃度検査の実施(現地検査)
- ATP検査の実施(現地検査)
- 入浴設備以外の施設における衛生状態の確認(空気調和設備の冷却塔)
- 入浴設備以外の施設における衛生状態の確認(給湯設備)
- 入浴設備以外の施設における衛生状態の確認(加湿装置や加湿器)
- 衛生管理の責任者、担当者
- 施設における管理マニュアル等の有無
- 施設に対する苦情の有無
- 施設における体調不良者(探知、通報等)の有無
- 既届出内容との相違の確認
- 監視指導業務を行っていないため分からない
- その他

3-6 立入検査時に生じる困りごとについて(複数回答可)

- 管内の監視対象施設件数が多く、十分な監視が行えないことがある
- 監視員の数が足りないと感じることもある
- 施設の規模が大きい場合、立入検査時間が不足することがある
- 施設側が忙しいため、立入検査を断られることがある
- 立入検査を行う時間帯に制約があることがある
- 立入検査に要する時間の制約があることがある
- 施設の詳細が分かる担当者が不在で、監視項目を十分に確認できないことがある
- 施設の担当者等から話を聞けない、聞いてもらえないことがある
- 通常業務だけでは監視指導を行う上での知識や経験を得ることが難しい
- 施設への説明資料として、全国共通の配布資料(レジオネラ症関係や施設の衛生対策関係のリーフレットやパンフレット、チラシ等)があればよいと思うことがある
- 特に困りごとはない
- 監視指導業務を行っていないため分からない
- その他

3-7 立入検査時の現場試験の実施について(利用の有無,関心の有無)

- ① DPD法による遊離塩素濃度測定
- ② DPD法による総塩素濃度測定
- ③ インドフェノール法によるモノクロラミン濃度測定
- ④ アンモニア態窒素測定
- ⑤ モバイルPCR法やパルサー法によるレジオネラ遺伝子検出
- ⑥ ATP法によるATP測定
- ⑦ その他

3-8 立入検査後のレジオネラ迅速試験について(利用の有無,関心の有無)

- ① フローサイトメトリー法 (雑菌の有無を測定、消毒効果を推測、測定に数分間)
- ② 死菌も検出されるPCR法やLAMP法 (PCR検出、測定に数時間)
- ③ 生菌を検出するEMA-PCR法 (EMA処理後にPCR検出、測定に数時間)
- ④ 生菌を検出するLC-EMA-PCR法 (培養とEMA処理後にPCR検出、測定に一晩)
- ⑤ その他

4. 浴槽水のレジオネラ属菌等に係る対策について

4-1 施設が自主的に実施した浴槽水等の水質検査結果の確認方法 (複数回答可)

- 条例や規則、要領等により、毎年度、報告を行うよう定めている
- 条例や規則、要領等により、検査実施時に報告を行うよう定めている
- 水質検査を実施した場合、報告を求めている
- 水質検査を実施した場合、報告がある場合がある
- 立入検査時に検査結果の確認を行う
- 水質検査結果の確認は行わない
- 監視指導業務を行っていないため分からない
- その他

4-2 施設が自主的に実施した浴槽水等のレジオネラ属菌検査結果の確認方法 (複数回答可)

- 条例や規則・要領等により、毎年度、報告を行うよう定めている
- 条例や規則・要領等により、検査実施時に報告を行うよう定めている
- 検査実施時に報告を求めている
- 検査実施時に報告がある場合がある
- 陽性の場合、報告を求めている
- 陽性の場合、報告がある
- 検査の実施や検査結果に関わらず、報告はない
- 立入検査時に水質検査結果の確認を行う
- レジオネラ属菌検査結果の確認は行わない
- 監視指導業務を行っていないため分からない
- その他

4-3 浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の探知方法 (複数回答可)

- 施設からの報告
- 検査機関からの報告
- 他部署からの報告
- 立入検査時
- 監視指導業務を行っていないため分からない
- その他

4-4 浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の対応 (複数回答可)

- レジオネラ属菌検査で陽性(10cfu/100mL以上)を探知した場合、
- 電話や対面等で施設の状況を確認した後、すみやかに立入検査を行う
  - 電話や対面等で施設の状況を確認した後、電話等で口頭指導を行う (立入検査なし)
  - 陽性を探知した場合でもすぐに対応せず、通常の監視時に対応する
  - 陽性の場合があっても、特段の対応は行わない
  - 監視指導業務を行っていないため分からない
  - その他

4-5 浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性時の対応方法についてのフロー(自由記入,別紙添付)

4-6 都道府県や市・区でレジオネラ属菌検査可能な検査機関はありますか

(検査実績に関わらず検査可能な機関、複数選択可)

- 所属組織 (保健所設置の検査部署)
- 地方衛生研究所
- 分からない
- その他

4-7 都道府県や市・区が主導しての浴槽水等のレジオネラ属菌検査を実施していますか

- 自治体主導の検査は実施していない
- 自治体主導の検査を実施している（検査費用は自治体の公費負担）
- 自治体主導の検査を実施している（検査費用は施設側の負担）
- 分からない

⇒ 検査実施の場合の検査機関先（複数選択可）

- 地方衛生研究所
- 保健所検査部署
- 他の都道府県や市・区が設置する検査機関
- 外部の民間検査機関
- その他

4-8 浴槽水等における近年3年間のレジオネラ属菌の検出状況について（管内での把握件数）

- 管内施設において、近年3年間の検出実態はない
- 管内施設で検出実態がある
- 分からない

5. 所管内のレジオネラ症患者の対応状況について（近年3年間；令和2年度～令和4年度）

5-1 近年3年間の管内施設におけるレジオネラ症患者の探知・通報件数

5-2 旅館や公衆浴場等の生活衛生関係施設でレジオネラ症の患者が発生した（疑いがある）場合の対応

①【対陽性者】主導する対応部署

- 環境衛生監視員の所属する部署
- 保健師の所属する部署
- 感染症法を所管する部署
- 危機管理対応部署
- 複数の部署が協力して主導する
- 分からない
- その他

②【対陽性者】連携する関係部署（複数回答可）

- 環境衛生監視員の所属する部署
- 保健師の所属する部署
- 感染症法を所管する部署
- 危機管理対応部署
- 分からない
- その他

③【対施設】主導する対応部署

- 環境衛生監視員の所属する部署
- 保健師の所属する部署
- 感染症法を所管する部署
- 危機管理対応部署
- 複数の部署が協力して主導する
- 分からない
- その他

④【対施設】連携する関係部署（複数回答可）

- 環境衛生監視員の所属する部署
- 保健師の所属する部署
- 感染症法を所管する部署
- 危機管理対応部署
- 分からない
- その他

5-3 旅館や公衆浴場等の生活衛生関係施設でレジオネラ症の患者が発生した（疑いがある）場合の患者発生探知後の対応方法についてのフロー(自由記入,別紙添付)

5-4 生活衛生関係施設以外の施設（高齢者施設、学校等）でレジオネラ症の患者が発生した（疑いがある）場合の対応について教えてください。

①生活衛生関係施設以外の施設で発生した場合、環境衛生所管部署として対応しますか

- 対応する（主導する）
- 対応する（他部署と連携する）
- 状況によっては対応する場合もある
- 発生施設によっては対応する場合もある
- 直接は対応しないが、関連部署へ助言等を行う
- 分からない
- その他

②【対陽性者】生活衛生関係施設以外の施設で発生した場合、主導する対応部署

- 環境衛生監視員の所属する部署
- 保健師の所属する部署
- 感染症法を所管する部署
- 危機管理対応部署
- 発生した施設を所管する部署
- 複数の部署が協力して主導する
- その他（            ）
- 分からない

③【対施設】生活衛生関係施設以外の施設で発生した場合、主導する対応部署

- 環境衛生監視員の所属する部署
- 保健師の所属する部署
- 感染症法を所管する部署
- 危機管理対応部署
- 発生した施設を所管する部署
- 複数の部署が協力して主導する
- 分からない
- その他

5-5 生活衛生関係施設以外の施設（高齢者施設、学校等）でレジオネラ症の患者が発生した（疑いがある）場合の患者発生探知後の対応方法についてのフロー（自由記入、別紙添付）

設問5-3と同じ

5-6 レジオネラ症患者発生施設における浴槽水等の水質検査の実施

- 行政検査を行う
- 施設に対して水質検査を実施するよう求める
- 水質検査の実施は求めるが、行政検査か自主検査は状況による
- 水質検査の実施は求めない
- 分からない
- その他

⇒ 上記の水質検査を実施する場合の検査機関（複数回答可）

- 地方衛生研究所
- 保健所検査室
- 他の都道府県や市・区が設置する検査機関
- 外部の民間検査機関
- その他

6. 環境衛生監視員に対する研修等について

6-1 所属する都道府県や市・区において、定期的にレジオネラ症対策に関する研修は実施されていますか（複数回答可）

- レジオネラ症対策を主体とした研修を実施している
- レジオネラ症対策だけでなく、環境衛生監視員が行う業務内容に関する研修を実施している
- レジオネラ症対策に関する研修は行っていない
- その他

6-2 6-1の研修を実施している場合、受講対象者を教えてください（複数選択可）

- 環境衛生監視員
- 新たに担当となった環境衛生監視員のみ
- 感染症や衛生対策等に関連する他部署の職員
- 衛生研究所等の検査機関主体の職員
- その他

6-3 6-1の研修を実施している場合、主な研修内容を教えてください（複数選択可）

- 法改正等や国通知に関する事項
- 衛生管理に関する情報の共有
- 監視方法に関する情報の共有
- 研究結果や外部研修の受講結果の発表
- 問題事案や諸課題等に関する意見交換
- 他部署との意見交換
- 事例発表
- 実地訓練や仮想訓練
- その他

6-4 外部機関（関連団体や民間会社）が実施する研修を活用していますか

- 活用している
- 活用していない

6-5 6-4で外部研修を活用している場合、その研修の実施主体を教えてください（複数回答可）

- 外部研修は活用していない
- 国立保健医療科学院
- 関係団体（下記の団体）
  - ・ 全国生活衛生営業指導センター
  - ・ 都道府県生活衛生営業指導センター
  - ・ 生活衛生同業組合（生衛組合）
  - ・ 生活衛生同業組合連合会（全国連合会）
  - ・ （一社）全国生活衛生同業組合中央会
  - ・ 都道府県生活衛生同業組合連絡協議会
- 民間会社
- その他

6-6 知識、技術を取得するための手段として活用しているもの（複数回答可）

- 都道府県や市・区が主催する研修、勉強会
- 厚生労働省のHPや発出版物
- 国立感染症研究所のHPや発出版物
- 国の担当者会議への出席や会議資料
- 厚生労働科学研究の研究成果
- 関連団体や協会等のHPや発出版物
- 関連団体や協会等が行う講演会、勉強会等
- 民間会社が行う講演会、勉強会等
- 書籍
- 前任者や先輩職員等からのOJT
- その他

7. 事業者に対する対応状況

7-1 管内の事業者への情報発信方法（法改正等に関する情報）（複数回答可）

- 法改正等に係る説明会を開催する
- 通常開催する講習会等で説明を行う
- 立入検査時に文書（通知、リーフレット等）で説明を行う
- 立入検査時に口頭で説明を行う
- 法改正等があった場合には、郵送やメールを活用して通知する
- 情報発信は行っていない
- その他

7-2 管内の事業者への情報発信方法（衛生管理に関する情報）（複数回答可）

- 衛生管理に係る講習会等を開催する
- 立入検査時に文書（通知、リーフレット等）で説明を行う
- 立入検査時に口頭で説明を行う
- 郵送やメールを活用して通知する
- 情報発信は行っていない
- その他

7-3 事業者向けの衛生対策に関する講習会等を開催していますか

- 毎年度開催する
- 不定期に開催する
- 全国的な問題が起きた時に開催する
- 講習会等は開催していない
- 直接所管する施設はなく、出先機関が個別に実施する
- 直接所管する施設はなく、出先機関でどのようにしているか分からない
- その他

7-4 業者向けの講習会、研修会、説明会等を行う際に用いる、衛生対策やレジオネラ症対策に関する資料についての意見（複数回答可）

- 全国共通の資料として、衛生対策関係のものがあれば良い  
（加工可能なもの、電子データにて提供）
- 全国共通の資料として、レジオネラ症対策関係のものがあれば良い  
（加工可能なもの、電子ファイルにて提供）
- 全国共通の資料として、リーフレット等の紙資料があれば良い
- 法改正等の大きな変更がある際には、全国共通の資料を提供して欲しい（電子データ）
- 都道府県や市・区として作成したものがあるので問題ない
- 保健所等毎に作成したものがあるので問題ない
- 担当者個人が作成したものがあるので問題ない
- 関係団体が作成したものがあるので問題ない
- 意見はない
- その他

7-5 自由記載欄

レジオネラ症対策について、困っていること、課題、目標、質問等、自由にご記入ください。

表 2 環境衛生担当部署の職員数

	(人)			
	最小値	最大値	平均値	中央値
所属部署職員数	4	53	16.7	14
うち環境衛生監視員	0	31	7.6	6

表 3 保健所等が所管する管内の生活衛生関係施設数（令和 4 年度末現在）

業種	施設数	最小値	最大値	平均値	中央値
旅館業	(旅館業計)	12	4,756	360	164
	旅館・ホテル営業	4	2,196	194	62
	ホテル営業	0	11	2	0
	旅館営業	0	51	12	0
	簡易宿所営業	2	2,455	162	60
	下宿営業	0	105	8	1
公衆浴場	(公衆浴場計)	4	823	100	39
	一般公衆浴場	0	130	18	4
	その他	4	693	87	31
特定建築物		2	1,466	220	48

※施設数不明並びに施設数概算の回答有り

表 4 保健所等ごとの職員等一人あたりの生活衛生関係施設数（令和 4 年度末現在）

業種	一人あたりの施設数	最小値	最大値	平均値	中央値
旅館業	(旅館業計)				
	対 所属部署職員数	0.53	206.78	22.42	15.50
	対 うち環境衛生監視員	0	347.75	37.21	22.88
公衆浴場	(公衆浴場計)				
	対 所属部署職員数	0.43	35.78	5.45	2.75
	対 うち環境衛生監視員	0	94.75	11.51	5.13
特定建築物					
	対 所属部署職員数	0.14	73.1	11.76	3.61
	対 うち環境衛生監視員	0	182.75	27.86	7.03

表 5 令和 4 年度監視施設数並びに延べ監視回数

業種	監視施設数	最小値	最大値	平均値	中央値
旅館業	(旅館業計)	0	676	92	31
	旅館・ホテル営業	0	383	73	20
	ホテル営業	0	4	1	0
	旅館営業	0	7	2	0
	簡易宿所営業	0	286	27	11
	下宿営業	0	7	1	0
公衆浴場	(公衆浴場計)	1	299	51	15
	一般公衆浴場	0	57	9	1
	その他	0	265	43	12
特定建築物		0	602	55	11

※監視施設数不明並びに施設数概算の回答有り

業種	延べ監視回数(回/年)	最小値	最大値	平均値	中央値
旅館業	(旅館業計)	0	676	100	36
	旅館・ホテル営業	0	449	80	20
	ホテル営業	0	4	1	0
	旅館営業	0	7	2	0
	簡易宿所営業	0	286	27	11
	下宿営業	0	7	1	0
公衆浴場	(公衆浴場計)	1	343	57	18
	一般公衆浴場	0	75	13	4
	その他	0	272	45	13
特定建築物		0	602	59	11

※監視施設数不明並びに施設数概算の回答有り

表 6 保健所等ごとの職員等一人あたりの監視監視施設数並びに延べ監視回数（令和 4 年度）

業種	監視施設数	最小値	最大値	平均値	中央値
旅館業 (旅館業計)					
対 所属部署職員数		0	29.39	5.85	3.18
対 うち環境衛生監視員		0	54.50	10.73	5.51
公衆浴場 (公衆浴場計)					
対 所属部署職員数		0.04	18.69	2.99	1.22
対 うち環境衛生監視員		0	38.67	6.07	2.36
特定建築物					
対 所属部署職員数		0	24.08	2.41	0.65
対 うち環境衛生監視員		0	66.89	5.67	0.96

業種	延べ監視回数(回/年)	最小値	最大値	平均値	中央値
旅館業 (旅館業計)					
対 所属部署職員数		0	29.39	6.31	3.36
対 うち環境衛生監視員		0	54.50	11.37	5.59
公衆浴場 (公衆浴場計)					
対 所属部署職員数		0.04	21.44	3.28	1.26
対 うち環境衛生監視員		0	38.67	6.68	2.68
特定建築物					
対 所属部署職員数		0	24.08	2.61	0.65
対 うち環境衛生監視員		0	66.89	6.28	0.96

表 7 監視指導を行うにあたっての規定の有無

	件数	回答割合(%)
国が定める規定「衛生等管理要領等について」等	28	78
都道府県や市が独自に定める規定等	30	83
その他	2	6
<ul style="list-style-type: none"> <li>・入浴施設におけるレジオネラ症防止対策</li> <li>・入浴施設の衛生管理の手引き</li> </ul>		

表 8 都道府県や市が独自に策定している規定等の一覧

都道府県や市が独自に定める規定等

条例・規則	要綱・要領	その他
公衆浴場法施行条例	公衆浴場法指導要綱	環境衛生監視指導計画
公衆浴場法施行細則	公衆浴場法の運用に関する要綱	公衆浴場におけるレジオネラ症
旅館業法施行条例	公衆浴場衛生等管理要領	発生予防のための指導指針
旅館業法施行細則	公衆浴場衛生管理要領	生活衛生関係実務便覧
公衆浴場の設置場所の配置及び衛生等の措置の基準を定める条例	公衆浴場法事務処理要領	生活衛生営業関係等事務処理マニュアル
	旅館業法指導要綱	公衆浴場自主管理マニュアル
	旅館業法の運用に関する要綱	特殊浴場（トルコ風呂）に関する許可等の規制基準（内規）並びに在来の該当施設に対する処分について
	旅館業衛生等管理要領	
	旅館業衛生管理要領	
	旅館業法事務処理要領	
	公衆浴場及び旅館業営業施設に対する立入検査実施要領	
	環境衛生営業監視指導要領	
	生活衛生関係営業施設監視指導要領	
	監視指導実施要領	
	監視指導要領	

表 9 監視回数や指導内容等を定める「監視指導要領」、「監視指導計画」等の有無

	件数	回答割合(%)
有り	22	61
無し	13	36
未回答	1	3
計	36	100

表 10 監視回数や指導内容等を定める規定の名称一覧

有り（監視回数や指導内容等を定める規定の名称）	
生活衛生施設等監視計画（年度ごとに作成）	公衆浴場及び旅館業営業施設に対する立入検査実施要領
生活衛生関係営業施設の監視指導事業計画	生活衛生関係営業施設監視指導要領
生活衛生監視指導計画	環境衛生営業監視指導要領
環境衛生監視指導計画	監視指導実施要領
監視指導計画	監視指導要領
生活衛生関係事業方針及び事業計画	公衆浴場法事務処理要領
令和5年度環境業務課事業計画	旅館業法事務処理要領
生活衛生関係事業計画	循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル
生活衛生対策推進計画	生活衛生営業関係事務処理マニュアル
保健所環境衛生関係業務実施計画	年度ごとの通知による
生活衛生関係営業六法施設監視指導方針	県通知に基づき、主管課からの年度監視目標通知に
生活衛生関係営業施設監視指導実施方針	対する監視計画を保健所毎に策定する
	個室浴場法施行条例の改正について
	（レジオネラ症防止対策を目的に追加された項目の解説）

表 11 立入検査手法や監視時の指導項目等を記載した「監視指導マニュアル」、  
「監視指導手引き」等の有無

	件数	回答割合(%)
有り	21	58
無し	15	42
計	36	100

表 12 立入検査手法や監視時の指導項目等を記載した規定の名称一覧

有り（立入検査手法や監視時の指導項目等を記載したものの名称）	
公衆浴場及び旅館業営業施設に対する立入検査実施要領	公衆浴場法事務処理規程
生活衛生関係営業施設監視指導実施要領	公衆浴場等におけるレジオネラ属菌検出時や
環境衛生営業監視指導要領	レジオネラ症患者発生時の指導内規
監視指導実施要領	公衆浴場監視票
監視指導要領	旅館業監視票
営業関係施設の維持管理状況調査実施要領	入浴施設調査票
生活衛生関係営業施設に対する立入検査等事務処理要領	レジオネラ関係施設立入調査票
旅館業法事務処理要領	衛生優良店採点票
公衆浴場法事務処理要領	入浴施設の衛生管理ポイント
生活衛生営業関係等事務処理マニュアル（各種監視票）	個室浴場法施行条例の改正について
循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル	（レジオネラ症防止対策を目的に追加された項目の解説
旅館・公衆浴場におけるレジオネラに関する対応マニュアル	

表 13 旅館業や公衆浴場の施設を対象としたレジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」等の有無

	件数	回答割合(%)
有り	29	81
無し	7	19
計	36	100

表 14 レジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」等の名称一覧

有り（レジオネラ属菌陽性時の「対応マニュアル」等の名称）	
レジオネラ指導要綱	レジオネラ対応マニュアル
公衆浴場衛生等管理要領	レジオネラ発生時対応マニュアル
公衆浴場におけるレジオネラ属菌対応要領	旅館・公衆浴場におけるレジオネラに関する対応マニュアル
レジオネラ症防止対策指導要領	循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル
レジオネラ症患者発生及びレジオネラ属菌検出に係る 施設調査等実施要領	旅館及び公衆浴場の入浴施設におけるレジオネラ属菌 検出時の対応マニュアル
レジオネラ属菌検出時対応要領	生活衛生営業関係事務処理マニュアル
浴槽水のレジオネラ属菌基準超過施設に対する指導要領	令和5年度公衆浴場等におけるレジオネラ属菌検査規程
旅館及び公衆浴場の入浴施設におけるレジオネラ属菌 検出時及び患者発生時の対応指針	公衆浴場等におけるレジオネラ属菌検出時の指導等に 関する対応について

表 15 レジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等の有無

	件数	回答割合(%)
有り	24	66.7
無し	11	30.6
未回答	1	2.8
計	36	100

表 16 レジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等の名称一覧

有り（レジオネラ症患者発生時の「対応要領」や「対応マニュアル」等の名称）	
レジオネラ指導要綱	旅館及び公衆浴場の入浴施設におけるレジオネラ属菌検出時
医療施設、社会福祉施設等におけるレジオネラ症防止対策要綱	及び患者発生時の対応指針
公衆浴場衛生等管理要領	入浴施設を利用したレジオネラ症患者発生時対応方針
レジオネラ症防止対策指導要領	公衆浴場等におけるレジオネラ属菌検出時やレジオネラ症患者
公衆浴場におけるレジオネラ属菌対応要領	発生時の指導内規
公衆浴場等施設におけるレジオネラ属菌検出時対応要領	レジオネラ対応マニュアル
入浴施設におけるレジオネラ症発生時の対応要領	旅館・公衆浴場におけるレジオネラに関する対応マニュアル
入浴施設におけるレジオネラ症患者発生時等の対応要領	レジオネラ発生時対応マニュアル
レジオネラ症患者等発生時防疫対策実施要領	レジオネラ症発生時対応マニュアル
レジオネラ症患者発生及びレジオネラ属菌検出に係る	感染症対応マニュアル
施設調査等実施要領	循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル
	公衆浴場におけるレジオネラ症患者発生時の施設調査マニュアル

表 17 都道府県や市で浴槽水等の消毒方法のひとつとしてモノクロラミン消毒を認めているか

	件数	回答割合(%)
条例で認めている	24	67
条例では認めていないが、規則や要領、マニュアル等で認めている	1	3
現在は条例で認めていないが、変更する予定がある	0	0
条例等で認めていない	2	6
その他	9	25
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 条例で消毒方法を規定、明記していない(5)</li> <li>・ 条例等に記載はないが、認めている</li> <li>・ 条例において、「市長の定めるところにより」と規定し、本市規則にて具体的に規定している</li> <li>・ 塩素系薬剤により難しい場合に、塩素系薬剤を用いた場合と同等以上の消毒効果を有する方法により行うものとしている</li> <li>・ 条例では、ただし書きにより、「原湯又は原水の水質その他の浴槽水の水質に応じて、他の適切な方法により消毒すること」を認めており、また公衆浴場衛生管理要領において、モノクロラミン消毒を行う場合の規定を定めている</li> </ul>		
計	36	100

表 18 監視項目や注意事項等を記載した「監視指導票」や「チェック票」等の有無

	件数	回答割合(%)
都道府県や市独自の監視指導要領等の規定で定める様式がある	21	58
自治体独自で作成した様式がある	12	33
職員個人が作成した様式がある	5	14
過去の担当者が作成した様式がある	4	11
監視指導票やチェック票はない	0	0
その他	3	8
<ul style="list-style-type: none"> <li>・各保健所支所で作成したチェック票がある</li> <li>・生活衛生採点票を使用</li> <li>・生活衛生採点票（優良店）</li> </ul>		
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0

表 19 立入検査を実施する際に監視対象施設に事前調整（アポイント等）をしているか

	件数	回答割合(%)
全ての施設に対して日程、訪問・滞在時間等の事前調整を行う	22	61
一部の施設に対して日程、訪問・滞在時間等の事前調整を行う	12	33
日程、時間等の事前調整は行っていない	2	6
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0
計	36	100

表 20 事前調整を行う場合の対象施設

	件数	回答割合(%)
旅館業の施設	27	75
公衆浴場の施設	25	69
大規模な施設	9	25
休業中の施設	5	14
担当者が少人数の施設	5	14
過去の経緯から事前調整が必要である施設	9	25
その他	3	8

その他の施設
<ul style="list-style-type: none"> <li>・レジオネラ症発生届から感染源と思慮される施設</li> <li>・レジオネラ症発生届から感染源と思慮される施設維持管理のかかる書類などの準備をしておいてもらう必要があるため、ある程度の幅を持たせた期間を伝え、その間に訪問している</li> <li>施設の休みの把握や、浴槽水の採水が必要な場合は浴槽に水をはった状態である必要があるため、ある程度の期間を伝える必要がある</li> <li>・事前調整を行うことが多いですが、状況によっては、事前調整なしに立入する場合もある旨申し添えます</li> </ul>

表 21 立ち入り検査に要する人数（通常監視時の代表的なケース）

最小	1人
最大	4人
平均	1.7人

表 22 立ち入り検査に要する時間（通常監視時の代表的なケース）

最小	15分
最大	120分
平均	53.2分

表 23 立入検査時の主な監視項目

	件数	回答割合(%)
施設で作成している維持管理記録（点検票、記録簿等）	36	100
浴槽水の換水頻度	36	100
逆洗の頻度	35	97
浴槽の清掃頻度	35	97
ヘアキャッチャーの清掃頻度	35	97
シャワーヘッドの清掃頻度	27	75
循環構造の有無	34	94
配管構造	28	78
ろ過機の衛生状態	31 ※	86
貯湯槽の衛生状態（温度、清掃、消毒）	34	94
サウナ室及びサウナ施設	29	81
消毒剤の注入箇所	29	81
消毒剤の種類	35	97
残留塩素濃度の記録	35	97
残留塩素濃度検査の実施（現地検査）	31	86
ATP検査の実施（現地検査）	10	28
入浴設備以外の施設における衛生状態の確認（空気調和設備の冷却塔）	10	28
入浴設備以外の施設における衛生状態の確認（給湯設備）	11	31
入浴設備以外の施設における衛生状態の確認（加湿装置や加湿器）	8	22
衛生管理の責任者、担当者	31	86
施設における管理マニュアル等の有無	24	67
施設に対する苦情の有無	16	44
施設における体調不良者（探知、通報等）の有無	12	33
既届出内容との相違の確認	33	92
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0
その他	1	3
・レジオネラ属菌自主検査の頻度、結果、系統数及びその書類の保管		

※未回答あり

表 24 立入検査時に生じる困りごと

	件数	回答割合(%)
管内の監視対象施設件数が多く、十分な監視が行えないことがある	18	50
監視員の数が足りないと感じることもある	21	58
施設の規模が大きい場合、立入検査時間が不足することがある	9	25
施設側が忙しいため、立入検査を断られることがある	10	28
立入検査を行う時間帯に制約があることがある	15	42
立入検査に要する時間の制約があることがある	9	25
施設の詳細が分かる担当者が不在で、監視項目を十分に確認できないことがある	26	72
施設の担当者等から話を聞けない、聞いてもらえないことがある	6	17
通常業務だけでは監視指導を行う上での知識や経験を得ることが難しい	16	44
施設への説明資料として、全国共通の配布資料（レジオネラ症関係や施設の衛生対策関係のリーフレットやパンフレット、チラシ等）があればよいと思うことがある	20	56
特に困りごとはない	0	0
監視指導業務を行っていないため分からない	1	3
その他 ※複数回答あり	5	14
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 立入検査を行うことについての理解が得られない場合があった</li> <li>・ 指導相手の理解力や対応力の問題により、十分な管理が難しい場合がある（高齢者等）</li> <li>・ 施設又は施設の区画ごとに監視員の性別が指定されるため、立入できない部分がある</li> <li>・ 環境衛生監視員の性別によって、男湯及び女湯両方監視することが非常に困難である</li> <li>・ 配管が複雑かつ、構造変更をしており、系統図が整備されていないと困ることがある</li> <li>・ 立入監視の方法について動画があれば分かりやすく良いと思われる</li> </ul>		

表 25 立入検査時の現場試験の実施方法

	利用の有無		(利用無しの場合) 関心の有無				未回答	
	利用中		関心あり	関心なし				
① DPD法による遊離塩素濃度測定	35	97%	1	3%	0	0%	0	0%
② DPD法による総塩素濃度測定	9	25%	12	33%	9	25%	6	17%
③ インドフェノール法によるモノクロアミン濃度測定	2	6%	20	56%	8	22%	6	17%
④ アンモニア態窒素測定	3	8%	17	47%	11	31%	5	14%
⑤ モバイルPCR法やパルサー法によるレジオネラ遺伝子検出	0	0%	24	67%	8	22%	4	11%
⑥ ATP法によるATP測定	14	39%	15	42%	5	14%	2	6%
⑦ その他	2	6%	0	0%	0	0%	17	47%
その他はない							17	47%
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ DPD法による結合塩素濃度測定</li> <li>・ 試験紙による遊離塩素濃度測定</li> </ul>								

表 26 立入検査後のレジオネラ迅速試験の方法

	利用の有無		(利用無しの場合) 関心の有無				未回答	
	利用中		関心あり	関心なし				
① フローサイトメトリー法 (雑菌の有無を測定、消毒効果を推測、測定に数分間)	0	0%	21	58%	8	22%	7	19%
② 死菌も検出されるPCR法やLAMP法 (PCR検出、測定に数時間)	10	28%	13	36%	8	22%	5	14%
③ 生菌を検出するEMA-PCR法 (EMA処理後にPCR検出、測定に数時間)	1	3%	22	61%	7	19%	6	17%
④ 生菌を検出するLC-EMA-PCR法 (培養とEMA処理後にPCR検出、測定に一晚)	2	6%	20	56%	9	25%	5	14%
⑤ その他	0	0%	0	0%	0	0%	15	42%
その他はない							21	58%

表 27 施設が自主的に実施した浴槽水等の水質検査結果の確認方法

	件数	回答割合(%)
条例や規則、要領等により、毎年度、報告を行うよう定めている	10	28
条例や規則、要領等により、検査実施時に報告を行うよう定めている	0	0
水質検査を実施した場合、報告を求めている	1	3
水質検査を実施した場合、報告がある場合がある	7	19
立入検査時に検査結果の確認を行う	32	89
水質検査結果の確認は行わない	0	0
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0
その他	5	14
<ul style="list-style-type: none"> <li>・規定により、年1回以上検査を行うよう定めている</li> <li>・1年に1回以上実施し、結果が不適合だった場合に報告するよう、条例で定めている</li> <li>・基準値を超過した場合報告を求めている</li> <li>・水質検査で異常が認められた場合報告</li> <li>・検査項目不適の場合、保健所への報告を定めている</li> </ul>		

表 28 施設が自主的に実施した浴槽水等のレジオネラ属菌検査結果の確認方法

	件数	回答割合(%)
条例や規則・要領等により、毎年度、報告を行うよう定めている	11	31
条例や規則・要領等により、検査実施時に報告を行うよう定めている	0	0
検査実施時に報告を求めている	1	3
検査実施時に報告がある場合がある	5	14
陽性の場合、報告を求めている	22	61
陽性の場合、報告がある	13	36
検査の実施や検査結果に関わらず、報告はない	0	0
立入検査時に水質検査結果の確認を行う	27	75
レジオネラ属菌検査結果の確認は行わない	0	0
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0
その他	2	6
<ul style="list-style-type: none"> <li>・規定により、年1回以上検査を行うよう定めている</li> <li>・普通公衆浴場においては、水質検査助成金を交付しているため、その交付申請書の添付書類として、検査結果を確認することができる</li> </ul>		

表 29 浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の探知方法

	件数	回答割合(%)
施設からの報告	36	100
検査機関からの報告	8	22
他部署からの報告	4	11
立入検査時	21	58
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0
その他	0	0

表 30 浴槽水等のレジオネラ属菌検査陽性の場合の対応（複数回答可）

レジオネラ属菌検査で陽性（10cfu/100mL以上）を探知した場合の対応

	件数	回答割合(%)
電話や対面等で施設の状況を確認した後、すみやかに立入検査を行う	36	100
電話や対面等で施設の状況を確認した後、電話等で口頭指導を行う（立入検査なし）	8	22
陽性を探知した場合でもすぐに対応せず、通常の監視時に対応する	0	0
陽性の場合があっても、特段の対応は行わない	0	0
監視指導業務を行っていないため分からない	0	0
その他	1	3
・ 県条例で定める公表基準を超過した際には自主公表させる。しない場合は県が公表する		

表 31 都道府県や市・区でレジオネラ属菌検査可能な検査機関（検査実績に関わらず検査可能な機関）

	件数	回答割合(%)
所属組織（保健所設置の検査部署）	12	33
地方衛生研究所	32	89
分からない	0	0
その他	1	3
・ 県の環境保全研究所へ委託		

※民間検査機関は除く

表 32 自治体主導の浴槽水等のレジオネラ属菌検査実施の場合の検査機関

	件数
地方衛生研究所	10
保健所検査部署	7
他の都道府県や市・区が設置する検査機関	1
外部の民間検査機関	5
その他	0

表 33 浴槽水等における近年3年間のレジオネラ属菌の検出状況

	件数	回答割合(%)
管内施設において、近年3年間の検出実態はない	5	13.9
管内施設で検出実態がある	29	80.6
分からない	2	5.6
計	36	100

表 34 浴槽水等における近年 3 年間のレジオネラ属菌の検出状況  
(管内施設で検出実績がありの場合の件数並びに検出率)

	検査施設数	検査検体数		レジオネラ属菌	
		うち 浴槽水等検体数	うち 浴槽水等検体数	検出件数	うち
				10cfu/100mL以上	浴槽水等検体数
令和 4 年度	534	1,611	1,485	144	138
令和 3 年度	416	1,295	1,191	160	98
令和 2 年度	394	1,297	1,169	135	115

表 35 管内施設で 1 件以上の検査実施並びにレジオネラ属菌陽性検出ありの自治体数

	検査ありの 施設数 (自治体数)		検出ありの検査検体数 (自治体数)				検出ありのレジオネラ属菌			
			うち 浴槽水等検体数		うち 浴槽水等検体数		検出件数 (自治体数)		うち 浴槽水等検体数	
令和 4 年度	19	53%	21	58%	21	58%	21	58%	19	53%
令和 3 年度	16	44%	17	47%	17	47%	17	47%	16	44%
令和 2 年度	13	36%	16	44%	16	44%	18	50%	18	50%

※検査・検出施設には、生活衛生施設以外の施設からの検査も含む

※検査施設数及び検査検体数（浴槽水等検体数を含む）は概算の回答あり

※検査検体ありでも、検査施設数不明の場合あり

表 36 近年 3 年間の管内施設におけるレジオネラ症患者の探知・通報件数

	探知・通報 (件数)		探知・通報 (有症者数)	
	うち旅館業・ 公衆浴場関係		うち旅館業・ 公衆浴場関係	
令和 4 年度	179	30	181	31
令和 3 年度	179	28	181	26
令和 2 年度	133	16	139	16

表 37 管内施設で 1 件以上のレジオネラ症患者の探知・通報があった自治体数

	探知・通報の件数あり (自治体数)				探知・通報 (有症者) あり (自治体数)			
	うち旅館業・ 公衆浴場関係		うち旅館業・ 公衆浴場関係		うち旅館業・ 公衆浴場関係		うち旅館業・ 公衆浴場関係	
令和 4 年度	16	44%	8	22%	17	47%	9	25%
令和 3 年度	17	47%	9	25%	18	50%	9	25%
令和 2 年度	16	44%	6	17%	17	47%	6	17%

表 38 レジオネラ症患者発生施設における浴槽水等の水質検査（検査を実施する場合の検査機関）

	件数	回答割合(%)
地方衛生研究所	25	69
保健所検査室	9	25
他の都道府県や市・区が設置する検査機関	2	6
外部の民間検査機関	16	44
その他	0	0

表 39 所属自治体等で実施されるレジオネラ症対策に関する研修

	件数	回答割合(%)
レジオネラ症対策を主体とした研修を実施している	10	28
レジオネラ症対策だけでなく、 環境衛生監視員が行う業務内容に関する研修を実施している	21	58
レジオネラ症対策に関する研修は行っていない	10	28
その他	4	11
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ R5年度に初めて講習会を実施</li> <li>・ 会議等と併せて実施</li> <li>・ 自治体以外主催のレジオネラ症対策を主体とした研修に出席</li> <li>・ 営業者向けのレジオネラ対策の講習会を実施しており一緒に受講</li> </ul>		

表 40 管内の事業者への情報発信方法（法改正等に関する情報）

	件数	回答割合(%)
法改正等に係る説明会を開催する	12	33
通常開催する講習会等で説明を行う	14	39
立入検査時に文書（通知、リーフレット等）で説明を行う	24	67
立入検査時に口頭で説明を行う	20	56
法改正等があった場合には、郵送やメールを活用して通知する	22	61
情報発信は行っていない	0	0
その他 ※複数回答あり	8	22
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 自治体HPへ掲載(7)</li> <li>・ 生活衛生同業組合を通して通知(2)</li> </ul>		

表 41 業者向けの講習会、研修会、説明会等に用いる衛生対策やレジオネラ症対策に関する資料についての意見

	件数	回答割合(%)
全国共通の資料として、衛生対策関係のものがあれば良い (加工可能なもの、電子データにて提供)	29	81
全国共通の資料として、レジオネラ症対策関係のものがあれば良い (加工可能なもの、電子ファイルにて提供)	28	78
全国共通の資料として、リーフレット等の紙資料があれば良い	21	58
法改正等の大きな変更がある際には、全国共通の資料を提供して欲しい(電子データ)	29	81
都道府県や市・区として作成したものがあるので問題ない	3	8
保健所等毎に作成したものがあるので問題ない	0	0
担当者個人が作成したものがあるので問題ない	0	0
関係団体が作成したものがあるので問題ない	0	0
意見はない	1	3
その他	1	3
<p>・条例で定められる事項なので、都道府県毎に作成される必要があると思う。 そのため、加工しやすいデータが提供されるとよいと思う。</p>		

表 42 課題、目標、質問等の自由意見

レジオネラ症対策についての自由意見
(1) 困りごと
①保健所、監視員としての困りごと
<ul style="list-style-type: none"> <li>・県における対応マニュアルのようなものがなく、担当者が人事異動になる度にそのノウハウを引き継ぐことが難しく困っている。</li> <li>・レジオネラ属菌陽性時及び入浴施設由来の患者発生事例に対する環境衛生監視員の経験者が減ってきている。</li> <li>・施設指導の際、滞留箇所や消毒剤が効きにくい箇所など構造や配管の問題点を指摘できるだけの知見が職員にない。</li> <li>・過去にレジオネラ症患者が発生して行政検査を行った事例があるが、紙面上でしか確認ができず、実際に発生した場合、迅速に対応できるか確認できない。</li> <li>・保健所に検査能力がない(研究所に集約されている)ため、即応性がない。</li> <li>・知見を有する民間業者等へのコネクションや、指導にあたって施設改修に使用可能な補助金制度等もない。</li> </ul>
②関係機関との連携
<ul style="list-style-type: none"> <li>・社会福祉施設でレジオネラ属菌が検出された場合、環境衛生監視員は社会福祉施設への立入権限がないため、県庁の担当課へ立ち入ってよいか伺わなければならない。そのため現場に行くのに初動が遅れる。</li> </ul>
③施設との関係
<ul style="list-style-type: none"> <li>・抜打ちで検査を行うと十分な聞き取りができないことが多いが、一方で、事前連絡の上で検査を行うと不適切な対応をされる可能性もあるため悩ましい。</li> <li>・施設が自主的に実施した浴槽水等の水質検査でレジオネラ属菌が陽性になった際、レジオネラ症患者が発生していない場合は、陰性が確認できるまで該当設備の使用自粛を求めているが、営業を優先されて聞き入れられないことがある。</li> <li>・独自の方法で衛生管理してきて何ら問題がないと言い、聞く耳を持たない業者もいる。</li> <li>・浴場施設に調査に行った際に、施設でも配管図を保有していない。</li> <li>・配管をたどろうとしても、施設側担当者もわからない場合が多い。</li> <li>・循環ろ過装置、貯湯槽、操作盤等の維持管理方法、操作法を施設担当者自身も把握していない。 (理由) マニュアルの紛失、以前の担当者の退職、譲渡等による業者の交代の際に引継ぎが十分に行われていない、配管の勝手な変更、等々</li> <li>・施設設備が古い場合、機械のメーカーが既に存在せず、問合せができない場合がある。</li> </ul>
④浴槽水等の消毒
<ul style="list-style-type: none"> <li>・源泉掛け流しの場合、浴槽水の残留塩素濃度を一定の濃度に保つ事に難色を示すことがある。</li> <li>・温泉水のpH値が高い場合、塩素系薬剤の消毒効果が下がるため、浴槽水の残留塩素濃度を一定に保つのが難しい。モノクロラミンは用事調整が必要等、塩素系薬剤と比較して扱いが難しいため、施設も扱うことに難色を示すことがある。</li> </ul>

(2) 要望	
①検査制度	<ul style="list-style-type: none"> <li>・現在、市ではレジオネラ属菌の検査を県研究所に委託しているが、検査経費の圧縮や検体の輸送時間の短縮を目的として、近隣の民間企業へ委託することを検討している。そのためには、各企業の検査精度がどの程度保証できるのかという点が最大の懸念材料だと考えている。レジオネラ属菌検査の精度管理が行われていることは把握しているが、結果が公表される制度ではないため、検査機関の選定に生かすことができない。については、水道水質検査機関を認証する制度と同じように、レジオネラ属菌検査についても認証制度が設けられるとありがたい。</li> </ul>
②レジオネラ症発生時対応	<ul style="list-style-type: none"> <li>・レジオネラ症患者が出た時の対応について訓練や動画があれば良い。</li> </ul>
③研修の実施	<ul style="list-style-type: none"> <li>・外部専門家にレジオネラ症対策についての研修会等を依頼したいが、予算措置の関係で困難である。無償で実施してくれるところがあれば案内が欲しい。</li> <li>・今年度初めて管轄内でレジオネラ対策について講習会を実施したので、例年継続して行う必要があると考える。</li> </ul>
④配布資料の作成	<ul style="list-style-type: none"> <li>・事業者配布できる施設管理のための手順書（遵守事項と、その施設のやり方を書き込みできるもの）と、清掃等記録用紙の様式例を作成して配布して欲しい。</li> </ul> <p>(理由)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>→パソコンを使えない業者や浴槽管理について何を記録すればいいのかわからない等、自身で手順書等の作成が出来ない業者がまだ存在するしている現状。</li> <li>→業者に対して説明する機会は監視時が主であり、説明時間も限られる。</li> <li>→浴槽設備管理においては、元々理解が難しい業者に対して、要領等資料を渡して説明しても、その後自力でやり方を検討して実施することは困難である場合が多い。</li> <li>→監視時に手順書や記録用紙を渡し、実施すべき実務を衛生管理基準に照らしながら記載する内容を説明し、それに対応した記録表を使用するよう実務で示したほうが実行性や即効性があると思う。</li> </ul>
⑤浴槽水の測定頻度の設定	<ul style="list-style-type: none"> <li>・浴槽水中の遊離残留塩素濃度の測定、pHの測定について、測定頻度の設定に係る適切なプロセスを案内して欲しい。</li> </ul>
(3) 質問	
①レジオネラリスク評価について	<ul style="list-style-type: none"> <li>・入浴施設を管理するにあたっては、事業者側も指導する行政側も、レジオネラ属菌の基準値として検査の検出限界である10CFU/100mLを目標値としている。これは、「公衆浴場における水質基準等に関する指針」策定時（平成12年）のレジオネラ属菌の知見を元に設定された基準値であるものと認識しているが、これ以降も、集団発生事例など多くの知見が蓄積し、菌の種類に応じたリスクに係る知見も得られている状況かと思われる。については、現在の基準値を、最新の知見に基づいてリスクに応じたものに改めるべきと思われるが、その検討状況等について伺いたい。</li> <li>また、現行のまま、レジオネラ属菌の項目・検出限界未満を継続せざるを得ない場合は、その背景（理由）などを解説して欲しい。</li> </ul>

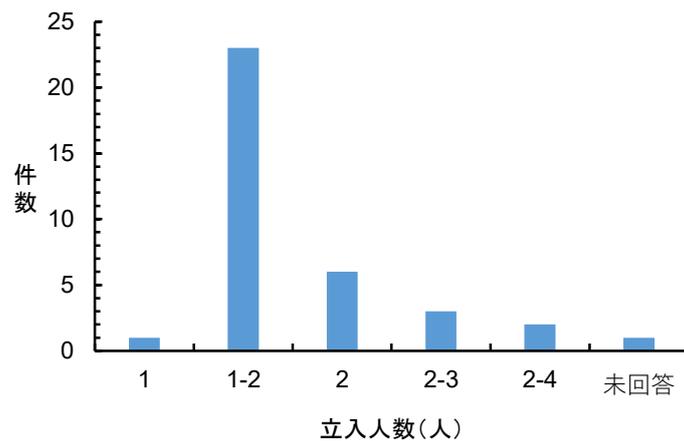


図1 立ち入り検査に要する人数の分布

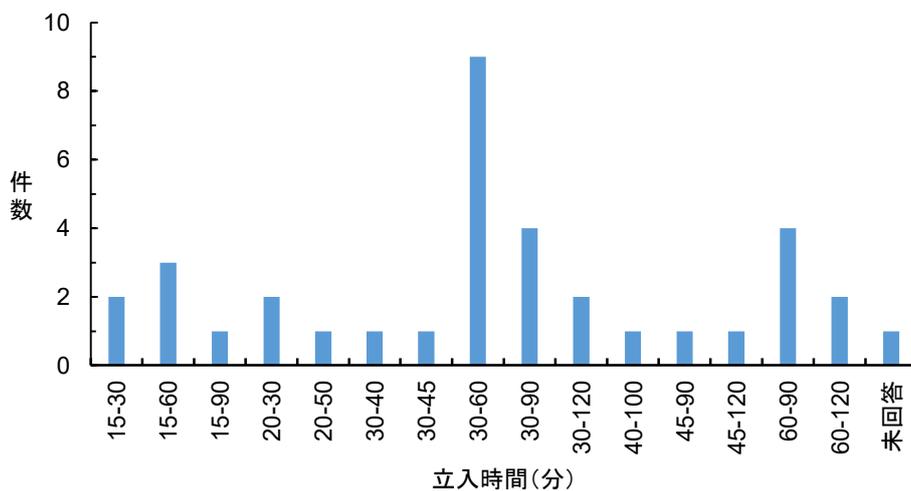


図2 立ち入り検査に要する時間の分布

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）

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所

令和6年度分担研究報告書

「入浴施設の衛生管理の手引きの改定」

研究分担者	黒木俊郎	岡山理科大学
研究分担者	小坂浩司	国立保健医療科学院
研究分担者	前川純子	国立感染症研究所
研究分担者	陳内理生	神奈川県衛生研究所
研究分担者	金谷潤一	富山県衛生研究所
研究分担者	枝川亜希子	大阪健康安全基盤研究所
研究分担者	中西典子	神戸市環境保健研究所
研究分担者	田栗利紹	長崎県環境保健研究センター
研究協力者	倉 文明	国立感染症研究所
研究協力者	五十嵐日菜	北海道保健福祉部
研究協力者	大森恵梨子	仙台市衛生研究所
研究協力者	武藤千恵子	東京都健康安全研究センター
研究協力者	大橋美至	神奈川県厚木保健福祉事務所
研究協力者	中嶋直樹	神奈川県衛生研究所
研究協力者	平塚貴大	広島県衛生研究所
研究協力者	尾崎淳朗	愛媛県保健福祉部
研究協力者	烏谷竜哉	愛媛県立衛生環境研究所
研究協力者	木村千鶴子	愛媛県立衛生環境研究所
研究協力者	平井真太郎	愛媛県立衛生環境研究所
研究協力者	浅野由紀子	愛媛県四国中央保健所
研究協力者	尾崎吉純	高知県健康政策部
研究協力者	佐々木麻里	大分県衛生環境研究センター
研究協力者	杉本貴之	宮崎県延岡保健所
研究協力者	緒方喜久代	大分県薬剤師会検査センター
研究協力者	中臣昌広	オフィス環監未来塾
研究協力者	小森正人	株式会社ヤマト
研究協力者	藤井 明	健美薬湯株式会社
研究協力者	縣 邦雄	アクアス株式会社
研究協力者	石森啓益	柴田科学株式会社
研究協力者	福田隆志	グローバルライフサイエンス テクノロジーズジャパン株式会社

令和元年度から令和3年度に実施した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」において、入浴施設の衛生管理の手引き（手引き）を作成した。当該手引きに対するアンケート調査を令和5年度に実施したところ、様々な要望や意見が寄せられた。そこで、今年度は要望があった手引きの簡易版とQ&A集を作成することとし、入浴施設の衛生管理の手引き改定の検討会において簡易版の内容を協議して案を作成した。当該案について入浴施設の衛生管理の手引き改定ワーキンググループ（WG）からの意見も反映させて完成させた。Q&A集については、昨年度のアンケート調査で得られた要望や意見等を元にしてQ&Aを作成し、検討会メンバーとWGメンバーにおいてそれぞれに協議して、Q&A集を完成させた。手引きは保健所の環境衛生監視員が活用することを目的として作成したが、入浴施設の営業者等が参考にすることも想定されるため、簡易版とは別に、内容を短く平易にまとめたパンフレットを作成した。入浴施設が関連するレジオネラ症の発生を予防するために、総合衛生管理プログラムを入浴施設に導入することが望ましいが、その内容を十分に理解したうえで行われる必要がある。そこで、解説のための動画を作成した。

#### A. はじめに

入浴施設の衛生管理の技術的助言として、厚生労働省から「公衆浴場における水質基準等に関する指針」、「公衆浴場における衛生等管理要領」（以下、管理要領）、「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」並びに「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」が発出されている。これらの要領と指針は衛生管理の方向性は示しているが、具体的・詳細な管理方法は示していない。そのため、入浴施設の監視指導の現場からは、具体的な内容を示してほしいとの強い要望が挙げられていた。こうした要望に対応するために、令和元年度から令和3年度に実施した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」において、入浴施設の衛生管理の手引き（以下、手引き）を作成した。作成時に手引きの草案に対する意見や要望の

収集を行ったところ、手引きのうちの一般衛生管理の章の簡易版（以下、簡易版）、チェックシートや記録票の例示、Q&Aの作成、説明動画の作成などの多くの要望が寄せられた。そこで、本年度は、入浴施設の衛生管理の手引き改定の検討会（以下、検討会）及び入浴施設の衛生管理の手引き改定ワーキンググループ（以下、WG）において簡易版とQ&A集の内容を協議し、これらを作成した。さらに、入浴施設の営業者が手引きの内容を理解しやすいようにすることを目的として、パンフレットを作成した。また、総合衛生管理プログラム（以下、管理プログラム）の必要性に関する動画を作成した。

#### B. 方法

##### 1) 簡易版の作成

簡易版は、案を作成した後に検討会においてオンラインの会議において内容を協議した。WGでは、検討会で簡易版案を修正した後さらに内容を精査し、修正を加えた。

検討会のメンバーはこれまでと同様に、自治体の本庁あるいは保健所の環境衛生部署に所属し、入浴施設の監視指導に当たっている自治体職員とし、入浴施設の現場における監視指導の経験を活かした内容を手引きに盛り込むことを目指した。

検討会の会議は基本的に月に1回の頻度でオンラインでの開催し、協議を行った。検討会後に協議の内容に従って簡易版の内容を修正し、次の会議までの間にメールのやり取りにより修正内容の確認などを行った。

WGのメンバーは、これまでと同様に研究班に所属する研究分担者と研究協力者の一部で構成した。簡易版の内容の協議は、メールで意見やコメントを送信する形式で行った。

## 2) Q&A集の作成

Q&A集の作成は、検討会においてはQ&A集案について、オンラインで内容を協議した。検討会での協議に並行して、WGにおいてもメールの交換によりQ&A集案の内容を協議した。

## 3) パンフレットの作成

研究協力者の中から、検討会とWGとは別に新たなグループを立ち上げて、手引きの概要を平易に解説するパンフレットを作成した。

手引き(全68ページ)の内容を項目毎に簡単に抜粋したものに、チェックリスト及び記録表の例を添付し、素案を作成した。グループメンバーから素案に対する意見を聴取し、修正を加えた。

## 4) 動画の作成

手引きに記載されている管理プログラム

を解説するスライドをパワーポイントで作成し、その内容を利用して動画を作成した。

## C. 結果および考察

### 1) 簡易版の作成

簡易版は手引きの一般衛生管理の章における各設備の全ての項目を網羅することとし、各項目の内容を1~2ページにまとめた。(資料1)

各設備の項目の構成は、以下のとおりとした。

- ・公衆浴場における衛生等管理要領での記載箇所
- ・キーポイント
- ・設備の概要
- ・管理
- ・レジオネラ属菌が検出された場合の措置

手引きは管理要領に基づいて作成している。そこで、管理要領における各設備の記載箇所が容易にわかるように「公衆浴場における衛生等管理要領の記載箇所」を設けた。

簡易版の利点として、各設備の管理の重要点を素早く見つけられるようにすることが挙げられる。そのためにキーポイントを設け、管理等の要点を短文で示すようにした。

設備の概要(構造)については、アンケート調査で寄せられた手引きに対する回答の中に、図を掲載してほしい、カラーの図を載せてほしいとの複数の要望があったことに対応した。文章での説明に替えて、図で説明することにより、視覚的に理解することができるようにした。

管理については、管理の重要点を短い文章で端的に示すようにした。

レジオネラ属菌が検出された場合の措置

では、レジオネラ属菌が検出された場合には素早くかつ確実な対応が求められるため、必要に応じて複数の措置を併記して選択肢を複数挙げ、幅広く対応することが可能になるようにした。

## 2) Q&A 集の作成

Q&A 集に掲載する Q&A は、令和 4 年度から継続的に検討して作成したものと、令和 5 年度に実施した、アンケート調査に寄せられた手引きに対する意見や要望を参考にして作成したものの中から、衛生管理上の重要性等に基づいて選び出した。

選び出した Q&A を、「浴槽の管理」、「浴槽水の管理」、「配管の管理」、「付帯設備の管理」、「その他の設備の管理」及び「総合衛生管理プログラム」に分類して振り分けた。これにより、必要な項目に関する Q & A を見出しやすくした。(資料 2)

WG は、研究班の成果を Q&A として掲載するものを合わせて検討した。複数の Q&A では、成果に関連した回答を掲載し、参照する資料として研究班の報告書を引用した。

循環配管の消毒に関する Q&A を検討した際に、検討会において、循環配管の定義に関する意見が出された。これについては、ここで限定的な書き方をすると将来の解釈に問題が生じる恐れがあり、Q&A には差し支えない範囲で説明を加えて、定義は将来の検討課題とした。どの様な配管であっても、レジオネラ属菌が増殖・定着するリスクはあり、洗浄と消毒を定期的に行うことが望ましい。循環配管の洗浄・消毒を求める根拠が不十分で強く指導できないとの指摘もあったが、最終的な責任は施設にあり、汚染があれば外から繰り返し助言することが望ましい。

## 3) パンフレットの作成

手引きは、管理体制の構築を主眼とした総合衛生管理プログラムと、設備の構造・管理方法を具体的に記載した一般衛生管理とに分かれており、施設・設備の衛生管理に重要な事項が詳細に記載された構成となっている。施設管理者や環境衛生監視員にとって有益な内容であるが、小規模入浴施設や福祉施設の担当者等には敷居が高いのでは、との危惧が寄せられていた。そこで、内容をできるだけ簡素化し、誰もが手に取りやすく、詳細は手引きを参照するようなパンフレットの作成を企図した。(資料 3)

まず、レジオネラ属菌対策の意義を説明し、自施設の衛生管理体制の確認・構築を促した後、各設備の構造・管理のポイントを箇条書きで簡潔に示し、詳細は手引きを確認できるよう手引きのページ数を記載した。また、管理体制や衛生管理状況の確認・文書化が進むよう、チェックリストや記録表の例を示すことで、管理担当者等を手引きに誘導する入り口となるよう配慮した。パンフレットでは、施設設備／保守管理チェックリスト、点検記録表(毎日点検) 消毒剤濃度、点検記録表(毎日点検) 温度又は消毒剤濃度、浴槽関係 管理記録表、ろ過・循環系統 管理記録表、補給系統 管理記録表を例示した。

今後は、今回の報告書で作成した簡易版や Q&A の成果を踏まえ、本パンフレットの改善を期待する。

パンフレットと記録表はそれぞれ pdf ファイルと Excel ファイルで公開し、保健所あるいは入浴施設等において、必要に応じてダウンロードして活用できるようにすることを想定している。

## 4) 動画の作成

入浴施設が関連するレジオネラ症の事例では、レジオネラ属菌が浴槽等で増殖・定着する要因として、洗浄・消毒等の技術的な問題ではなく、管理の不備やミスが見いだされることがある。こうした不備やミスを減らすには、入浴施設においてレジオネラ症の発生を防ぐための体制を形作ることが推奨され、その体制の1つとして管理プログラムを提案している。

入浴施設において管理プログラムを導入するには、その必要性や内容と進め方の理解が不可欠である。そこで、管理プログラムの必要性及び概要を解説するための動画を作成した。動画の内容はPowerPointで作成し、それを口述で解説する形の動画とした。(資料4及び5)

「レジオネラ症防止対策における総合衛生管理プログラムの必要性」というタイトルの動画は保健所の環境衛生監視員及び入浴施設の営業者などに向けて作成した。この動画では、レジオネラ症患者が入浴施設に関連して発生する要因とそれらを除去するためのプログラムの必要性ならびにプログラムの概要を解説した。一方、「入浴施設におけるレジオネラ問題への取り組み方 リスク軽減のための体制づくり」とした動画は、小規模な入浴施設の営業者が管理プログラムを理解しやすいように「レジオネラ症防止対策における総合衛生管理プログラムの必要性」よりも平易な内容とした。わかりやすい内容としたことで、プログラムの導入が容易になることが期待される。

動画は、研究班のホームページで公開し、いつでも視聴できるようにすることを想定している。また、動画に使用したPowerPoint

データも公開することとしている。入浴施設において衛生管理の体制を確立することを目的として、保健所等において活用されることを期待している。必要に応じてPowerPointデータをダウンロードし、自由に修正して、利用していただきたい。

#### D. 研究発表

口頭発表 泉山信司, 小坂浩司, 黒木俊郎. 入浴施設の衛生管理の手引・指針の検討. 環境技術学会, 2024年9月、大阪市

#### E. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

#### F. 別添資料

資料1：入浴施設の衛生管理の手引き  
一般衛生管理 簡易版

資料2：入浴施設の衛生管理の手引き  
Q&A集

資料3：入浴施設の衛生管理の手引き  
パンフレット

資料4：総合衛生管理プログラムに関する動画「レジオネラ症防止対策における総合衛生管理プログラムの必要性」

資料5：総合衛生管理プログラムに関する動画「入浴施設におけるレジオネラ問題への取り組み方 リスク軽減のための体制づくり」

# 入浴施設の衛生管理の手引き 一般衛生管理 簡易版



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）

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

# 入浴施設の衛生管理の手引き

## 一般衛生管理 簡易版

### はじめに

令和3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）「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」では、保健所の現場指導等において活用されることを目指して、入浴施設の衛生管理の手引き（手引き）を作成しました。このたび、手引きをよりハンディーに活用していただくために、キーポイント、カラーの図による解説、レジオネラ属菌が検出された場合の措置といった内容を追加して、一般衛生管理部分の簡易版を作成しました。この簡易版の内容は手引きと同様に、記載している管理方法は提案であり、規定しているものではありません。「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日付け生衛発第1811号厚生省生活衛生局長通知）に基づいて、設備の構造や管理方法を自治体が条例等で定めている場合があります。その場合は条例等を優先させてください。また、洗浄及び消毒方法の紹介において、消毒剤及び薬剤の濃度や循環あるいは静置時間、実施頻度等は参考例です。これらは状況に応じて判断してください。塩素による配管等の金属に対する腐食には十分に留意する必要があります。濃度、時間、頻度等について、適宜専門業者等に相談することが推奨されます。

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）

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

## 目次

貯湯槽	-----	1
補給配管	-----	3
湯口	-----	5
浴槽	-----	6
循環配管	-----	8
ろ過器	-----	9
集毛器	-----	11
熱交換器	-----	12
消毒装置	-----	13
気泡発生装置等	-----	14
水位計及び水位計配管	-----	15
連通管	-----	16
オーバーフロー回収槽	-----	17
調節箱	-----	18
シャワー・打たせ湯	-----	19
原水・原湯、上がり用湯	-----	21
・上がり用水の管理		

\* 本書内における「別添1 公衆浴場における水質基準等に関する指針」、「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」の記載箇所や説明は、「公衆浴場における衛生等管理要領等について」における、それぞれの該当部分を指します。

## 設備名 貯湯槽

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

- I 総則 第2 適用の範囲及び用語の定義 2(9)
- II 施設設備 第1 一般公衆浴場 6 給水、給湯設備 (2)
- III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)、7 給水、給湯設備の管理 (1)

### キーポイント

60°C未満では生物膜内でレジオネラ属菌が増殖する。

- 貯湯槽の湯の補給口から底部に至るまで常に60°C以上（最大使用時でも55°C以上）に保つ。
- 60°C未満の場合には貯湯槽内の湯を消毒する。消毒装置を設置する。

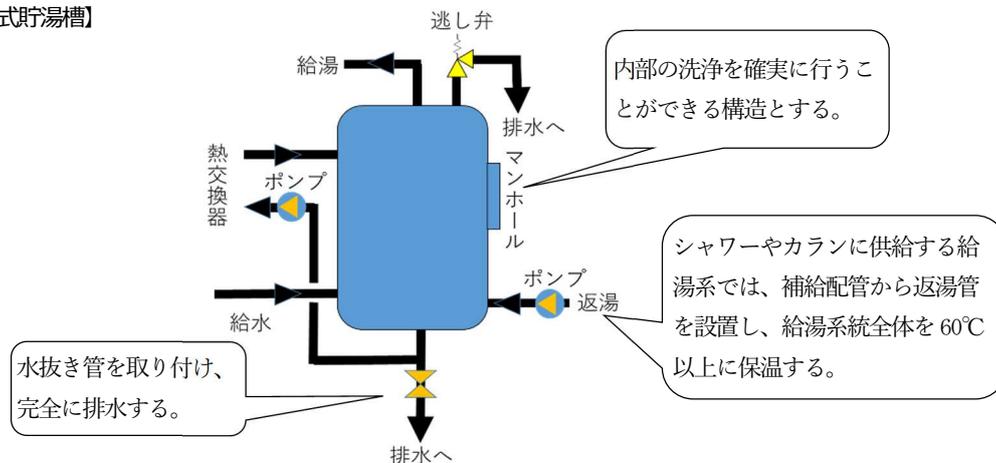
貯湯槽の底部は汚れが溜まりやすく、低温になりやすい。

- 底部に水抜き管を設置するなどして完全に排水できる構造とする。
- 年に1回以上、完全に排水して内部を洗浄・消毒し、スケールを除去する。
- 維持管理記録を残す。

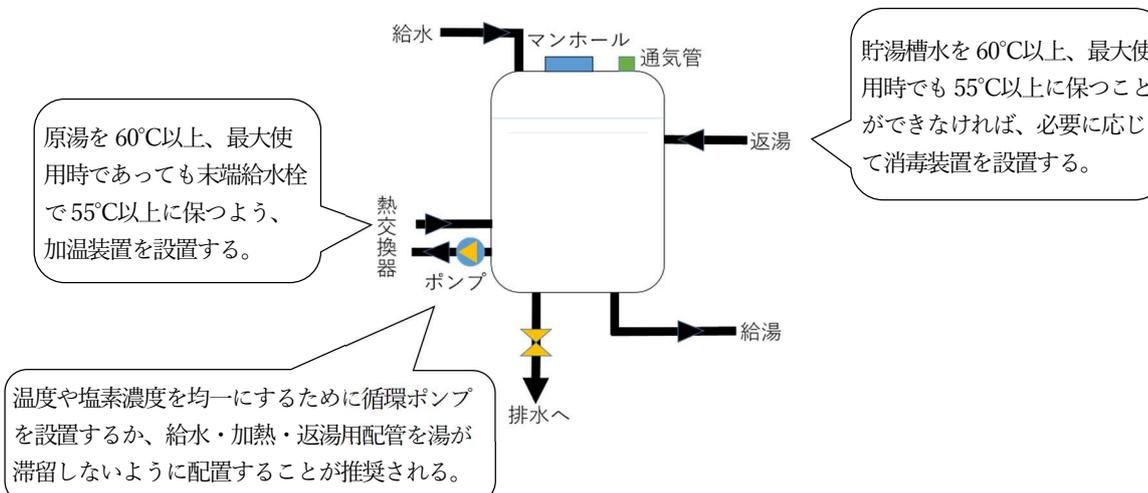
### 設備の概要（構造）

- 密閉式貯湯槽（槽が密閉されて常に湯で満たされている）と開放式貯湯槽（槽上部に開口部があり槽内に空気が入り出る）がある。
- 配管を短くするために開放式・密閉式ともに浴槽に近接して設置することが推奨される。

#### 【密閉式貯湯槽】



#### 【開放式貯湯槽】



## 管理

- 貯湯槽の底部は低温になりやすいため、全体を 60°C 以上に保つように管理する。
- 貯湯槽水を 60°C 以上に保つことができない場合は必要に応じて消毒装置を設置して遊離残留塩素濃度を 0.4 mg/L 以上に保つ。
- 1 年に 1 回以上、完全に排水して内部の洗浄と消毒を行い、スケールを除去する。
- 設備（通気管及びオーバーフロー管の防虫網、マンホールの蓋等）の破損等の確認や温度計や圧力計の性能確認を月に 1 回程度、定期的に実施する。
- 逃し管や開放式貯湯槽の接水面は生物膜が形成されやすいので、定期的に確認する。
- 維持管理記録を付け、3 年間保管することが推奨される。

## レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 貯湯槽や配管系からレジオネラ属菌が検出され、貯湯槽の洗浄・消毒が必要となった場合は、まずブラシや高圧洗浄機を使って貯湯槽の内部を洗浄して生物膜や汚れを十分に除去する。
- 洗浄時にマスクなどを着用して、感染予防に十分留意する。
- 消毒には以下の方法が措置例として挙げられる。塩素系薬剤による金属の腐食には十分留意する。
  - ・ 遊離残留塩素濃度が 50~100 mg/L の塩素系薬剤を噴霧あるいはブラシ等で塗布する。30 分以上放置後に水ですすぐ。消毒とすすぎを 2 回繰り返す。（平成 20 年 1 月 25 日付け健発第 0125001 号厚生労働省健康局長通知「建築物における衛生的環境の維持管理について」を参照）
  - ・ 満水にしてから一例として遊離残留塩素濃度が 50~100 mg/L になるように塩素系薬剤を使用し、2 時間以上放置後に排水する。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 補給配管

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室、および

III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 5 浴室の管理、に関連して手引きで個別項目が追加された設備

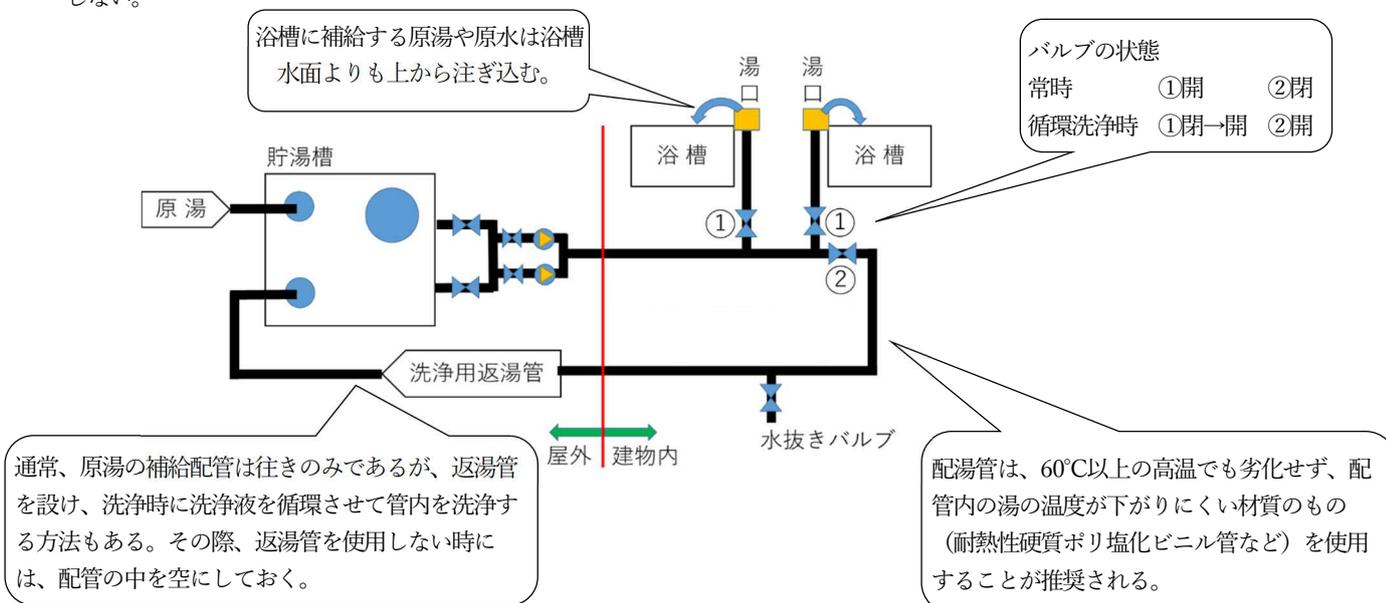
### キーポイント

配管内部の温度が 60°C未満の場合や配管内にスケールが付着している場合は生物膜が形成されやすく、レジオネラ属菌が増殖しやすい。

- 必要に応じて洗浄・消毒し、スケールを除去する。
- 貯湯槽の清掃に併せて配管洗浄を行う。
- 維持管理記録を残す。

### 設備の概要（構造）

- 浴槽に補給する原湯や原水は浴槽水面よりも上から注ぎ込むようにし、給湯配管あるいは給水配管を循環配管には接続しない。

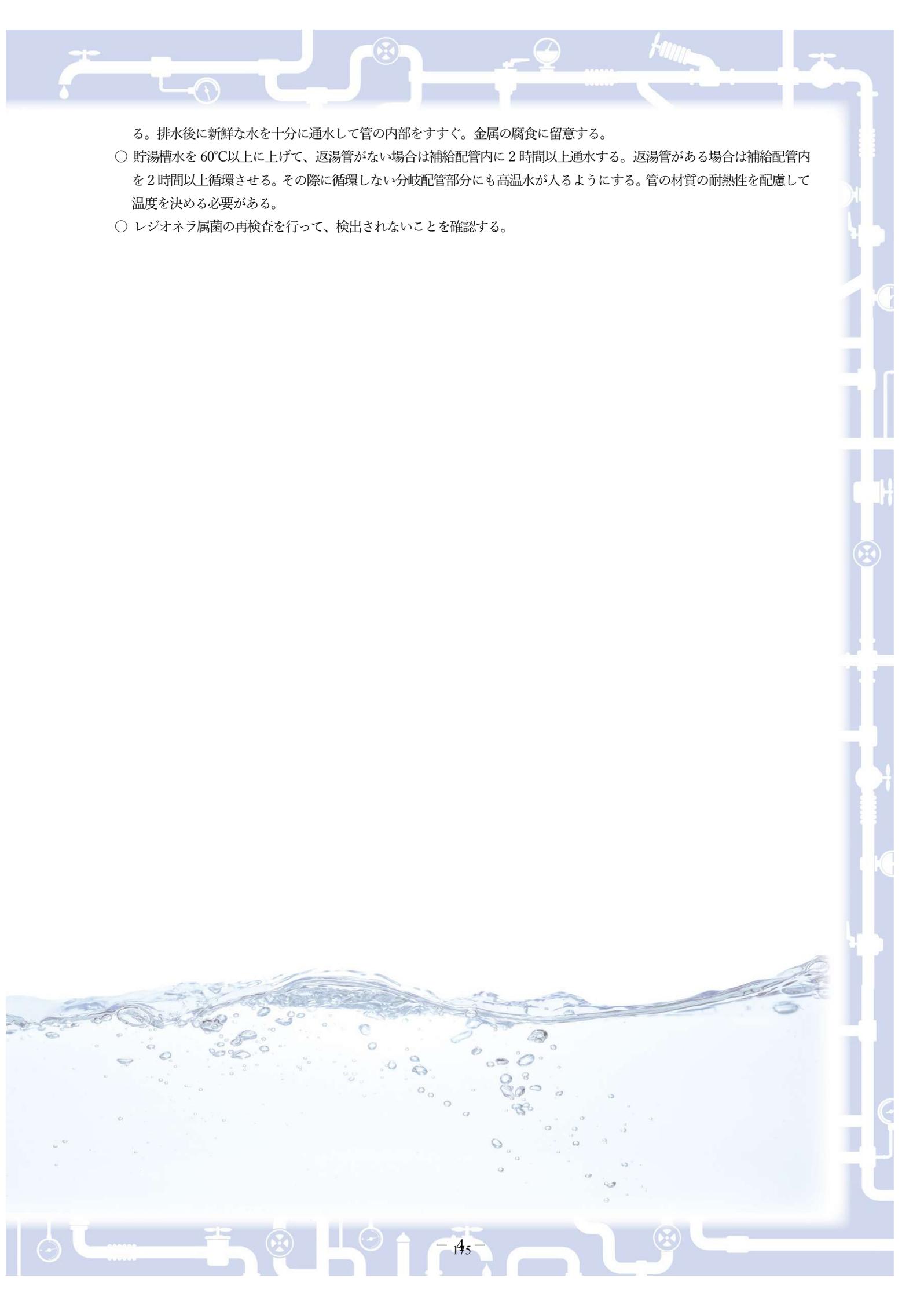


### 管理

- 1年に1回以上保守点検し、必要に応じて被覆その他の補修等を実施する。
- 必要に応じて洗浄・消毒する。
- 生物膜を除去するために貯湯槽の清掃に併せて定期的に配管洗浄（必要に応じてスケール除去）を行うことが望ましい。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 貯湯槽からレジオネラ属菌が検出された場合は、補給配管を含め措置を行う。
- 返湯管がない場合は、一例として遊離残留塩素濃度が 50~100 mg/L になるよう調整した塩素系薬剤を、貯湯槽から補給配管へ流して1時間以上放置して配管内部を消毒する。この操作を2回行ってから、排水後に新鮮な水を十分に通水して管の内部をすすぐ。金属の腐食に留意する。
- 返湯管が設置されている場合は、一例として、遊離残留塩素濃度が 50~100 mg/L になるよう調整した塩素系薬剤を、補給配管と返湯管に2時間以上循環させて管内を消毒する。その際に循環しない分岐配管部分にも消毒剤が入るようにす



る。排水後に新鮮な水を十分に通水して管の内部をすすぐ。金属の腐食に留意する。

- 貯湯槽水を 60°C以上上げて、返湯管がない場合は補給配管内に 2 時間以上通水する。返湯管がある場合は補給配管内を 2 時間以上循環させる。その際に循環しない分岐配管部分にも高温水が入るようにする。管の材質の耐熱性を配慮して温度を決める必要がある。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 湯口

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (12) 2)

### キーポイント

清浄な原水・原湯が循環水や浴槽水に混ざらないようにする。

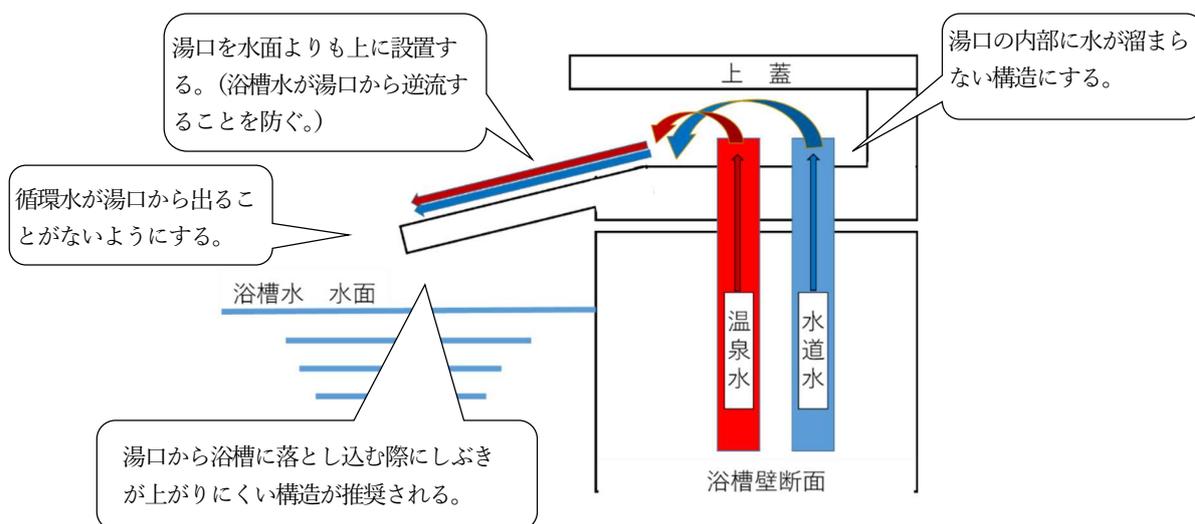
- 循環式浴槽では原水・原湯の注入口は循環配管に接続しない。

循環水や浴槽水の飛沫（しぶき）が出ないようにする。

- 原水・原湯は浴槽水面上部から落とし込む。
- 循環水は浴槽の底部に近い部分から補給する。
- 維持管理記録を残す。

### 設備の概要（構造）

- 湯口を水面よりも上に設置することで浴槽水が湯口から逆流することを防ぐ。
- 循環水はレジオネラ属菌に汚染される危険性があるため、循環水が湯口から出ることがないようにする。



### 管理

- 定期的にブラシを使って洗浄し、塩素系薬剤で消毒する。
- 上蓋が開く構造の場合は、上蓋を開けて洗浄・消毒する。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 湯口のふき取り検体からレジオネラ属菌が検出された場合は、ブラシなどを使って洗浄して生物膜を取り除いた後、塩素系薬剤で消毒する。
- 洗浄時にマスクなどを着用して、感染予防に十分留意する。
- 湯口の湯からレジオネラ属菌が検出された場合は、上流の配管や貯湯槽等の洗浄・消毒を行う。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 浴槽

「別添1 公衆浴場における水質基準等に関する指針」での記載箇所

第2 5 浴槽水

第4 1 水質基準、2 検査方法

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室

III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)、5 浴室の管理 (2) (3) (4) (5)

### キーポイント

レジオネラ属菌が増殖しやすい。

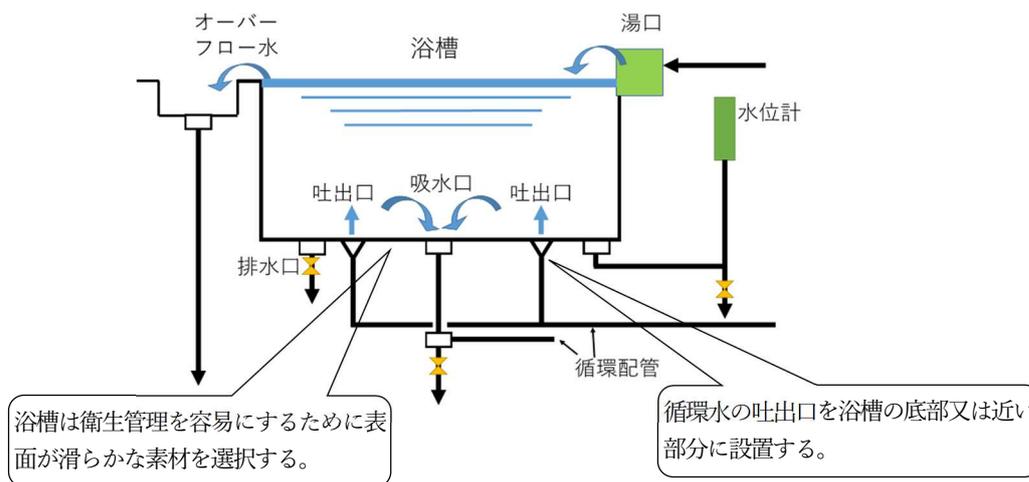
- 毎日完全に換水して浴槽を清掃する。(ろ過器が設置されている場合には、1週間に1回以上完全に換水して浴槽を清掃する。)
- 浴槽水中の遊離残留塩素濃度は通常0.4mg/L程度を保ち、かつ1mg/Lを超えないことが望まれる。(又は、モノクロロミンの場合は結合残留塩素濃度3mg/L程度を保つ。)
- 維持管理記録を残す。

遊離残留塩素濃度は変動しやすい。

- 遊離残留塩素濃度を定期的に測定し、所定の濃度を維持する。
- 濃度の測定記録を残す。

### 設備の概要 (構造)

- 循環式浴槽では、誤飲及びエアロゾル(しぶき、飛沫)の発生を防止するため、循環水の吐出口を浴槽の底部又は近い部分に設置する。
- 浴槽の表面は岩や生木等の表面が凸凹した素材や構造は洗浄・消毒が難しく、生物膜形成やレジオネラ属菌増殖が起きやすい。表面が滑らかな素材ならば管理が容易になる。
- 内湯と露天風呂を配管で接続しない。



### 管理

#### 1) 浴槽

- 毎日完全に換水して浴槽を清掃する。ろ過器が設置されているなどにより毎日換水できない場合には、1週間に1回以上、完全に排水して清掃する。
- 浴槽は完全に排水した際に、浴槽壁や床、手すりその他等をブラシや高圧洗浄機等により洗浄し、一例として、遊離残留塩素濃度が5~10mg/Lの塩素系薬剤を噴霧あるいは塗布して消毒する。
- 浴槽に配管でつながっている付帯設備(ろ過器、循環配管、集毛器、気泡発生装置、熱交換器等)の洗浄・消毒の方法は

各設備の項及びQ&A集を参照。

- 浴槽壁や底部を点検し、損傷部や不要な開口部を塞ぐ。
- 露天風呂は周囲に植栽がある場合、浴槽に土が入り込まないように注意する。
- ATP拭き取り検査を用いれば浴槽壁等の汚れの程度を現場で迅速に確認できる。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

## 2) 浴槽水

- 浴槽水を塩素系薬剤で消毒する場合は、次のとおり濃度を維持する。
  - ・遊離残留塩素濃度 通常0.4 mg/L程度を保ち、かつ1 mg/Lを超えないよう努める
  - ・結合残留塩素濃度 (モノクロラミン) 3 mg/L程度
- 水質検査は、精度管理を行っている検査機関に依頼することが望ましい。
  - ・ろ過器を使用していない浴槽水や毎日換水している浴槽水は1年に1回以上/年
  - ・連日使用している浴槽水は1年に2回以上 (ただし、浴槽水の消毒が塩素消毒でない場合には1年に4回以上)
- レジオネラ属菌が不検出 (10 cfu/100 mL 未満) となるよう、水質基準を維持する。
- 水質検査の結果が、以下の基準に適合していることを確認し、検査結果を3年間保管する。

水質基準 <sup>注1)</sup>

- ・濁度は、5度以下であること。
- ・有機物 (全有機炭素(TOC)の量) は8 mg/L以下、又は、過マンガン酸カリウム消費量は25 mg/L以下であること。<sup>注2)</sup>
- ・大腸菌は、1個/mL以下であること。
- ・レジオネラ属菌は、検出されないこと (10 cfu/100 mL 未満)。

注1：温泉水又は井戸水を使用する場合、この基準により難しく、かつ衛生上危害を生じるおそれがないときは、濁度及び有機物の基準のどちらか又は両方を適用しないことができる。

注2：消毒剤として塩素化イソシアヌル酸又はその塩を使用している場合、全有機炭素 (TOC) の測定ではイソシアヌル酸又はその塩由来の炭素も検出されるため、過マンガン酸カリウム消費量を測定する。

## 3) 遊離残留塩素濃度の測定

- 頻繁に (1時間毎、又は2時間毎など) 測定し、濃度が低ければ、塩素系薬剤を加えて遊離残留塩素濃度を高くする。
- 遊離残留塩素濃度の測定には、DPD法の携帯型簡易測定器等を使用する。
- 測定方法や採水場所、採水方法、測定頻度などを定めた手順書等を作成し、実施する。
- 遊離残留塩素濃度をDPD法等で測定する際にはキットの説明書に従い、測定時間を厳守する。
- 測定記録は測定の日から3年間保管する。

## レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 浴槽水からレジオネラ属菌が検出された場合は、付帯設備 (循環配管、ろ過器、集毛器、熱交換器、気泡発生装置、連通管等) それぞれにおける措置を確認し、マスク等を着用して感染予防に十分留意して、洗浄及び消毒を実施する。また、水位計配管がある場合は同時に洗浄及び消毒を行う。
- 浴槽と付帯設備との間で湯水を循環している場合の洗浄と消毒は循環配管の項を参照。
- 浴槽のみの洗浄及び消毒を行う場合は、ブラシ、高圧洗浄機又は洗浄液等を使用して汚れを除去し、次亜塩素酸ナトリウム等の塩素系薬剤により浴槽を消毒する。消毒方法の一例として、浴槽水が遊離残留塩素濃度40~50 mg/Lになるように消毒剤を加え、5~8時間静置し、その後中和してから排水し、水道水等ですすぐ。(参考、レジオネラ症防止指針 (第5版) 7.6.2 高濃度塩素洗浄など)
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。
- 浴槽壁や底部の損傷や開口部がレジオネラ属菌増殖の原因となる場合は損傷部の補修や開口部の充填を行う。
- 露天風呂から検出された場合は、不検出確認後も浮遊物等の除去に努めるなど、管理を強化する。

## 設備名 循環配管

### 「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

- I 総則 第2 適用の範囲及び用語の定義 (13)
- II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (12) 2) 3)
- III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)

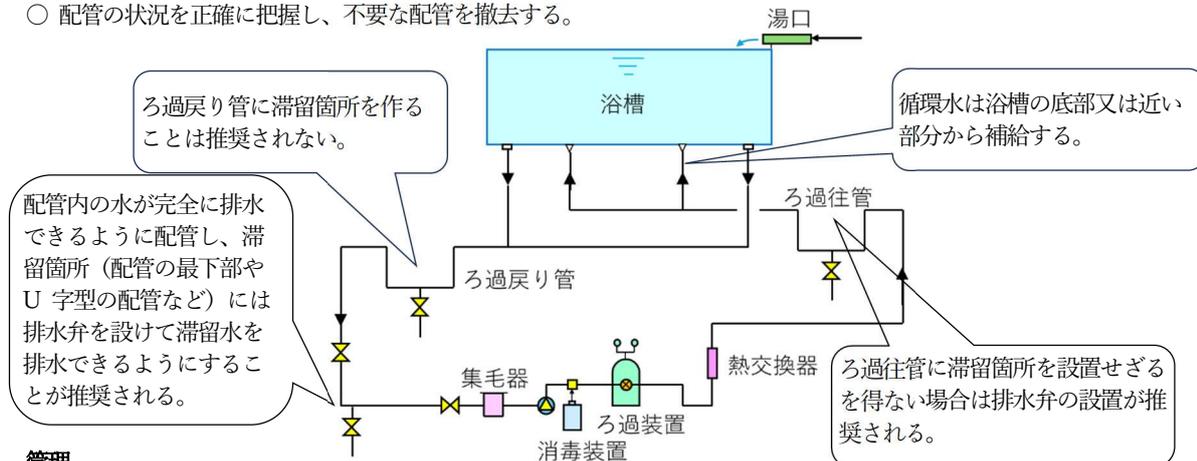
#### キーポイント

浴槽からの戻り配管は特に汚れが多く、生物膜が形成されてレジオネラ属菌が増殖しやすい。

- 1週間に1回以上（毎日が推奨される）、高濃度塩素等を使用した配管洗浄・消毒を行って配管内部の生物膜の形成を防止する。
- 1年に1回以上、循環配管内の生物膜の状況を点検するとともに、あらかじめ決めてある化学洗浄方法（過酸化水素水、過炭酸ナトリウム、二酸化塩素等）により徹底的な洗浄・消毒を実施して生物膜を除去する。
- 循環配管の管理には専門的な知識が必要なため、専門業者への相談や依頼が推奨される。
- 維持管理記録を残す。

#### 設備の概要（構造）

- 逆流並びに汚染防止のため、循環配管に給湯配管あるいは給水配管を直接接続しない。
- 配管の状況を正確に把握し、不要な配管を撤去する。



#### 管理

- 1週間に1回以上（状況に応じて毎日が推奨される）、高濃度塩素等を使用した配管洗浄・消毒を行い配管内部の生物膜を取り除く。一例として通常の高濃度塩素消毒は5～10 mg/Lとし、必要に応じて20 mg/Lあるいは50 mg/Lまで濃度を上げ、1～2時間程度循環させる。
- 1年に1回以上、循環配管内の生物膜の状況を点検する。さらに、薬剤（過酸化水素水、過炭酸ナトリウム等）による化学洗浄と塩素系薬剤による高濃度塩素消毒を組み合わせた洗浄・消毒を実施し、生物膜を除去する。
- スケール成分が付着しやすい水質の場合は、必要に応じて酸性薬品等を用いて配管内のスケールの溶解除去を行う。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

#### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 浴槽水からレジオネラ属菌が検出された場合は、浴槽、集毛器、ろ過器等と同時に配管の洗浄や消毒を実施して、配管内部の生物膜及びレジオネラ属菌を除去する（化学洗浄と高濃度塩素消毒の方法はQ&A集を参照）。
- 循環配管とろ過器を同時に洗浄及び消毒する場合は、浴槽に洗浄液（過酸化水素水又は過炭酸ナトリウム）を入れ、十分に循環させ、中和等の適切な処理後に排水する。清浄な湯水を循環させた後に排水し、塩素系薬剤等で消毒後、清浄な湯水によりすすぎ洗いをを行う。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 ろ過器

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

- I 総則 第2 適用の範囲及び用語の定義 (10)
- II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (12) 1)
- III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)、5 浴室の管理 (11) (13)

### キーポイント

汚れが溜まりやすく表面積が大きいので、生物膜が形成され、レジオネラ属菌が増殖しやすい。

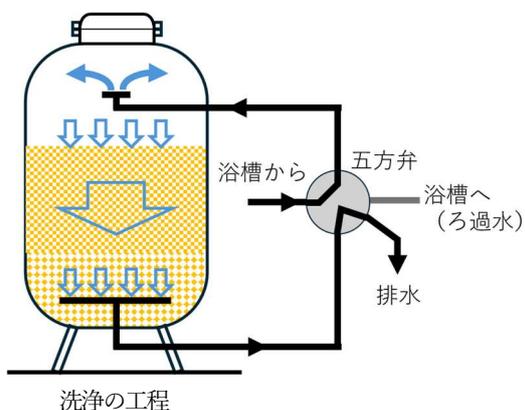
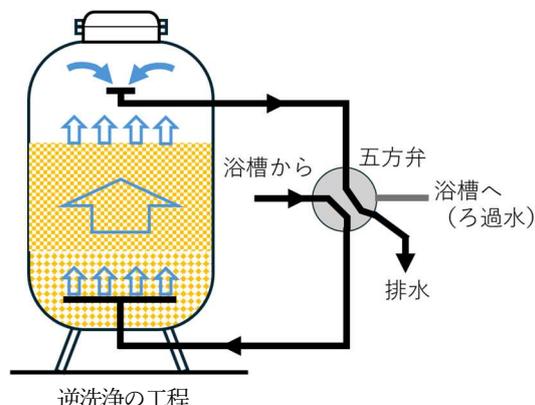
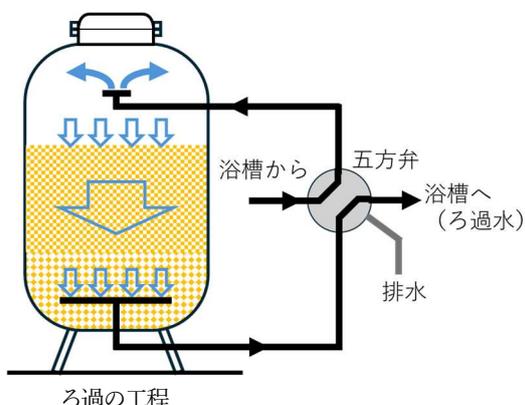
- 浴槽ごとに設置することが望ましい。
- 1時間当たり浴槽の容量以上のろ過能力を有する。
- 逆洗浄を1週間に1回以上実施する(毎日が推奨される)。
- 循環配管とともに高濃度塩素消毒を行う。
- 維持管理記録を残す。

### 設備の概要(構造)

- 入浴者数や浴槽の使用状態で有機物等の汚濁負荷や塩素系薬剤の消費量が異なり、複数の浴槽で塩素系薬剤の濃度や清浄度を均一に保つのが困難なため、浴槽ごとにろ過器を設置するのが望ましい。

### 管理

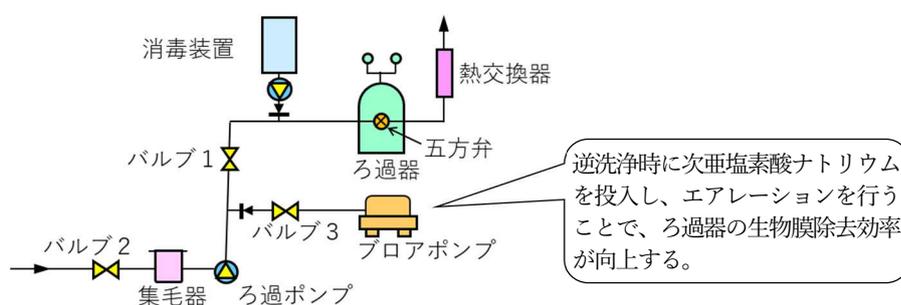
- ろ過器は汚れが溜まり生物膜が形成されやすいため、ろ過器の手前に塩素系薬剤の注入点を設けて、確実に消毒を行う。
- 逆洗浄を1週間に1回以上実施する(毎日が推奨される)。ただし、実施回数は入浴者数や施設の規模等により調整する。
- 逆洗浄の工程は概ね逆洗時間3~5分間、すすぎ2~3分間とされているが、排水を観察して汚れが残るようであれば逆洗時間を長くする。ろ過、逆洗浄、洗浄の各工程の湯水の流れは下図を参照。



- ろ過の工程：通常の運転時に汚濁物質を除去。
- 逆洗浄の工程：ろ材の上に溜まった汚濁物質を排水除去。
- 洗浄の工程：残った汚れを排水除去し、ろ層の乱れを整える。

- ろ過器と循環配管の高濃度塩素消毒<sup>注)</sup>を行って、生物膜の形成を抑制する。
- 浴槽に湯水がある時は、ろ過器及び消毒装置を常に作動させることで遊離残留塩素濃度を維持し、生物膜形成を防ぐ。
- 逆洗浄の方法の一例として、逆洗浄時のエアレーション（空気注入）を行うことで、生物膜の除去に高い効果が期待される。（下図参照）
- 逆洗浄を行うことができないろ過器では、ろ材の交換などの適切な管理を行う。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

注：ろ過器や循環配管等の高濃度塩素消毒は、生物膜を除去するために行う。塩素系薬剤を用いる場合は遊離残留塩素濃度 5～50 mg/L で行う方法、モノクロアミンを用いる場合は結合残留塩素濃度 10 mg/L 以上で行う方法などがある。使用する塩素濃度と循環時間に幅があるが、消毒の目的、汚れ具合、泉質などの水の状態、レジオネラ属菌の検出の有無、腐食の危険性などを考慮して濃度や時間及び実施頻度を定める。必要に応じて専門業者等に相談することが推奨される。



#### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 浴槽水からレジオネラ属菌が検出された場合は、浴槽、集毛器、循環配管等と同時に生物膜及びレジオネラ属菌の物理的な洗浄・除去を実施する。
- ろ過器と循環配管に化学的な洗浄又は高濃度塩素消毒を行い、浴槽水の水質検査でレジオネラ属菌の検出がないことを確認する。（化学的洗浄と高濃度塩素消毒の方法はQ&A集を参照）
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 集毛器

### 「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

- I 総則 第2 適用の範囲及び用語の定義 (11)
- II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (12) 1)
- III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)

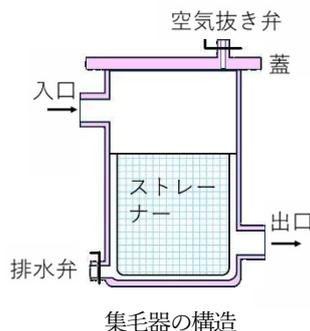
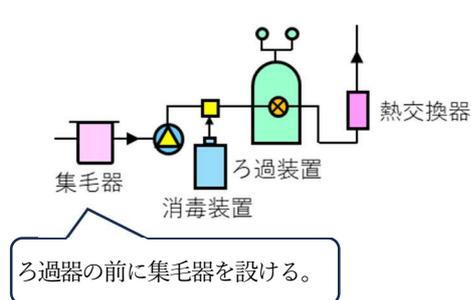
### キーポイント

汚れが溜まるため、生物膜が形成されてレジオネラ属菌が増殖しやすい。

- ろ過器の前（上流）に集毛器を設ける。
- 毎日洗浄と消毒を行う。
- 維持管理記録を残す。

### 設備の概要（構造）

- ろ過器に毛髪等が混入しないように、ろ過器の前に集毛器（ヘアキャッチャー）を設ける。
- 毎日洗浄・消毒する必要があるため、内部の汚れが確認できる透明な蓋を使用し、手で容易に開閉できる構造が推奨される。
- 内部のストレーナー（ゴミ受けのかご）が循環水中の粗大なゴミや汚れを捕集する。
- 循環配管の消毒装置の直前に設置されるために最も汚れやすく、生物膜が形成されてレジオネラ属菌が増殖するリスクが高い。



### 管理

- ストレーナーは複数用意し、交換して使用する。
- 毎日ストレーナーを取り出し、ゴミを取り除いてこすり洗いし、塩素系薬剤（一例として、次亜塩素酸ナトリウム5～50 mg/L）に10分程度浸してから乾燥させる（手引きを参照）。金属製ストレーナーは腐食に留意する。
- 集毛器の内部は、毎日ブラシを用いてこすり洗いを行い、塩素系薬剤で消毒する。
- 洗浄時に内面やストレーナーの ATP 拭き取り検査を行うことで循環配管内部の汚れの程度や残り具合を確認することができる。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 集毛器からレジオネラ属菌が検出された場合は、ストレーナーを取り出して集毛器の内部を十分に洗浄後、高濃度塩素消毒により集毛器の内部を消毒する。前後の汚染も考慮して、集毛器と同時に配管等を洗浄・消毒する。
- 取り出したストレーナーは、十分に洗浄後に塩素消毒する。
- 浴槽水からレジオネラ属菌が検出された場合は、浴槽及び循環配管等と同時に生物膜及びレジオネラ属菌を除去するとともに、上記の方法で集毛器を洗浄・消毒する。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 熱交換器

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (11)

III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)

### キーポイント

生物膜形成に適した温度にあることに加え、スケール形成もあり、レジオネラ属菌が増殖しやすい。

- 生物膜やスケールの除去を定期的に行う。
- 維持管理記録を残す。

### 設備の概要（構造）

- 補給配管や循環配管に設置して配管内の水の熱交換を行う。
- 排水と補給水を熱交換する場合は、給水管は常に正圧（排水管等よりも圧力が高い状態）にし、ピンホールができてても排水が給水管に入らないようにする。

### 管理

- 給水管のピンホールの有無を定期的に点検する。
- 熱交換器内部の生物膜とスケールの除去を定期的に行う。
- 浴槽に熱交換器のみが付帯して配管でつながっている場合、化学洗浄や高濃度塩素消毒を行うことが望ましい。塩素系薬剤による腐食には十分に留意し、必要に応じて熱交換器のメーカー等に相談する。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 補給配管、浴槽、循環配管等と同時に洗浄・消毒を行って生物膜及びレジオネラ属菌を除去する。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 消毒装置（消毒設備、薬剤注入口）

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (12) 4)

III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 5 浴室の管理 (7)、(11)

### キーポイント

ろ過器は表面積が大きくレジオネラ属菌が増殖しやすい。

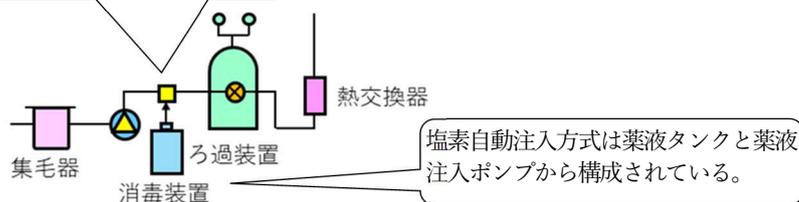
- 塩素系薬剤は、浴槽水がろ過器内に入る直前に注入する。

塩素系薬剤は注入口で固まりやすい。

- 塩素系薬剤の減り具合やつまり、空気をかんでいないかを頻繁に確認し、適切に維持管理する。
- 維持管理記録を残す。

### 設備の概要（構造）

塩素系薬剤の注入（投入）口は、浴槽水がろ過器に入る直前に設置する。



### 管理

- 自動塩素濃度測定器付消毒装置の場合は、自動測定とは別に DPD 法で浴槽水の塩素濃度を測定し、必要に応じて自動測定器の校正を行う。
- 定量注入ポンプが正常に作動して薬液が注入されていることを毎日確認する。
- 塩素系薬剤の減り具合や注入弁のつまりを常に確認し、適切に維持管理する。
- 注入弁を定期的に清掃し、ノズル先端がスケール固着により詰まらないようにし、目詰まりを防ぐ。
- 循環する湯量（浴槽＋ろ過器＋配管の合計）、入浴者数、塩素濃度の測定結果等を踏まえて滴下量を調節する。
- 浴槽に湯水がある時に、塩素濃度を維持して生物膜形成を防ぐために、入浴者がいない夜間等においても、ろ過器及び消毒装置を常に作動させることが推奨される。
- 塩素系薬剤の使用期限に注意し、期限を過ぎた塩素系薬剤は使用しない。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 浴槽やろ過器の塩素濃度が不適切であったためにレジオネラ属菌が検出される場合があり、消毒装置の稼働状況の点検を行い、目詰まりなどが起きていないかを確認し、薬剤の注入に不備が生じている場合は、不備の解消を行う。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 気泡発生装置等

### 「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

- I 総則 第3 特に留意すべき事項
- II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (14)
- III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)、5 浴室の管理 (9)

#### キーポイント

レジオネラ属菌は飛沫(しぶき)とともに吸い込まれる。

- 気泡発生装置等を使用する場合は、浴槽水を毎日換水する。
- 装置等の内部に生物膜が形成されないように確実に洗浄・消毒する。
- 浴槽水換水の都度、内部を洗浄する。
- 維持管理記録を残す。

#### 設備の概要(構造)

- 気泡が発生する設備にはバイブラバス及びジェットバス等が該当する。
- 連日使用している浴槽水を用いる構造としない。
- 空気取入口から土ぼこりや浴槽水等が入らないよう目の細かい防虫網、フィルター等を設置する。
- 気泡板を取り外し可能とし、内部に排水口を設けるなど、点検、清掃及び排水が容易に行うことができる構造とする。

#### 管理

- 気泡発生装置等を設置した浴槽水は毎日換水し、洗浄・消毒を十分に行い、生物膜の定着を防止する。
- ジェットバスの空気取入口は、循環配管の洗浄時に浴槽と空気取入口をホース等で接続し(下写真参照)、ジェットバスの運転を行い、洗浄する。
- ろ過器、循環配管等の過酸化水素水等による化学洗浄あるいは高濃度塩素消毒を実施すると同時に、気泡発生装置を稼働させることで内部を洗浄・消毒する。その際に気泡発生装置を間歇的に稼働させると、水圧の変化で生物膜が剥がれやすくなることが期待されるので、必要に応じて実施する。
- 消毒方法の一例として、遊離残留塩素濃度5~10mg/L(必要に応じて20mg/L、あるいは50mg/Lまで濃度を上げる)を含む湯水を1~2時間程度、浴槽と気泡発生装置等を循環させる。
- 気泡発生装置は浴槽水換水の都度、気泡板を取り外し、内部を洗浄・消毒後、完全に排水する。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。



空気取入口とジェット出口をホースで接続している例

#### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 浴槽水からレジオネラ属菌が検出された場合は、浴槽を高濃度塩素消毒すると同時に、気泡発生装置等と配管内に浴槽水を循環させて消毒する。
- 浴槽の洗浄・消毒は循環配管の項を参照。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 水位計及び水位計配管

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (18)

III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)

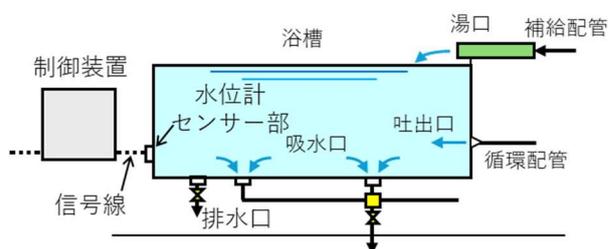
### キーポイント

水位計の配管は湯が留まりやすいため生物膜が形成されやすくレジオネラ属菌が増殖しやすい。

- 循環系統の換水等に合わせ、少なくとも週1回以上、高濃度塩素消毒を実施し、適宜過酸化水素等による化学洗浄を行い、内部の生物膜を除去する。
- 必要に応じて分解し、洗浄・消毒する。
- 維持管理記録を残す。

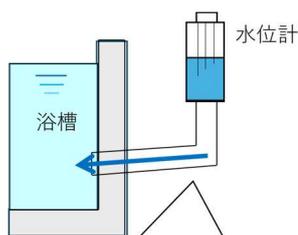
### 設備の概要 (構造)

- 水位計には配管に浴槽水を引き込み、電極棒で水位を検知する電極棒方式と、配管を要せずセンサーで水圧を検知する圧力センサー方式 (右図) がある。圧力センサー方式は配管がないことにより生物膜の形成とレジオネラ属菌発生のリスクを低くする。
- やむを得ず水位計配管を設ける場合には、水位計をできるだけ浴槽に近付けて配管を短くし、浴槽側に下り勾配を設けて、浴槽換水時に水が滞留せずに完全に排水できる構造にする。
- 配管内の水が完全に排水できるように排水弁を設置する。

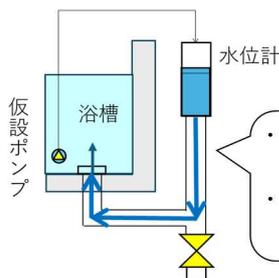


### 管理

- 少なくとも週に1回、循環系統の換水洗浄に併せて高濃度塩素消毒を実施し、過酸化水素水等による化学洗浄を適宜行い、配管内部の生物膜を除去する。
- センサー部分や配管を必要に応じて分解し、洗浄・消毒する。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。



- ・ 浴槽の換水時に排水できる構造にする。
- ・ 水位計はできるだけ浴槽直近にし、配管長を最短にする。



- ・ 配管をU字型にせざるを得ない場合は必ず水抜きを設ける。
- ・ ポンプ等により洗浄液を流すことで配管内部の洗浄を行う。

### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 浴槽水検査でレジオネラ属菌が検出された場合で水位計配管がある場合は、必然的に水位計内部の洗浄・消毒が必要になる。
- 配管内に高濃度の塩素系薬剤を入れて2時間程度放置して、内部を消毒する。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 連通管

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (15)

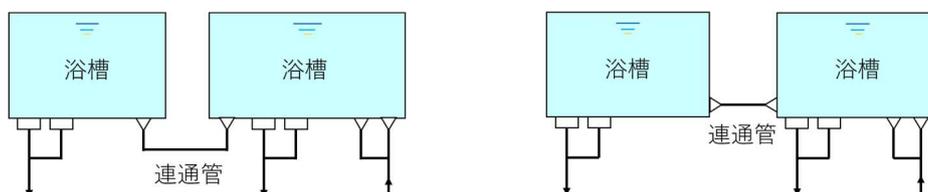
### キーポイント

連通管は湯が留まりやすいため生物膜が形成されやすくレジオネラ属菌が増殖しやすい。

- 浴槽水を換水する際に、別途、洗浄・消毒する。
- ブラシ等による物理洗浄や高濃度の塩素系薬剤等による高圧洗浄を行う。
- 維持管理記録を残す。

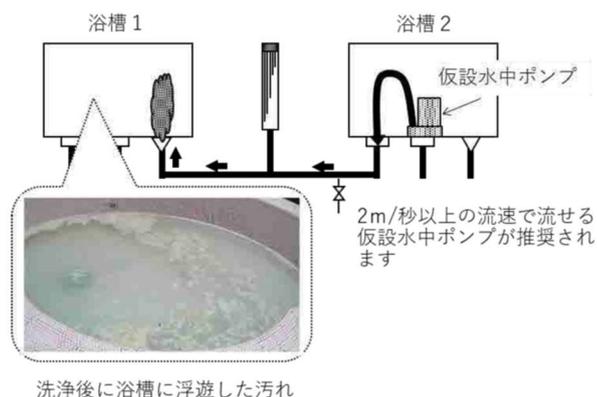
### 設備の概要（構造）

- 浴槽ごとにろ過器を設置することが望ましいが、やむを得ず1台のろ過器で複数の浴槽の浴槽水を処理する場合に、浴槽水位を調整するために設けられた複数の浴槽をつなぐ配管が連通管であり、生物膜が蓄積しやすくレジオネラ属菌が増殖しやすい。
- 内湯と露天風呂の間は配管を通じて露天風呂の湯が内湯に混じらない構造にする。



### 管理

- 通常の循環配管と別系統のため、浴槽水換水時に別途洗浄及び消毒を実施する必要がある。ブラシ等で物理的に洗浄することが望ましく、物理的な洗浄が困難な場合は、高濃度塩素等で高圧洗浄を行う。
- 一例として仮設水中ポンプで、洗浄液を流速2 m/秒以上で強制的に流す物理的な洗浄効果の併用により、配管内の洗浄を行う。(下図参照)
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。



### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 連通管でつながった浴槽の湯水からレジオネラ属菌が検出された場合は、管理の項にあるように、一例として、仮設水中ポンプを設置して過酸化水素水等による化学洗浄を実施した後に、高濃度塩素消毒を実施して配管内の生物膜を除去する。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 オーバーフロー回収槽

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (16)

III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 5 浴室の管理 (8)

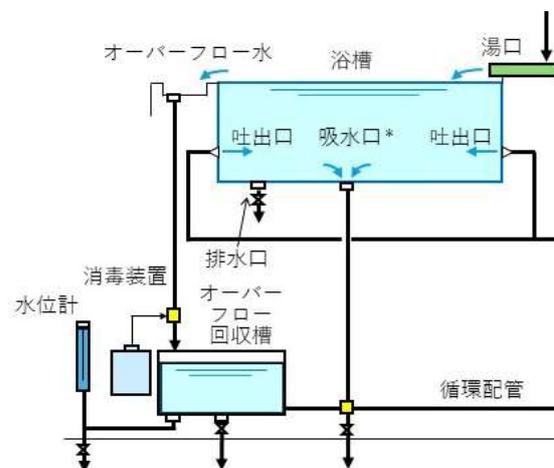
### キーポイント

オーバーフロー水は汚れが多いため生物膜が形成されやすくレジオネラ属菌が増殖しやすい。

- 原則として、オーバーフロー水とオーバーフロー回収槽内の水を浴用に供しない。
- 回収槽は1週間に1回以上完全に排水して壁面の洗浄及び消毒を行う。
- 維持管理記録を残す。

### 設備の概要 (構造)

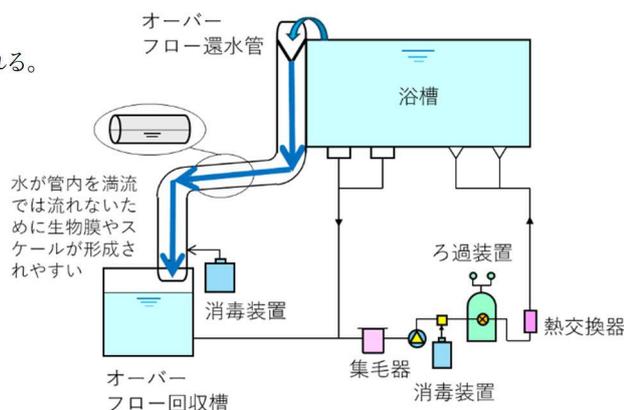
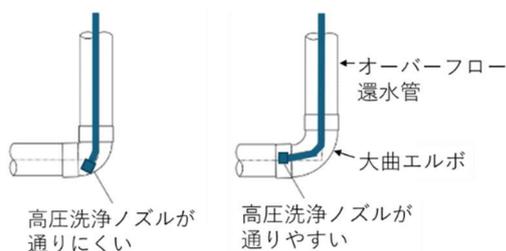
- 原則として、オーバーフロー水とオーバーフロー回収槽内の水を浴用に供する構造としない。
- やむを得ず供する場合はオーバーフロー還水管を直接循環配管に接続しない。
- オーバーフロー回収槽は地下埋設を避け、内部の洗浄・消毒が容易に行える位置又は構造とする。
- オーバーフロー水以外の水 (浴室床排水等) は回収しない。オーバーフロー水を再利用する場合は、消毒設備を設けた回収槽で消毒後に循環配管に戻し、集毛器及びろ過器を通過させて浴槽に戻す。



オーバーフロー回収槽の配置

### 管理

- レジオネラ属菌が繁殖しないように、オーバーフロー回収槽内の水が消毒できる設備を設ける。
- オーバーフロー回収槽内のオーバーフロー水は常時遊離残留塩素濃度を0.4~1 mg/Lに維持する。
- 1週間に1回以上完全に排水して、オーバーフロー回収槽内の壁面の洗浄・消毒を頻繁に行い、3か月ごとにレジオネラ属菌検査を行うことが望ましい。
- オーバーフロー還水管の清掃の一例として、高圧洗浄機による洗浄を示す。高圧洗浄機を使用するためには、配管の屈曲部に大曲エルボを使用する。(下図参照)
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。



### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 浴槽水や回収槽からレジオネラ属菌が検出された場合は、浴槽の高濃度塩素消毒と同時にオーバーフロー回収槽の高濃度塩素消毒を行う。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 設備名 調節箱

「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

- I 総則 第2 適用の範囲及び用語の定義 (12)
- II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (22)
- III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)

### キーポイント

調節箱はレジオネラ属菌の増殖に適した温度で湯が滞留するため、レジオネラ属菌が増殖しないように管理する。

- 清掃しやすい構造が推奨される。
- 薬剤注入口を設ける等、塩素消毒等が行えるようにする。
- 生物膜の状況を監視し、定期的に洗浄・消毒する。
- 維持管理記録を残す。

### 設備の概要（構造）

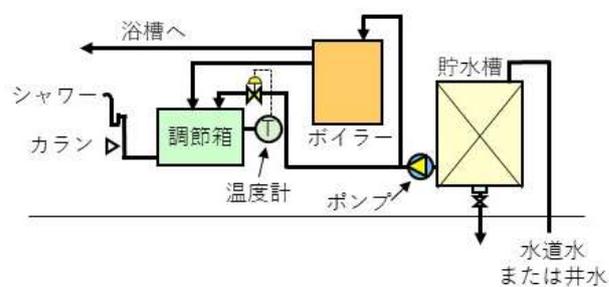
- 沸かし湯と水を混ぜ、カラン（湯栓）やシャワーに送る湯を 45～50℃に調節して貯めておくために設置する。
- レジオネラ属菌の増殖に適した温度のため、洗浄しやすい構造と消毒装置の設置が推奨される。

### 管理

- カランやシャワーでの遊離残留塩素濃度が 0.4～1 mg/L に保たれるように消毒装置を設置する。
- 定期的に洗浄して生物膜が形成されないようにする。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 調節箱の湯からレジオネラ属菌が検出された場合は、内部を物理的に洗浄し、高濃度塩素消毒により内部を消毒する。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。



## 設備名 シャワー、打たせ湯

### 「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」での記載箇所

- II 施設設備 第1 一般公衆浴場 4 浴室 (13) (21)
- III 衛生管理 第1 一般公衆浴場 1 施設全般の管理 (1)、5 浴室の管理 (10)

#### キーポイント

シャワーから生じたエアロゾルは吸入されやすいため、レジオネラ属菌が増殖するリスクを減らす。

- シャワーには循環している浴槽水及びオーバーフロー水を使わず、給湯配管又は給水配管を接続する。
- シャワーヘッドとホースは、定期的な点検（6ヶ月に1回以上）、内部の汚れやスケールの洗浄・消毒（1年に1回以上）、交換が必要である。点検と洗浄・消毒は月に1～2回行うことが推奨される。
- 1日の最後（少なくとも週1回）に、シャワーヘッドとホースの内部の水が水道水に置き換わるよう20～30秒程度通水する。
- 維持管理記録を残す。

#### 設備の概要（構造）

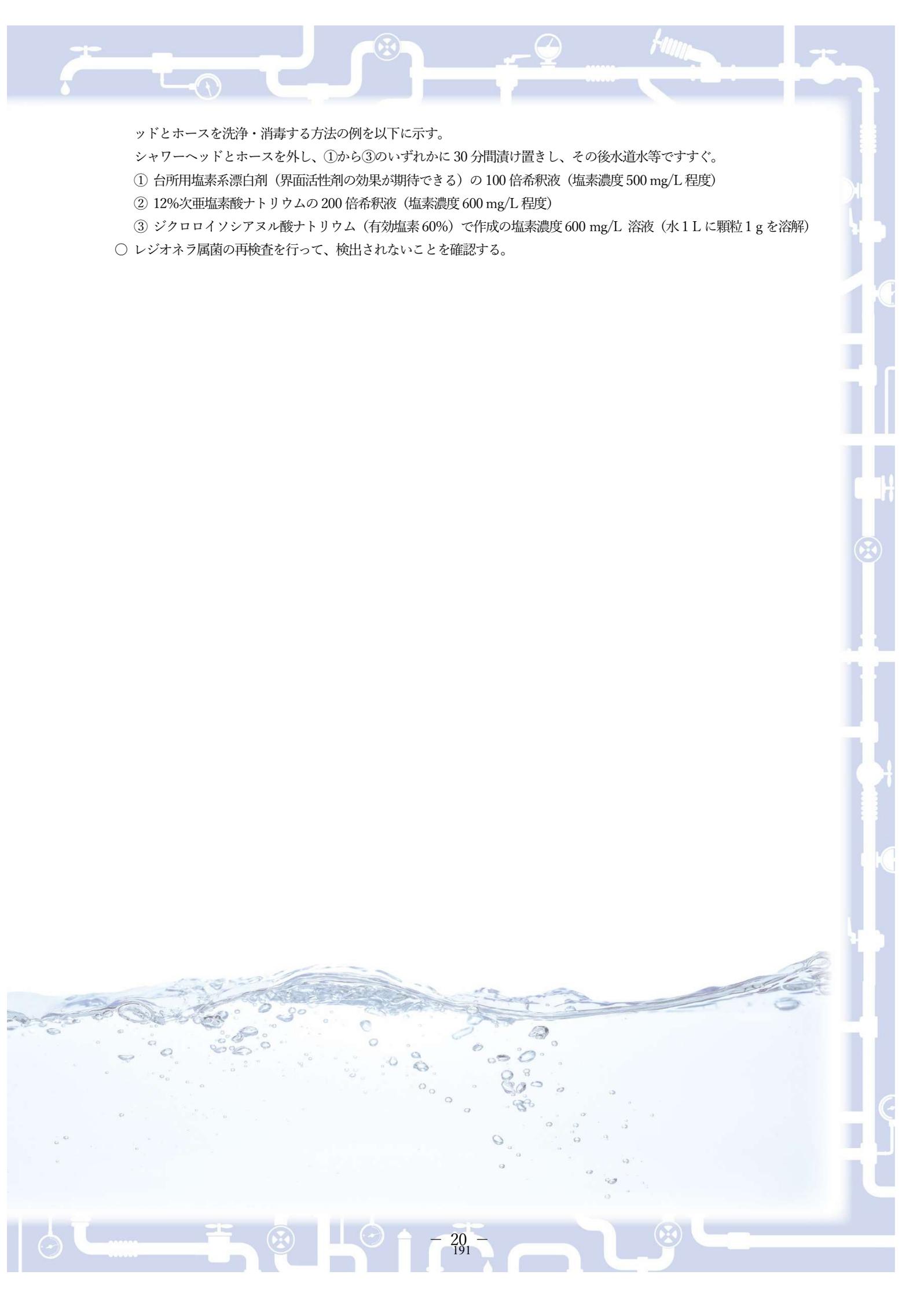
- シャワーヘッドとホースからなり、湯が滞留することで生物膜が形成されてレジオネラ属菌が増殖しやすくなる。
- エアロゾルによりレジオネラ感染が発生する原因となりやすいため、循環水やオーバーフロー水を用いない構造とする。
- シャワー、打たせ湯には循環している浴槽水を用いず、給湯配管あるいは給水配管を接続する。

#### 管理

- 1日の営業開始前に通水して滞留水を排出し、シャワーからの感染のリスクを低減させる。
- 1日の営業終了後に水道水等の残留塩素を含む水でシャワーヘッドとホース内の水が置き換わるように20～30秒程度通水する。これにより内部の滞留水を温度の低い水に置き換え、塩素により菌の増殖を抑えることが期待される。シャワーやカランの給水・給湯に井水を用いている場合は、井水を塩素消毒することが望ましい。
- 調節箱を利用したシャワーの場合は、1日の営業開始前に20～30秒程度の通水を行い、内部の滞留水を排水する。また、1日の営業終了後には、使用頻度の低いシャワーがあれば、通水して内部の滞留水を置き換える。これらの措置により、滞留水を排出し、菌の増殖や感染のリスクを減らす。調節箱の湯は必ず塩素消毒を行う。
- 6か月に1回以上（月に1～2回が推奨される）、点検を行うと同時に、例として次のどちらかの方法で生物膜を除去する。（手引きを参照）
  - ・ シャワーヘッドとホースを外し、可能であれば内部をブラシ類で洗浄後、一例として、10～50mg/Lの遊離残留塩素濃度液に1～3時間漬け置き、水道水ですすぐ。濃度と時間は生物膜の形成状況やシャワーヘッドとホースの材質、腐食の可能性などにより調整する。
  - ・ 60℃以上の高温水で30分間通水する。実施前に、配管の損傷や配管接合部の接着剤の剥離の可能性がないかを確認する。実施時には火傷に十分注意する。
- シャワーヘッドやホースの内部でレジオネラ属菌が増殖するリスクがある。さらに、シャワーはエアロゾルを発生させ、レジオネラ属菌感染の原因となりやすい。そこで、定期的に（まずは6か月に1回程度）①シャワー水、②シャワーヘッドの内側の拭い液、③シャワーヘッドの散水板の外側の拭い液についても、可能な限りレジオネラ属菌検査を行い、検出されないことを確認することが望ましい。検査の結果により検査の頻度を定める（水や消毒の状態によると考えられるが、検出されるなら3ヶ月、1ヶ月、に1回程度と検査頻度を調整する）。
- 維持管理記録を付け、3年間保管することが推奨される。

#### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- シャワー水からレジオネラ属菌が検出されてもシャワーヘッドやホース内で増殖しているとは限らず、上流で増殖している場合がある。そのため、続いて原水、原湯及び上流の設備を調査する。
- シャワー水あるいはシャワーヘッド内側や散水板の外側の拭い液からレジオネラ属菌が検出された場合に、シャワーへ



ヘッドとホースを洗浄・消毒する方法の例を以下に示す。

シャワーヘッドとホースを外し、①から③のいずれかに 30 分間漬け置きし、その後水道水等ですすぐ。

- ① 台所用塩素系漂白剤（界面活性剤の効果が期待できる）の 100 倍希釈液（塩素濃度 500 mg/L 程度）
  - ② 12%次亜塩素酸ナトリウムの 200 倍希釈液（塩素濃度 600 mg/L 程度）
  - ③ ジクロロイソシアヌル酸ナトリウム（有効塩素 60%）で作成の塩素濃度 600 mg/L 溶液（水 1 L に顆粒 1 g を溶解）
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

## 原水・原湯、上がり用湯・上がり用水の管理

「別添1 公衆浴場における水質基準等に関する指針」での記載箇所

第2 1、2、3、4

第3 1 水質基準、2 検査方法

### キーポイント

- 浴槽の湯水を再利用したものではないこと。
- 1年に1回以上、水質検査を行い、その結果は検査の日から3年間保管する。
- 浴槽水の水質基準とは異なり、色度とpHの基準がある。有機物と大腸菌の基準が異なる。

### 水質基準 注1、2)

- ・色度は5度以下であること。
- ・濁度は2度以下であること。
- ・pH値は5.8以上8.6以下であること。
- ・有機物（全有機炭素(TOC)の量)は3 mg/L以下、又は、過マンガン酸カリウム消費量は10 mg/L以下であること。注3)
- ・大腸菌は検出されないこと。注4)
- ・レジオネラ属菌は検出されないこと（10 cfu/100 mL未満）。

注1：温泉水又は井戸水を使用する場合、この基準により難しく、かつ衛生上危害を生じるおそれがないときは、色度、濁度、pH値、有機物の基準の一部又は全部を適用しないことがある。

注2：浴槽水の水質基準とは一部異なるので注意する。

注3：消毒剤として塩酸化イソシアヌル酸又はその塩を使用している場合、全有機炭素(TOC)の測定ではイソシアヌル酸又はその塩由来の炭素も検出されるため、過マンガン酸カリウム消費量を測定する。

注4：大腸菌の検査方法である特定酵素基質培地法は、海水を含む試料では海洋細菌により偽陽性になることがある。海水を含む試料で陽性になった場合は、ダーラム管が入ったECブイヨン10 mLに陽性検体100 µLを接種し、44.5°Cで24時間培養してガス産生が認められた場合は陽性、ガス産生が認められない場合は陰性と判定する。

### 管理

- 原湯と上がり用湯は浴槽の湯を、原水と上がり用水は浴槽の水を再利用したものではないこと。
- 水質検査は、精度管理を行っている検査機関に依頼することが望ましい。
- 水質検査の結果が、上記の基準に適合していることを確認し、検査結果を3年間保管する。

### レジオネラ属菌が検出された場合の措置

- 貯湯槽、貯水槽、配管、シャワー等を洗浄・消毒する。洗浄・消毒の方法は各設備の項及びQ&A集を参照。
- レジオネラ属菌の再検査を行って、検出されないことを確認する。

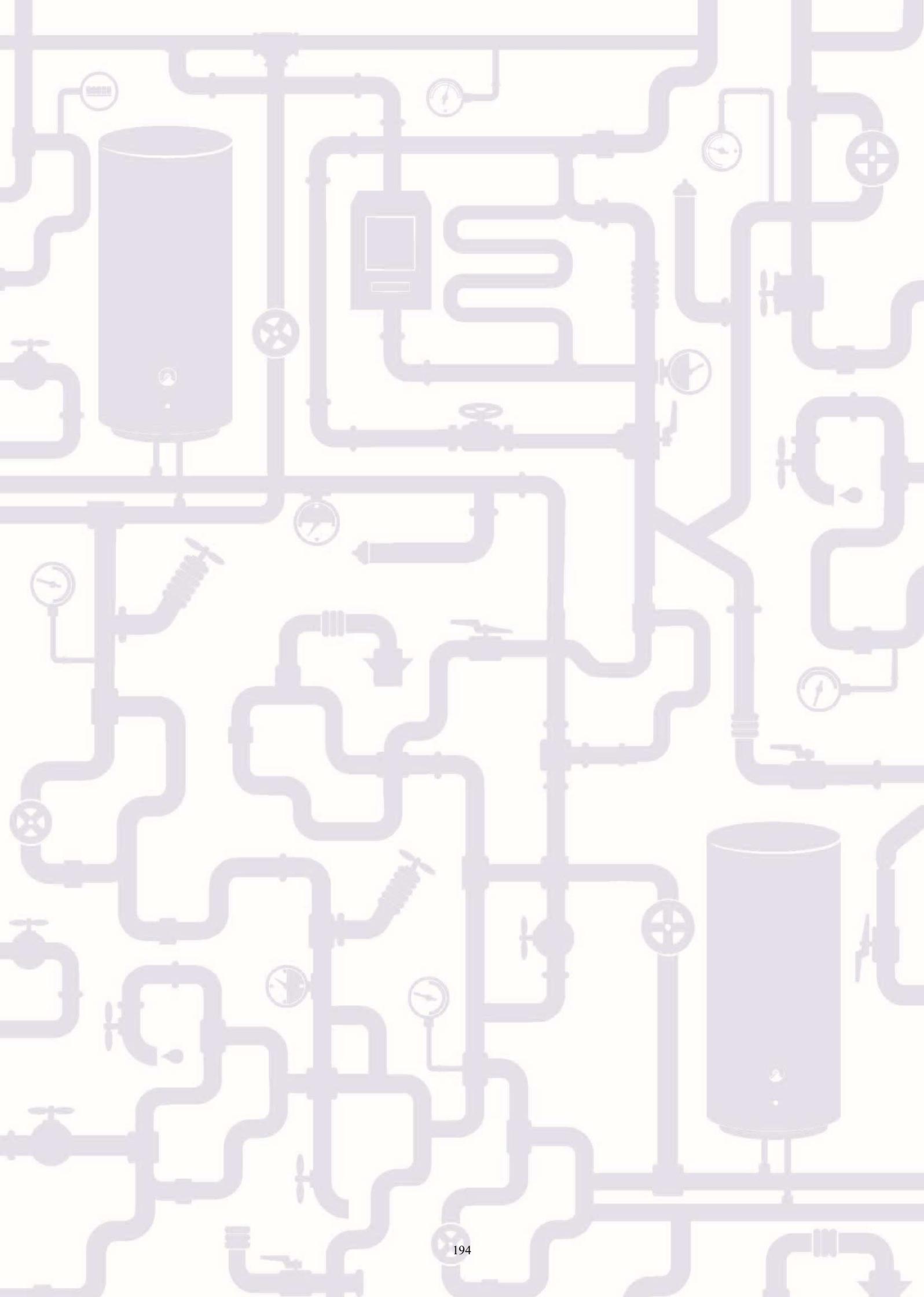
令和6年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所

「入浴施設の衛生管理の手引きの改定」ワーキンググループ及び検討会

黒木俊郎	岡山理科大学
小坂浩司	国立保健医療科学院
前川純子	国立感染症研究所
倉 文明	国立感染症研究所
五十嵐日菜	北海道保健福祉部
金谷潤一	富山県衛生研究所
大森恵梨子	仙台市衛生研究所
武藤千恵子	東京都健康安全研究センター
陳内理生	神奈川県衛生研究所
中嶋直樹	神奈川県衛生研究所
大橋美至	神奈川県厚木保健福祉事務所
枝川亜希子	大阪健康安全基盤研究所
中西典子	神戸市健康科学研究所
平塚貴大	広島県衛生研究所
尾崎淳朗	愛媛県保健福祉部
烏谷竜哉	愛媛県立衛生環境研究所
浅野由紀子	愛媛県四国中央保健所
尾崎吉純	高知県幡多福祉保健所
田栗利紹	長崎県環境保健研究センター
佐々木麻里	大分県衛生環境研究センター
緒方喜久代	大分県薬剤師会検査センター
杉本貴之	宮崎県延岡保健所
中臣昌広	オフィス環監未来塾
斉藤利明	株式会社ヤマト
小森正人	株式会社ヤマト
藤井 明	健美薬湯株式会社
縣 邦雄	アクアス株式会社
石森啓益	柴田科学株式会社
福田隆志	グローバルライフサイエンステクノロジーズ ジャパン株式会社



# 入浴施設の衛生管理の手引き

## Q&A 集

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）  
「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

はじめに

「入浴施設の衛生管理の手引き」（以下、「手引き」といいます）に対するご意見やご要望などを基にして、保健所の環境衛生監視員が現場の指導の際に活用することを想定して Q&A 集を作成しました。この Q&A 集は手引き及び「入浴施設の衛生管理の手引き 一般衛生管理 簡易版」（以下、「手引きの簡易版」といいます）の内容を補完するものであり、入浴施設においてレジオネラ属菌の増殖・定着を抑えるための衛生管理に関する一般的な技術的助言として作成しています。記述した内容が自治体で条例等により規定している事項と異なる場合があります。その場合は条例等を優先してください。

この Q&A 集では洗浄や消毒の方法を紹介していますが、記述している洗浄剤及び消毒剤の濃度や実施頻度等は参考例であり、規定しているものではありません。これらは状況により判断してください。また、塩素による配管等の金属に対する腐食には十分に留意する必要があります。濃度や頻度等について、適宜専門業者等に相談することが推奨されます。

# 目次

総合衛生管理プログラム	-----	1
浴槽の管理	-----	3
浴槽水の管理	-----	5
生物膜	-----	5
消毒方法	-----	6
消毒剤濃度の測定	-----	12
水質基準	-----	15
配管の管理	-----	16
循環配管	-----	16
連通管	-----	18
付帯設備の管理	-----	19
ろ過器	-----	19
集毛器	-----	20
熱交換器	-----	20
給湯器	-----	21
水位計	-----	22
チラー	-----	22
その他の設備の管理	-----	23
サウナ	-----	23
鉍石	-----	23

## 略語等

衛生等管理要領	「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日付け生衛発第1811号厚生省生活衛生局長通知)の「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」
手引き	「入浴施設の衛生管理の手引き」
手引きの簡易版	「入浴施設の衛生管理の手引き 一般衛生管理 簡易版」

## 総合衛生管理プログラム 1

Q：入浴施設においてレジオネラ属菌対策を進めるためには、チーム編成をしなければならないでしょうか。

A：レジオネラ属菌対策のための衛生管理の技術には様々なものがあり、それらを活用することでレジオネラ問題を解決することができます。しかし、レジオネラ問題が存在することを認識し、技術を適切に活用しなければ問題を解決することが難しくなります。そのため、レジオネラ問題を解決するには、衛生管理に関する技術だけではなく、組織体制を確立することが重要です。

総合衛生管理プログラムにおいて編成するチームは、部署横断的な人選によって構成されるもので、異なる部署のスタッフがグループで活動する業務です。施設としてレジオネラ属菌やレジオネラ症に対する危機意識をもって施設一丸となって取り組むことを勧めてください。

もしもレジオネラ属菌が検出された場合やレジオネラ症患者が発生した場合には、感染拡大防止のための措置を講じなければなりません。そのような場面においても、限られた人員で迅速に対応するためには、普段からチームという体制を作り、効率的に対処することが推奨されます。

## 総合衛生管理プログラム 2

Q：チームには衛生管理担当者だけではなく、施設のあらゆる部署の担当者が加わらなければならないでしょうか。フロント係や接客係であっても、浴場の衛生管理やレジオネラ属菌のことを知り、チームに参加したほうがよいでしょうか。

A：レジオネラ属菌対策には施設が一丸となって取り組むことが重要です。レジオネラの問題が存在するという共通認識を持ち、それぞれの部署が連携して継続的に対策を実施していかなければなりません。それぞれの部署の担当者はチームの中で役割を担います。フロント係や接客係が浴場の衛生管理やレジオネラ症を知っていれば、自信を持ってお客様と接することができます。手引にあるチーム編成を、もう少し砕けた表現で列挙すると、役割として次のような内容が例として挙げられます。この中に、レジオネラ属菌対策・施設管理講習会等の受講者がいて、レジオネラ属菌の知識をチームとして有していることも大事です。

○チーム責任者（施設管理責任者等、例えば経営者）

施設の営業・運営方針を定めます。また、チーム会議での現場からの意見等を参考にして方針を新たに定め、あるいは修正します。

○経理担当責任者

施設における衛生管理の重要性を認識し、適切な支出を検討します。

○接客担当責任者

1. 入浴者の人数、性別、年齢などを把握します。
2. 入浴者からの評判、感想、評価、クレームなどの情報を収集し、チームに伝えます。
3. 施設の衛生管理に関する状況等を必要に応じて入浴者に説明します。

○企画担当責任者

管理状況等を把握したうえで入浴施設の良さを宣伝し、イベント等を企画します。

○営業担当責任者

良質の入浴を提供できる根拠を共有して営業活動を行い、顧客からの要望などの情報を収集し、チームに伝えます。

○清掃担当責任者（衛生管理の担当責任者）

入浴施設の衛生管理を担当し、衛生管理状況とレジオネラ属菌検査の結果などをチーム内で説明し、良質の入浴を提供していることやその安全性などをアピールします。

○施設維持管理担当責任者

建物、給水設備、その他の設備の管理を担当し、衛生管理担当者と連携します。

○人事・総務担当責任者

レジオネラ属菌の知識を有する人材を確保したり、人員を配置したり、機材を調達するなどをを行います。

### 総合衛生管理プログラム 3

Q：総合衛生管理プログラムを導入したいが、どうすればよいかわからない。

A：プログラムを導入することを決めたら、一例として、次のように進めることを施設に提案してください。

1. プログラムを総括し、チーム活動を進める責任者を決めてください。
2. プログラムを導入し、チームで活動する目的を決めてください。（例えば、レジオネラ属菌による汚染を予防し、安全で安心できる良質の入浴を提供することを目的とする）
3. チームで活動する目的をスタッフ全員に周知してください。
4. チームに参加する各部署の代表者を決めてください。総勢 10 人以下であれば全員が参加することが推奨されます。
5. レジオネラ属菌に詳しい人を招いて勉強会を開き、レジオネラ属菌対策の重要性を知ってください。レジオネラ属菌に関する講演等にいずれかのスタッフが参加し、職場内での内容の伝達でもかまいません。
6. チームの活動内容を手引きで確認し、チームでの各部署の役割分担を決めてください。（良質の入浴を提供するために各部署で何ができるか、活動内容を相談して決めます。具体的には、衛生管理の実施、設備や危険箇所の把握、物資の調達、施設の方針の検討と決定、情報収集、各種提案など。）
7. チーム会議の開催頻度や開催方法と開催の日程を決めてください。チーム会議を独立して個別に開催するのではなく、類似の会議と合わせて開催することでも構いません。
8. 初回のチーム会議で各部署の役割を公表し、チームでのプログラムの活動計画を作成してください。
9. 計画に従ってプログラムを進め、役割に従って活動してください。
10. 定期的にチーム会議を開催し、衛生管理の状況や各部署の活動内容を公表してください。
11. チーム会議での発表内容と挙げられた意見や提案に基づいて、必要に応じて浴場等の衛生管理を改善し、施設の運営に活用してください。

## 浴槽の管理 1

Q：露天風呂でのレジオネラ属菌の増殖・定着を防ぐための衛生管理上の注意点を教えてください。

A：露天風呂は土ぼこりなどとともにレジオネラ属菌が浴槽に入りやすい特徴があります。そこで、浴槽水の消毒を行っている場合は規定の濃度を確実に維持することが重要です。さらに完全排水時には浴槽壁と浴槽の床、手すりなどの付帯設備を、洗浄剤を使ったブラシ洗浄や高圧洗浄により汚れと生物膜を取り除きます。その後に消毒剤（例えば遊離残留塩素濃度が 5～10 mg/L の塩素系薬剤など）（手引きを参照）を塗布または噴霧して消毒し、洗い流します。また、周囲から土や木の葉などが浴槽に入らないように留意する必要があります。その他の事項については「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」（平成 13 年 9 月 11 日付け健衛発第 95 号厚生労働省健康局生活衛生課長通知）を参照してください。

## 浴槽の管理 2

Q：かけ流し式温泉においてレジオネラ属菌の増殖・定着を防ぐ衛生管理の方法を教えてください。

A：かけ流し式温泉において、配管、貯湯槽・貯水槽（ない場合もあります）、水位計、湯口、浴槽などが設備されている場合、循環式浴槽と同様に、それぞれにおいて生物膜の形成とレジオネラ属菌の増殖が起きるリスクがあります。原湯と湯口の直前までの温度が 60℃以上であれば、この間はレジオネラ属菌が増殖するリスクは低いと判断できます。60℃に達しない場合は、源泉貯湯槽内と配管内および浴槽内の遊離残留塩素濃度を 0.4 mg/L 程度以上に保ちます。その際に浴槽内での濃度が均一であることに留意します。浴槽水の温度は通常 40℃前後であるため浴槽にはレジオネラ属菌が増殖するリスクがあり、日常的にブラシ等を使って浴槽の汚れを十分に取り除くように洗浄し、塩素系薬剤で消毒することにより生物膜の形成とレジオネラ属菌の増殖を防ぎます。浴槽、湯口、配管及び水位計を週に 1 回以上、洗浄と高濃度塩素消毒することが推奨されます。洗浄・消毒の方法は手引きの各設備の項を参照してください。循環させていない配管では、高濃度塩素消毒はポンプと仮設配管を設置して浴槽と配管等の設備で消毒剤を循環させます。循環の方法は手引きの II-3. 補給配管の項を参照してください。いずれの場合もレジオネラ属菌検査を年に 1 回以上実施して、管理が適正であることを確認します。

## 浴槽の管理 3

Q：ヒノキ材を用いた浴槽は消毒剤による消毒が実施しにくく、ブラッシングすることもできないが、適切な衛生管理の方法はないでしょうか。

A：ヒノキ材には塩素系薬剤を塗布または噴霧して消毒することはできないため、洗剤を使って布やスポンジで表面の汚れを落としてから、一例として有効塩素濃度が0.1%の塩素系薬剤溶液を浸み込ませた布で生物膜を取り除くように拭き上げたのちに、十分に水をかけて洗い流します。塩素系薬剤溶液の代わりに抗菌あるいは除菌作用のある洗剤を用いて布やスポンジで表面を洗浄することも有効です。その後水洗いし、乾いた布で表面を拭きます。これにより短時間で表面が乾燥し、生物膜形成の抑制が期待できます。ヒノキ材を長期にわたり維持するにはメンテナンスが重要であるため、専門業者に相談することが推奨されます。

#### 浴槽の管理 4

Q：浴槽内の「手すり」の部分に生物膜が形成され、レジオネラ属菌が増殖しやすくなることが考えられます。「手すり」が設置された施設における管理上の注意点を教えてください。

A：浴槽の清掃時に手すりをブラシやスポンジ等で洗剤を使って汚れを取り除いてから、塩素系薬剤で消毒します。また、手すりや浴槽の接続部分は汚れや生物膜の除去が難しい場合がありますので、重点的に洗浄・消毒を行う必要があります。他に浴槽内に類似の構造物があるときも同様に洗浄・消毒します。なお、構造物を設置する際には、事前にレジオネラ属菌対策も考慮したうえでの設計と設置が求められます。

#### 浴槽の管理 5

Q：個室浴槽の衛生管理について教えてください。

A：個室や個室浴槽は、一般的な公衆浴場の浴槽とは構造が異なりますので、設備の内容により衛生管理の方法が異なってきます。利用者ごとに浴槽を洗浄・消毒し、浴槽水を交換することが推奨されます。追いだし方式であれば追いだし装置内に生物膜が形成されやすいので、例えば、月に1回以上、過炭酸ナトリウムを0.5～1%の濃度、あるいは過酸化水素水を2～3%の過酸化水素濃度にして洗浄します。

個浴や個室浴槽で使用する温水が中央給湯方式で供給される場合と局所給湯方式で供給される場合では若干管理が異なります。

中央給湯方式では60℃以上の温水を循環させ、使用時に水道水と混合して適温にします。本管から分かれた枝管内や蛇口周辺の水は使用していないときに温度が下がり、生物膜が形成されてレジオネラ属菌が増殖しやすくなります。そこで1日に1回以上、高温水のフラッシングを行って枝管内の温度を60℃以上にすることが推奨されます。その際に火傷に留意します。

局所給湯方式も1日1回以上のフラッシングが推奨されます。ただし、局所給湯方式では給湯水を60℃以上にすることができませんので、フラッシングにより枝管内と蛇口周辺の水を新しくします。給水系の蛇口周辺でレジオネラ属菌が増殖することもあるため、給湯系と同様にフラッシングを行って滞留水を排出し、蛇口周辺の遊離残留塩素濃度を維持することが推奨されます。

## 浴槽水の管理 1

### 生物膜

Q：レジオネラ属菌の増殖の場となるアメーバの対策を教えてください。

A：アメーバは生物膜内で生息・増殖するため、生物膜を形成させないことと除去することがアメーバ対策となります。生物膜を形成させないための洗浄・消毒方法は手引き及び手引きの簡易版の各設備の項を参照してください。

## 浴槽水の管理 2

### 生物膜

Q：浴槽壁や浴槽水の ATP 値を測定することでレジオネラ属菌の増殖を把握することはできますか。また、ATP 値の測定の際の注意点を教えてください。

A：ATP 値とレジオネラ属菌の増殖が必ずしも相関するとは限りません。直接的にレジオネラ属菌の増殖を把握することはできませんが、細菌が増殖し、生物膜の形成が疑われる状況を把握することはできます。ATP 値は細菌の汚染や増殖（生物膜の形成）と相関しており、生物膜の形成によりレジオネラ属菌の増殖の危険性が高まります。浴槽水等ではなく、浴槽壁等の設備の表面の拭き取りによる ATP 値の測定により生物膜の形成状況を確認することができます。

まず、日常的に浴槽壁や浴槽水の ATP 値を測定して清浄時の値を把握します。もし、その値が清浄時を超えた場合、浴槽・浴槽水の洗浄・消毒が不十分であるために、細菌が増えて生物膜が形成された可能性があると考えられます。そこで、洗浄と高濃度塩素消毒などにより生物膜の除去を行います。

ATP 値の測定において留意しなければならないのは、測定器の種類やメーカーにより測定感度が異なることです。使用時には測定器の仕様書やメーカーの発信情報から、測定感度や使用時の注意事項を確認してください。ATP 値とレジオネラ属菌の増殖との関係から基準値を示す資料等がありますが、すべての測定器に適用できる数値ではありませんので、目安としてください。

温泉の成分によっては ATP 値の測定を阻害する場合がありますので、温泉水の ATP 値を測定する場合にはメーカーに相談することをお勧めします。

## 浴槽水の管理 3

### 生物膜

Q：浴槽壁や浴槽水の ATP 値を測定したところ、通常よりも高い値を示し、生物膜の形成によってレジオネラ属菌が増殖している可能性が疑われました。どのように対処すればよいでしょうか。

A：浴槽壁等の設備表面で ATP 値が高い場合は、ブラシやスポンジ等で洗浄を行い、その後に消毒します。浴槽水の ATP 値が高い場合は、浴槽や配管等の洗浄と高濃度塩素消毒を行うことが推奨されます。さらに、日々の浴槽水の塩素濃度、換水頻度及び補給水の量が適切であるか、日常の管理の確認を行うことが必要です。遊離残留塩素濃度が 0.4～1.0 mg/L であるにもかかわらず浴槽水の ATP 値が高い場合は、何らかの原因により消毒効果が十分でないことが推測されます。原因を探り、消毒効果を高める必要があります。洗浄・消毒方法は手引き及び手引きの簡易版の各設備の項を参照してください。

## 浴槽水の管理 4 生物膜

Q：浴槽水等の ATP 値の測定又はフローサイトメーター法による菌数計測の活用方法を教えてください。

A：ATP 値の測定又はフローサイトメーターで計測した菌数により試料水中の細菌の存在を推定することができます。例えば ATP 値や菌数が高い値を示した場合は細菌が増殖し、生物膜が形成されていることが疑われます。もし洗浄・消毒後の測定値が高い場合には、細菌や生物膜が残っており、洗浄・消毒の不足が疑われます。そこで、得られた ATP 値や菌数は次のように活用することができます。

1. 浴槽水の測定から、浴槽や配管内に生物膜が形成されていることを推測することができます。
2. 壁面等の測定から、浴槽壁面や集毛器などの洗浄・消毒の効果を判定することができます。
3. 化学洗浄や高濃度塩素消毒により生物膜の形成が抑えられているかを判定することができます。
4. 浴槽水消毒の効果を推測、判定することができます。(例：消毒が不足、換水が不十分で有機物が蓄積など。)

参考文献として以下の研究班報告書があります。

田栗利紹ら：フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究、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）「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和 4 年度総括・分担研究報告書 研究代表者：泉山信司 77-89, 2022.

田栗利紹ら：フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究、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）「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和 5 年度総括・分担研究報告書 研究代表者：泉山信司 102-115, 2023

## 浴槽水の管理 5 消毒方法

Q：pH が高い温泉水を塩素系薬剤で消毒する際の注意点を教えてください。

A：pH が高いと遊離塩素の消毒効果が低下するため、pH8.0 以上の水質で塩素系薬剤による消毒を行

う場合は遊離残留塩素濃度を高めを設定するとともに、換水の頻度を増やし、遊離残留塩素濃度をこまめに測定します。さらに、浴槽や配管等の洗浄と高濃度塩素消毒の実施頻度を増やします。加えて、レジオネラ属菌が増殖・定着していないことを検査により確認してください。pHが高く遊離塩素で十分な消毒効果が得られない入浴施設では、モノクロアミン消毒の導入を検討することも解決法の1つとして挙げられます。

## 浴槽水の管理 6 消毒方法

Q：浴槽水の消毒に使用する消毒剤を選ぶ上での注意点を教えてください。また、浴槽および循環配管の消毒に用いることができる消毒剤にはどのようなものがあるのでしょうか。

A：消毒剤を選ぶ際には浴槽水の水質・泉質に合った製品を選びます。手引き等を参考にしてください。使用前に製品説明書を熟読して、正しく使うことが必要です。メーカーは、各製品の安全データシートを作成していますので、製品の性質を理解しておくことも重要です。施設の担当者が製品の選び方が分からない場合、メーカーや所属の組合等に相談し、適切な製品を選んで使用してください。

浴槽とろ過器・配管に週1回以上実施する高濃度塩素消毒には塩素系薬剤であれば次亜塩素酸ナトリウム、次亜塩素酸カルシウム（さらし粉）や塩素化イソシアヌル酸又はその塩を用います。モノクロアミンや二酸化塩素を用いる場合もあります。これら以外の使用は効果が検証されていないため、レジオネラ属菌検査を頻繁に実施するなどの効果の判定が必要です。

## 浴槽水の管理 7 消毒方法

Q：塩素系薬剤以外の消毒剤を使ってレジオネラ属菌対策を行うことは可能でしょうか。

A：以下の理由により、レジオネラ属菌対策には基本的に塩素系薬剤を用いることが推奨されます。

1. 濃度を維持することで効果が持続する。
2. 入浴に使用する濃度では人体に影響を及ぼさない。
3. 消毒剤の濃度が測定できる。
4. 取り扱いが簡単である。
5. ランニングコストが低い。

「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日付け生衛発第1811号厚生省生活衛生局長通知）の「別添2 公衆浴場における衛生等管理要領」では塩素系薬剤以外の消毒剤を用いる場合には適切な衛生措置を講じることとしています。塩素系薬剤以外の消毒剤を用いる場合は、上記の観点を考慮するとともに、消毒効果を検証するためにレジオネラ属菌検査の頻度を増やし、レジオネラ属菌が増殖・定着していないことを確認することが重要です。

## 浴槽水の管理 8

### 消毒方法

Q：一般に使用されている塩素系薬剤以外の消毒剤の使用濃度を教えてください。

A：塩素系薬剤以外の消毒剤には二酸化塩素や臭素系薬剤、オゾンなどがあります。これらの消毒剤を使用する際には、使用する条件に合わせてメーカーが推奨あるいは指定する濃度で使用します。

二酸化塩素については、「遊泳用プールの衛生基準について」（平成 19 年 5 月 28 日付け健発第 0528003 号厚生労働省健康局長通知）において、「塩素消毒に代えて二酸化塩素で消毒を行う場合には、二酸化塩素濃度は 0.1 mg/L 以上 0.4 mg/L 以下とされています。また、二酸化塩素は生成装置によっては毒性のある未反応の亜塩素酸イオンが残留し、水中の亜塩素酸濃度が高くなることがあるため、亜塩素酸濃度は 1.2 mg/L 以下であることとされています。

市販の臭素系薬剤は水に溶けると次亜臭素酸と次亜塩素酸が生成され、塩素濃度を測定する DPD 法ではこの両者が検出されます。残留塩素換算で、遊離残留塩素濃度と同様、0.4～1.0 mg/L で濃度管理をします。（参考：岐阜県保健環境研究所報第 22 号（2014）資料「温泉水中のレジオネラ属菌に対する塩素及び臭素殺菌に関する検討」）

その他の消毒法については、「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」（平成 13 年 9 月 11 日付け健衛発第 95 号厚生労働省健康局生活衛生課長通知）Ⅲ. 循環式浴槽の管理方法 5. 浴槽の水質管理 2) 消毒方法を参照してください。

## 浴槽水の管理 9

### 消毒方法

Q：浴槽と循環配管等で実施する化学洗浄と高濃度塩素消毒の目的と効果を教えてください。

A：化学洗浄と高濃度塩素消毒は目的と効果が異なります。化学洗浄の主目的は有機物の汚れや生物膜の除去です。化学洗浄では過酸化水素水を 2～3%の過酸化水素濃度または過炭酸ナトリウムを 0.5～1%の濃度にて用います。高濃度塩素消毒の主目的は消毒であり、生物膜の細菌などは減少しますが、使用する濃度によっては死んだ細菌などの生物膜が汚れとして残る場合もあります。平常時の管理における高濃度塩素消毒は、例えば遊離残留塩素濃度を 5～10 mg/L とし、必要に応じて 20 mg/L あるいは 50 mg/L とし、1～2 時間程度循環させて実施します（手引きを参照）。

レジオネラ属菌の対策として、化学洗浄と高濃度塩素消毒は適切に組み合わせて実施する必要があります。化学洗浄と高濃度塩素消毒を常に連続して実施する必要はなく、例えば、化学洗浄は年に数回程度実施し、高濃度塩素消毒は週に 1 回以上の頻度で行います。営業者が化学洗浄や高濃度塩素消毒を自ら実施することは可能ですが、洗浄剤（12%次亜塩素酸ナトリウム、35%過酸化水素水等）の取り扱いには化学の知識を有する担当者が当たるなど、十分な注意が必要です。特に 35%過酸化水素水を用いる場合は専門業者に依頼することが望ましいです。

## 浴槽水の管理 10

### 消毒方法

Q：浴槽水や循環配管からレジオネラ属菌が検出された場合に実施する化学洗浄と高濃度塩素消毒について教えてください。

A：レジオネラ属菌が検出された場合、生物膜が形成されていることが推定されるため、浴槽、ろ過器、循環配管等の化学洗浄を行って生物膜を取り除き、さらに高濃度塩素消毒することが推奨されます。手順の一例を以下に示します。洗浄剤及び高濃度塩素系薬剤の使用には専門的な知識が必要であるため、専門業者に依頼することが推奨されます。

1. ろ過器の汚れを除くために逆洗浄を行う。
2. 汚れ具合を確認または想定した上で、浴槽の湯量を調整（循環に支障がないレベルまで落す）後、適正量の洗浄剤（過酸化水素水では過酸化水素濃度は2～3%、過炭酸ナトリウムでは濃度は0.5～1%）を加えて2～3時間程度循環させる。
3. 化学洗浄に用いた薬剤の中和剤を加えて循環させる。
4. 排水後に水を張り、逆洗浄を行った後に循環して、汚れが残っている場合は再度排水し、1～3回すすぎ（水張り→循環→排水）を行ってから水張りする。
5. 高濃度塩素消毒として塩素系薬剤を遊離残留塩素濃度が40～50 mg/Lになるように加え、濃度の低下に注意し、必要に応じて補充しながら5～8時間循環させる。（参考：レジオネラ症防止指針 第5版）。  
注）通常の高濃度塩素消毒では、例えば遊離残留塩素濃度は5～50 mg/L で1～2時間循環とします（手引きを参照）。
6. 循環終了後に消毒剤の中和剤を必要量加えて循環しつつ中和する。
7. 排水後、浴槽に3分の1程度に水張りし、ろ過器や配管内をすすぐために循環させる。
8. 循環後、ろ過器の逆洗浄を行ってから排水する。
9. 浴槽内をブラシなどで洗浄後に水張りする。

## 浴槽水の管理 11

### 消毒方法

Q：化学洗浄と高濃度塩素消毒を同時に実施することはできますか。

A：一般的に化学洗浄は過酸化水素水又は過炭酸ナトリウムを用い、高濃度塩素消毒は塩素系薬剤を用います。これらの化学物質を浴槽水に溶かすと互いに効果を打ち消しあうため、両方の薬剤を投入して化学洗浄と高濃度塩素消毒を同時に実施することはできません。化学洗浄を実施した後に十分にすすぎを行ってから、高濃度塩素消毒を行います。すすぎが不足すると塩素濃度が上がりにくいので注意を要します。実施方法は本紙「Q&A集 浴槽水の管理10」を参照してください。

## 浴槽水の管理 12

### 消毒方法

Q：高濃度塩素消毒の実施後に塩素臭が残る場合の対策を教えてください。

A：塩素臭が残る原因として、浴槽水の有機物含有量が多い、塩素系薬剤が浴槽水に残っていることが考えられます。いずれの原因であっても、すすぎを十分に行うことで塩素臭の残留を抑えることができます。

## 浴槽水の管理 13

### 消毒方法

Q：モノクロラミンによる消毒を検討している入浴施設がありますが、導入のメリットとデメリット、導入する際に留意すべき点を教えてください。

A：モノクロラミン消毒が適しているのは、浴槽水のpHが比較的高く（pH8.5以上）、アンモニア態窒素が多く（1 ppm）、鉄、マンガン、フミン質等を比較的多く含む泉質です。遊離塩素消毒と比べてのメリットは、高pHやアンモニア態窒素による遊離塩素消毒の効果の低下を回避できる、消毒の濃度が安定する、刺激臭や塩素臭が少ない等が挙げられます。一方、モノクロラミン消毒を行う場合は、用時調製するための設備とその設置場所、結合残留塩素を測定できる残留塩素用測定機器が必要となります。そのため、デメリットは添加装置が必要で経費がかかる、2種類の化学物質を用意する必要がある、添加装置の設置場所を必要とする等が挙げられます。

モノクロラミン消毒を導入する際は、事前に浴槽水中にモノクロラミンを消費する物質が存在するかどうかを確認します。まず、試験管内消毒試験でモノクロラミン濃度が維持できること、つまりモノクロラミン消費量が少ないことを確認します。消費する物質がある場合には継続的にモノクロラミンを添加する必要があります。導入後に適切に消毒が行われていることを、結合残留塩素濃度を測定して確認します。また、レジオネラ属菌検査を行って増殖・定着していないことを確認します。

モノクロラミンは、モノクロラミン生成装置を用いて、塩素系薬剤と同様に浴槽水に添加します。浴槽水中の維持濃度は3 mg/L程度とします。モノクロラミン消毒を行っている場合でも、適切な頻度で配管洗浄とモノクロラミンによる高濃度塩素消毒を行います。厚生労働科学研究の報告書では、高濃度のモノクロラミンで消毒する場合は濃度を10 mg/L以上として、1時間以上循環した後に中和して排水することが報告されています。参考資料を以下に示します。

長岡宏美ら：マンガニオンを含む浴槽水のモノクロラミン消毒の適用 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）「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」平成27年度総括・分担研究報告書 研究代表者：倉文明 33-44, 2016.

## 浴槽水の管理 14

### 消毒方法

Q：オゾンを用いた浴槽水の持続的消毒や、オゾンと塩素系薬剤の併用使用は可能でしょうか。

A：浴槽水を持続的に消毒するためにオゾンを使用することについては、十分な知見が得られていません。浴槽水中のオゾンは短時間で分解し、また塩素系薬剤によって酸素に分解する可能性があるため、併用することは推奨できません。遊泳用プールでオゾン処理を行う例がありますが、浴槽は温度が高い分だけオゾン濃度の維持が難しくなり、浴槽への応用は今後の検討課題です。なお、気相のオゾンは人体に有害であることから、注意を要します。塩素濃度測定に際して、オゾンによってDPD試薬が発色してしまい、塩素濃度を正しく測定することができなくなります。

## 浴槽水の管理 15

### 消毒方法

Q：アルカリ性温泉を利用する施設で塩素系薬剤以外の消毒剤による消毒を希望しています。該当する消毒剤はありますか。

A：アルカリ性温泉に用いることができる、塩素系薬剤に代わる安価な消毒剤は現時点ではありません。塩素系薬剤の添加量を増やして遊離残留塩素濃度を上げるか、モノクロラミンの導入が推奨されます。ただし、温泉のpHによっては次亜塩素酸塩による消毒が期待できない場合があります。臭素系薬剤は塩素系薬剤よりも高pHで有効ですが、固形剤のため安定した濃度の維持が難しく、塩素系薬剤よりも高価格になります。

## 浴槽水の管理 16

### 消毒方法

Q：消毒剤の自動添加装置を設置していない施設において、浴槽水の遊離残留塩素濃度をどのように維持すればよいでしょうか。塩素濃度の減衰を予測しながら消毒剤を添加することで安定的に濃度を維持することはできるでしょうか。

A：自動添加装置を用いずに固形の塩素系薬剤を手投入する等の方法で塩素濃度を一定に保つことは非常に困難です。安定な濃度維持には、少なくとも薬液注入ポンプを設置して塩素系薬剤を添加します。塩素濃度の変動に関連する要因は様々であり、濃度の変動は施設ごと、季節、泉質、入浴者数の状況等により全く異なるため、予測することは非常に困難です。浴槽水の塩素濃度を頻繁に（濃度の変動を勘案して、例えば1時間ごとに）測定し、こまめに薬液注入ポンプの設定を変えて消毒剤の添加量を調整することが推奨されます。濃度の変動を予測するのであれば、月別、曜日別、利用者数な

どの施設独自のデータを蓄積します。それに基づいて濃度の変動を予測して消毒剤を添加することが理論上は可能です。

## 浴槽水の管理 17

### 消毒方法

Q：長期間営業を止める入浴施設の営業停止前と再開時の注意事項を教えてください。

A：長期間営業しない場合は、営業を停止する前に化学洗浄、高濃度塩素消毒の順に実施し、生物膜の除去と消毒を行って、浴槽と配管等を遊離残留塩素濃度が 1 mg/L 程度の水で満たして消毒を維持し、定期的に循環させる等の対策が推奨されます。設備の内容によりますが、乾燥から生じる漏れなどの問題を防ぐために、水を維持する場合があります。設備の専門家との相談を要します。水を全て排水することにしても完全ではなく、残った水に営業停止期間中にレジオネラ属菌が増殖する可能性があります。循環式浴槽の浴槽水を排水し、循環を停止したのであれば消毒が行き届かず、生物膜の形成が進む可能性が高いため、営業開始前に再度化学洗浄と高濃度塩素消毒を実施する又は高濃度塩素消毒のみを実施することで生物膜を除去します。さらに、営業開始前にレジオネラ属菌検査を実施し、検出されないことを確認することが推奨されます。

営業開始前の高濃度塩素消毒の効果判定にフローサイトメトリー法を活用することが厚生労働科学研究の報告書で紹介されています。参考資料を以下に示します。

田栗利紹ら：フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究  
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）「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和4年度総括・分担研究報告書 研究代表者：泉山信司 77-89, 2022.

田栗利紹ら：フローサイトメトリー法等の非培養検査法を利用した衛生管理の推進に関する研究  
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）「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和5年度総括・分担研究報告書 研究代表者：泉山信司 102-115, 2023.

## 浴槽水の管理 18

### 消毒剤濃度の測定

Q：DPD 試薬を使って塩素濃度を測定する場合の注意点を教えてください。

A：温泉水を利用した浴槽水には、様々な化学物質が含まれています。これらが DPD 試薬の発色反応を促進したり、妨害したりする可能性があります。

(例)

- ・鉄イオンの濃度が高い場合は DPD 試薬の反応を阻害して低い値になる
- ・亜硝酸イオンの濃度が高い場合は遊離残留塩素と反応して結合残留塩素となるため、遊離残留塩素濃度が低い値になる

- ・残留塩素以外の酸化作用を持つ物質が含まれている場合は発色が進み、高い値となる
  - ・高濃度のカルシウムイオンが含まれている場合は白濁して測定ができなくなることがある
- また、浴槽水の消毒に、塩素系薬剤と二酸化塩素や臭素系薬剤を併用すると、DPD 試薬が遊離残留塩素だけでなく二酸化塩素や次亜臭素酸に反応し、塩素濃度を正確に測定できなくなるため、注意が必要です。

## 浴槽水の管理 19

### 消毒剤濃度の測定

Q：水道水を原水として利用している入浴施設において、営業時に塩素系薬剤を浴槽水に添加して消毒を行っていますが、DPD 法で遊離残留塩素濃度を測定すると次のような現象が発生しました。こうした現象が起きた場合はどのように解釈して対処すればよいでしょうか。

現象1：DPD 試薬を加えて数分経っても全く発色しない。

現象2：DPD 試薬を加えると一瞬発色するが直ぐに透明になる。

現象3：DPD 試薬を加えて次第に色が濃くなった。

A：**現象1** DPD 試薬を加えて数分経っても全く発色しない場合は、塩素系薬剤が浴槽水に添加されていない可能性や残留塩素が消費されてしまっている可能性、浴槽水中の成分により DPD 試薬の発色が妨害されている可能性が考えられます。添加装置が故障していないか、補充用薬剤は充分にあるかなどを確認してください。製造から長い時間が経過した古い次亜塩素酸ナトリウム溶液は濃度が大きく低下し、浴槽水の消毒が意図した濃度に達しない可能性があるため、製造日、保管状況や原液濃度を確認して、必要により新しいものとの交換や、12%ではなく6%より低い濃度、より低温度な暗所、少量短期間の保管を検討してください。また、浴槽水に有機物が多く含まれていると塩素がすぐに消費されてしまうことや、DPD 試薬の発色反応を阻害することがあります。必要があれば過マンガン酸カリウム消費量や全有機炭素量を測定して、有機物量を確認してください。

**現象2** DPD 試薬を加えると一瞬発色するが直ぐに透明になる場合は、残留塩素濃度が高いことが推測され、塩素系薬剤が過剰に添加されている可能性があります。塩素系薬剤の添加量を確認してください。

**現象3** DPD 法では、水試料に結合塩素が一定以上の濃度で存在すると、発色が次第に濃くなります。正しい遊離残留塩素濃度を測定するために、水試料に DPD 試薬を加えてから何秒以内に濃度測定を行うかがメーカーにより決められているので、説明書に従って測定を行ってください。

## 浴槽水の管理 20

### 消毒剤濃度の測定

Q：簡易な結合塩素濃度測定機器はあるでしょうか。

A：結合塩素濃度を得るには、遊離残留塩素濃度と総残留塩素濃度を測定し、「結合塩素濃度=総残留塩素濃度-遊離残留塩素濃度」で計算します。ヨウ化カリウムを添加して総残留塩素濃度を測定する DPD 法を用いた各種の残留塩素濃度測定機器が販売されています。

## 浴槽水の管理 21

### 消毒剤濃度の測定

Q：塩素濃度の自動測定を行い、薬液が自動で注入されていますが、手動での塩素濃度測定は必要ですか。

A：手動での塩素濃度測定は必要です。計器の指示値と DPD 法の測定値がずれていないことを確認してください。ずれている場合は、計器の校正を行います。校正しきれない場合は、電極の洗浄を行い、再度校正を行います。自動塩素注入装置に詰まりが生じるなど、自動測定と自動注入では対処できないこともあります。

## 浴槽水の管理 22

### 消毒剤濃度の測定

Q：デジタル残留塩素濃度計で塩素濃度を測定する場合に注意することはありますか。

A：デジタル残留塩素濃度計は添付の説明書に従って使用することが重要です。手軽に測定でき、濃度が数値で表示されるといった利点がありますが、多様な水質の浴槽水では正しい測定値が得られない場合があります。例えば、試料に気泡や混濁物質があると正しく測定できずに高めの測定値が示される場合があります。気泡発生装置付きの浴槽や濁りがある浴槽の残留塩素濃度を測定する際には、注意が必要です。その他の注意点は本紙「Q&A 集 浴槽水の管理 18 及び 19」を参照してください。

## 浴槽水の管理 23

### 水質基準

Q：温泉の泉質等の理由から水質基準の適用が除外されるとありますが、どのような泉質が除外されるのでしょうか。

A：「公衆浴場における衛生等管理要領等について」の「別添1 公衆浴場における水質基準等に関する指針」では、原湯、原水、上がり用湯及び上がり用水については「ただし、温泉水又は井戸水を使用するものであるため、この基準により難く、かつ、衛生上危害を生じるおそれがないときは、1のアからエ（※水質基準のうち、色度、濁度、pH値、有機物又は過マンガン酸カリウム消費量）までの基準の一部又は全部を適用しないことができる。」とされ、浴槽水については「ただし、温泉水又は井戸水を使用するものであるため、この基準により難く、かつ、衛生上危害を生じるおそれがないときは、1のア及びイ（※水質基準のうち、濁度、有機物又は過マンガン酸カリウム消費量）の基準のどちらか又は両方を適用しないことができる。」とされています。硫黄分、メタ珪酸、鉄分、フミン質などが多く含まれる温泉水や井戸水では色度や濁度が高くなり、酸性泉やアルカリ泉ではpH値は低値あるいは高値になります。また、フミン質が豊富な温泉では有機物量（全有機炭素（TOC）量又は過マンガン酸カリウム消費量）が多くなります。チオ硫酸イオンや硫化水素イオンが多く含まれる場合は過マンガン酸カリウム消費量が高めに測定されます。こうした温泉水や井戸水は、通常時に基準値を外れていても、自治体の判断により、水質基準の適用が除外されることがあります。しかし、事故などにより基準値を超える場合は除外できません。温泉水や井戸水の水質検査を定期的に行い、あるいは異常の発生が疑われる場合に水質検査を行って、水質を監視する必要があります。

## 浴槽水の管理 24

### 水質基準

Q：レジオネラ属菌以外の項目が基準値を外れた具体例と対策を教えてください。

A：色度、濁度、pH値、有機物又は過マンガン酸カリウム消費量については、温泉水や井戸水を使った原湯や原水について一定の条件下においては基準を適用しないことができるとされています。通常時の値から大きく外れるのは、事故として発生する場合が想定されます。事故の原因を速やかに取り除き、通常の状態に復帰することが求められます。浴槽水における有機物量については過剰な入浴者数と溢水の不足などにより基準値を超えることがあります。ただちに換水と洗浄・消毒を実施して通常の状態に戻すとともに、適正な補給水量や換水頻度の設定を検討して再発を防ぎます。なお、浴槽水の消毒に塩素化イソシアヌル酸又はその塩を用いている場合には、全有機炭素量は測定せず、過マンガン酸カリウム消費量が25 mg/L以下であることを確認します。

## 配管の管理 1

### 循環配管

Q：循環配管内の生物膜の状況を調べる方法はありますか。

A：集毛器接続配管の内面や浴槽の吸い込み口と吐出口付近のぬめりの有無の確認、ATP 値測定あるいは培養による細菌数測定をすることで生物膜形成の状況を確認することができます。また、循環配管中に管の抜き取りが可能な場所を設け、管の内面のぬめりの確認やATP 値測定、細菌数測定で調べる方法もあります。

## 配管の管理 2

### 循環配管

Q：水が滞留する場所を確認する方法を教えてください。

A：滞留を確認するには、滞留しやすい（水が流れにくい、動きにくい）場所を図面と現場確認にて推測します。配管では、行き止まりや鳥居配管、逆鳥居配管（下図参照）、連通管は滞留が生じやすい場所です。その他に、ろ過器や熱交換器などに付属しているバイパス配管、ろ過槽、活性炭槽、集毛器、連通管、水位センサー管などに付属しているドレイン配管があります。また、分岐からバルブまでは水が流れずに死水となっている可能性があります。水位計の配管は非常に滞留しやすい構造が多いです。浴槽の滞留箇所の調査法として、浴槽への循環戻り湯に色付きの入浴剤や蛍光色素（ウラニンなど）を添加して、浴槽内の流れを可視化する方法があります。三角形の浴槽では鋭角部に水が滞留することがあります。なお、設計の段階で、水が滞留する場所をなくすよう、可能な限り事前確認を行うことが重要です。



鳥居配管

逆鳥居配管

## 配管の管理 3

### 循環配管

Q：配管の滞留部の洗浄・消毒のポイントを教えてください。

A：配管の滞留部はできるだけ除去してください。除去できない場合は、高濃度塩素消毒を週に1回以上（毎日が推奨される）行って生物膜の形成を防いでください。滞留部は消毒剤が行き渡りにくいた

め、確実にその部分に消毒剤が入るようにすることが重要です。連通管や水位計配管といった特に通水が難しいところは、仮設ポンプを使うなどして消毒剤が行き渡るようにします。

## 配管の管理 4

### 循環配管

Q：配管内にスケールが発生しやすい施設の対策を教えてください。

A：配管のスケールを除去するには、スケールの成分に応じた化学洗浄を行います。専門知識を要する薬剤を使用しますので、専門業者に依頼することが推奨されます。

## 配管の管理 5

### 循環配管

Q：最近ろ過器のない循環配管が多く見られるようになりましたが、どのように管理したらよいのでしょうか。

A：従来は、ろ過器とその他の付帯設備（集毛器、循環ポンプ、熱交換器等）が設置されている循環配管があり、そうした循環式浴槽でのレジオネラ集団感染が問題とされてきました。最近ろ過器がなく、湯水が浴槽と熱交換器の間を流れる循環配管や、浴槽と集毛器や気泡発生装置等の間を流れる循環配管も見られるようになってきました。ろ過器のない循環配管も生物膜が形成されやすく、レジオネラ属菌が増殖・定着するリスクがあります。公衆浴場とは異なりますが、噴水等の修景施設では水循環装置を原因とするレジオネラ症集団感染が複数報告されています。ろ過器を設置していなければ洗浄・消毒をしなくてもよいとはならず、設備それぞれに適した定期的な洗浄・消毒が重要です。洗浄・消毒方法は、手引きのII-循環配管やII-11. 気泡発生装置等の項を参照してください。

## 配管の管理 6

### 循環配管

Q：入浴施設で正確な配管系統がわからない場合の対応の仕方を教えてください。

A：循環系統図等の図面を探して確認してください。図面を紛失して詳細な配管系統を把握できない場合は、自分で配管を追う、設計者や施工者といった専門業者に依頼するなどして、可能な限り配管の状況を確認してください。確認できない場合は、配管の更新を行うことで把握する方法も考えられます。古く使わない配管は完全に取り除くか、又は新しい使用中の配管から完全に切り離して、滞留が生じないようにしてください。なお、配管を更新する場合は各自治体の条例に合致しているかを確認

してください。正確な配管系統の把握ができるまでの間、配管の更新が終わるまでの間、又は直ちに配管の更新が困難な場合は、自主的な管理を整備します。例えば化学洗浄、高濃度塩素消毒及びレジオネラ属菌検査の頻度を増やすこと等により、レジオネラ症発生を未然に防止するための衛生管理を確実に構築します。

## 配管の管理 7

### 連通管

Q：連通管の洗浄・消毒を循環配管と同時に行う方法を教えてください。

A：化学洗浄又は高濃度塩素消毒の際に、一方の浴槽を洗浄剤又は塩素系薬剤で満たし、もう一方の浴槽の浴槽水を排水する、あるいは連通管に排水バルブが設置されていればバルブから排水すれば、連通管内を液が流れて管内が消毒・処理されます。ただし、この方法では流速が遅いため洗浄効果があまり期待できません。連通管で繋がっている浴槽を消毒剤で満たし、仮設水中ポンプで一方から流し込むことで洗浄することができます。

## 配管の管理 8

### 連通管

Q：営業中に浴槽等の連通管内に水が停滞している施設があるが、このような事例での注意点や改善点はありますか。

A：ろ過器や循環配管の有無に関わらず、例として週に1回以上の頻度で、仮設ポンプを用いて連通管の内部を化学洗浄や高濃度塩素消毒をします。連通管に排水バルブを設置して、内部の水を排水しやすくすることも推奨されます。ろ過器や循環配管があれば連通管と一緒に化学洗浄や高濃度塩素消毒を行い、汚れを除去することが推奨されます。

## 付帯設備の管理 1

### ろ過器

Q：循環式浴槽のろ過器の逆洗浄と高濃度塩素消毒は、どのような頻度で行われているのでしょうか。

A：衛生等管理要領では、ろ過器の逆洗浄は週に1回以上行うこととしていますが、入浴者数の状況や浴槽水の汚れ具合等に応じて頻繁に（例えば毎日）実施することが推奨されます。実際の入浴施設では、営業終了後に自動的に逆洗浄を実施できるようにタイマーを設置している施設が多く見受けられます。一方、ろ過器の高濃度塩素消毒は、逆洗浄と同様に週に1回以上の実施が推奨されますが、これは浴槽水の全換水前に行われる循環配管等の高濃度塩素消毒の一環として実施されます。週に1回を超えて全換水を行っている施設での高濃度塩素消毒の回数は、施設の規模や浴槽の種類、入浴者数、浴槽水の汚れ具合などに応じて設定することになり、必ずしも全換水のたびに行われるわけではありません。

## 付帯設備の管理 2

### ろ過器

Q：砂式ろ過器の管理における逆洗浄の重要性を教えてください。

A：逆洗浄は、ろ材に捕捉された細かいゴミなどの汚れを取り除くことでろ材の目詰まりを防ぎ、ろ過機能が低下しないように維持するための作業です。これにより浴槽水の衛生状態が保たれ、連日使用することが可能になります。また、汚れが取り除かれることで生物膜が形成されにくくなり、レジオネラ属菌が増殖するリスクが低くなります。したがって、逆洗浄は砂ろ過器の管理において、必須であり、最低限必要な措置です。ろ過器の管理については、手引き及び手引きの簡易版を参照してください。

## 付帯設備の管理 3

### ろ過器

Q：砂以外のろ材を使ったろ過器の管理のポイントを教えてください。

A：けいそう（珪藻）土式の場合は、所定の厚さに珪藻土を張ってからろ過を行い、けいそう土を毎日交換します。カートリッジ式の場合は、フィルターの交換が容易という利点がありますが、目詰まりしやすい、逆洗浄が容易ではない又はできない、生物膜が形成されるリスクがあるので早めに（例えば毎週）交換するといったことが管理のポイントです。

## 付帯設備の管理 4

### 集毛器

Q：集毛器の衛生管理のポイントを教えてください。

A：集毛器（ヘアキャッチャー）は循環式浴槽に伴う設備の1つとして、浴槽から送られてくる湯の中の髪の毛等のゴミを取り除くために設置されます。循環配管の消毒装置の直前に設置されるため最も汚れやすく、生物膜が形成されてレジオネラ属菌が増殖するリスクが高い装置です。そのため、循環配管の高濃度塩素消毒だけでは生物膜の形成を防ぎきれない可能性があります。そこで、毎日ストレーナー（ゴミ受けのかご）を外してゴミを取り除いて洗浄し、塩素系薬剤（一例として次亜塩素酸ナトリウムであれば有効塩素濃度で5～50 mg/L）に10分程度浸して消毒してから乾燥させます（手引きを参照）。ストレーナーのスペアがあると交互に使用できるので効率的です。集毛器の内側の汚れをブラシ等で取り除いた後に、塩素系薬剤を噴霧して消毒します。集毛器と続く配管の内面のATP値測定等により循環配管内部の生物膜の形成状況を確認することができます。確認の方法は本紙「Q&A集 配管の管理1」を参照してください。

## 付帯設備の管理 5

### 熱交換器

Q：昇温のための熱交換器や加温装置に続く、循環配管（ろ過器がない）の管理はどのように行えばよいでしょうか。

A：浴槽水の温度を上げるために熱交換器あるいはヒーターと浴槽を配管でつないでポンプで循環させているような場合、ろ過器の有無にかかわらず配管に生物膜が形成され、レジオネラ属菌が増殖する可能性があります。したがって、他の設備と同様に、週に1回以上の高濃度塩素消毒と年に1回以上の化学洗浄を実施することが推奨されます。実施頻度は、入浴施設の規模、入浴者数、浴槽水の汚れ具合、泉質等の状況により増やします。

## 付帯設備の管理 6

### 熱交換器

Q：浴槽からの排水を使って熱交換を行っていますが、注意点はありますか。

A：汚れた浴槽からの排水と給水が薄い管壁で接しているため、腐食などで管にピンホールができた場合には、給水を汚染するおそれがあります。浴場排水は非常に汚れていますので、給水管は常に正圧（排水管より圧力が高い状態）にするとともに、ピンホールができていないか定期的に専門業者による検査を行うことが推奨されます。

## 付帯設備の管理 7

### 給湯器

Q：ヒートポンプ給湯機のレジオネラ属菌対策のための衛生管理を教えてください。

A：ヒートポンプ給湯機は、従来の電熱器やガスに重油のボイラー等による加熱方法よりもエネルギー効率が良く、家庭用だけでなく、公衆浴場や旅館業を含め、様々な分野で業務用の普及が進んでいます。業務用は大量の高温水を作ることができ、大容量の貯湯槽に貯められます。貯湯は、65～90℃で貯められるものがあり、レジオネラ汚染への対策としては60℃以上で維持します。装置は、導入の仕方により貯湯温度が異なったり、貯湯・給湯だけでなく浴槽水の直接・間接の昇温にも使われたり、温泉や排湯から熱回収をしていたり、ヒートポンプ式の冷却装置や発電装置とも組み合わせられていたり様々です。

追いだき機能には、浴槽水を直接的に装置で温めるだけでなく、貯湯槽の湯を用いた熱交換器による間接的な昇温の方法もあります。装置の構成が複雑であることから、レジオネラ属菌対策は原則として装置が指定する方法に従いますが、例えば月に1回以上、熱交換器と追いだき配管内の生物膜を除去します。高濃度塩素消毒は配管を腐食し装置を痛める恐れがあるなどして、多くの場合は推奨されていません。浴槽側にある追いだき口のフィルターは、週1回以上洗浄します（浴槽の洗浄と同時が推奨）。フィルターを外し、ブラシやスポンジで汚れを除きます。

浴槽水などからレジオネラ属菌が検出されたら、追いだき配管内の生物膜とレジオネラ属菌の除去・消毒が必要です。装置に指定された過炭酸ナトリウム等を用いた化学的洗浄を最高設定温度で行うなどして、生物膜の除去とレジオネラ属菌の消毒を行います。処理後にレジオネラ属菌検査を行って、レジオネラ属菌が検出されないことを確認します。

一例として、メーカーが推奨する追いだき配管の洗浄操作は次のように行います。

1. 浴槽側にある追いだき口のフィルターをはずす。（このフィルターは別途洗浄しておく）
2. 追いだき口の上まで水を張る。
3. 指定の量の洗浄剤を水に溶かす。
4. 最高温度に設定して追いだきする。
5. 1～2時間程度放置する。
6. 排水し、再び循環口の上まで水を張る。
7. 再度追いだきする。
8. 排水し、浴槽の壁面等を洗浄する。
9. 十分にすすぐ。塩素消毒を行っていた場合、所定の濃度で維持できることを確認する。すぎが不足すると洗浄剤によっては塩素消毒と打ち消し合うことがあり、注意を要する。

## 付帯設備の管理 8

### 水位計

Q：水位計配管の中にセンサーがあり、物理的に生物膜を除去することが困難で、内部が行き止まりになっているため高濃度の塩素を送り込むことも難しいです。このような水位計の洗浄・消毒はどのように行ったらよいでしょうか。

A：水位計配管は配管水が滞留しやすいために生物膜が形成される可能性が高いです。そのため、配管内部を、高濃度塩素消毒により徹底的に洗浄・消毒する必要があります。行き止まりになっているのであれば、先端部付近にバイパスを設けて、消毒剤が循環できるようにすることを検討してください。バイパスの設置は専門業者に相談することが推奨されます。

## 付帯設備の管理 9

### チラー

Q：水風呂の冷却等に使われるチラーの衛生管理方法を教えてください。

A：チラーは装置に水を循環させて一定の温度に保つための設備です。循環する水のゴミを取るためのストレーナー（ゴミ受けのかご）やフィルターから毎日ゴミを取り除き、ブラシで洗い、チラー内部の水や水風呂水の遊離残留塩素濃度を 0.4～1.0 mg/L に維持します。

## その他の設備の管理 1

### サウナ

Q：レジオネラ属菌対策上、サウナ室はどのように管理すればよいでしょうか。

A：サウナ室においてレジオネラ属菌が検出された、あるいは利用者からレジオネラ症患者が発生したという報告は現時点ではありません。レジオネラ属菌は検出されていないものの、サウナ室の壁などに生物膜が形成され、非結核性抗酸菌やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌が検出されたとする報告があります。そのため、生物膜が形成されないようにサウナ室を定期的に洗浄・消毒することが推奨されます。ミストサウナの場合は、ミスト発生装置の消毒、ミストサウナ室内の天井、壁や床、設備等の洗浄・消毒を毎日行って、生物膜の除去を行うことが推奨されます。サウナ施設内の付帯設備（足湯）からレジオネラ属菌が検出された事例は報告されていますので、リスクを把握して洗浄・消毒するなど、適切に管理することが重要です。

## その他の設備の管理 2

### 鉱石

Q：多孔質の鉱石をろ過器等に使用する際の留意点を教えてください。

A：多孔質な鉱石は、生物膜が形成された内部に消毒剤が届きにくいいため、レジオネラ属菌対策が困難です。そのため、使用を控えることが推奨されます。やむを得ず使用する場合には、浴槽や配管内は必要な塩素濃度を確実に維持します。浴槽水や配管水の頻繁な換水、浴槽や配管の高濃度塩素消毒の実施、特に鉱石のあるろ過器を対象にした定期的で頻繁な洗浄と高濃度塩素消毒の実施、レジオネラ属菌検査の頻繁な実施等などの徹底した衛生管理が不可欠です。

令和6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）

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所

「入浴施設の衛生管理の手引きの改定」ワーキンググループ及び検討会

黒木俊郎	岡山理科大学
小坂浩司	国立保健医療科学院
前川純子	国立感染症研究所
倉 文明	国立感染症研究所
水戸智文	北海道保健福祉部
豊岡大輔	北海道保健福祉部
五十嵐日菜	北海道保健福祉部
大森恵梨子	仙台市衛生研究所
武藤千恵子	東京都健康安全研究センター
陳内理生	神奈川県衛生研究所
中嶋直樹	神奈川県衛生研究所
大橋美至	神奈川県厚木保健福祉事務所
金谷潤一	富山県衛生研究所
磯部順子	富山県衛生研究所
枝川亜希子	大阪健康安全基盤研究所
中西典子	神戸市健康科学研究所
井上花音	岡山県保健福祉部
平塚貴大	広島県衛生研究所
尾崎淳朗	愛媛県保健福祉部
烏谷竜哉	愛媛県立衛生環境研究所
浅野由紀子	愛媛県四国中央保健所
尾崎吉純	高知県幡多福祉保健所
田栗利紹	長崎県環境保健研究センター
佐々木麻里	大分県衛生環境研究センター
杉本貴之	宮崎県延岡保健所
緒方喜久代	大分県薬剤師会検査センター
中臣昌広	オフィス環監未来塾
斉藤利明	株式会社ヤマト
小森正人	株式会社ヤマト
藤井 明	健美薬湯株式会社
縣 邦雄	アクアス株式会社
石森啓益	柴田科学株式会社

## 入浴施設の衛生管理の手引き 概要版

### 1 入浴施設におけるレジオネラ属菌対策の意義

レジオネラ属菌は人に感染する病原細菌であり、風邪症状のポンティアック熱、あるいは重篤なレジオネラ肺炎を引き起こします。レジオネラ症は全国で年間 2,000 件以上の届け出があり、そのうち年間 50 件程の死亡例があります。

レジオネラ属菌は、河川や水溜まりなどの淡水や土壌などの環境に生息している細菌ですが、増殖に適した温度は 20～45℃とされており、入浴施設を適切に管理していないと、レジオネラ属菌が浴槽、ろ過器、集毛器、貯湯槽、配管等の設備内で増殖し、菌を吸い込んだ入浴者に重篤な健康被害を与える可能性があります。

水と長時間接触している配管や浴槽等の表面では、付着した細菌やアメーバが水中の有機物を利用して増え、生物膜（ぬめり）を作ります。レジオネラ属菌は、この生物膜の中に生息するアメーバの体内で大量に増殖し、その結果、浴槽水やシャワー水に浮遊するレジオネラ属菌が増えることで、入浴者に感染します。

生物膜に包まれたレジオネラ属菌は消毒剤から守られており、浴槽の清掃と浴槽水の消毒だけではレジオネラ属菌の発生を防ぐことはできません。生物膜の発生をできるだけ抑え、発生した生物膜を定期的に除去するよう日々管理するとともに、入浴者が吸い込むエアロゾル（空中を浮遊する細かい液体粒子）の発生を防ぐことが極めて重要です。

### 2 衛生管理体制の確認（総合衛生管理プログラム）

📖 手引き 1 ページ

まず、入浴施設において、レジオネラ属菌の増殖・定着を防ぎ、レジオネラ症患者の発生を予防するため、以下の項目について、それぞれの施設の衛生管理体制を確認しましょう。

- (1) 衛生管理の責任者はだれか、実際に管理する担当者はだれか。
- (2) 施設の構造はどうなっているのか、どんな設備があるのか、いつ交換・洗浄・消毒したのか。
- (3) レジオネラ属菌が増えやすい場所やエアロゾルが発生しやすい場所はどこか。
- (4) 重点的に管理すべき場所はどこか、管理状況をどのように確認し、どう記録に残すのか。
- (5) 管理状況が基準を外れたとき、どのような処置をするのか。

次に、施設ごとにこれらの内容を文書化し、日々の衛生管理を計画的に行うための指標とします。そして、組織体制の変更、施設設備の更新や、管理上の不都合が確認された際は、速やかに改訂して施設内で情報を共有し、常に改善していくことが重要です。

参考資料として、施設設備/保守管理のチェックリストや施設設備の点検管理表の例を添付しましたので、各施設の衛生管理体制や、衛生管理状況の確認・文書化にご活用ください。

わからない点があれば、地域を管轄する保健所の生活衛生担当部署に相談しましょう。

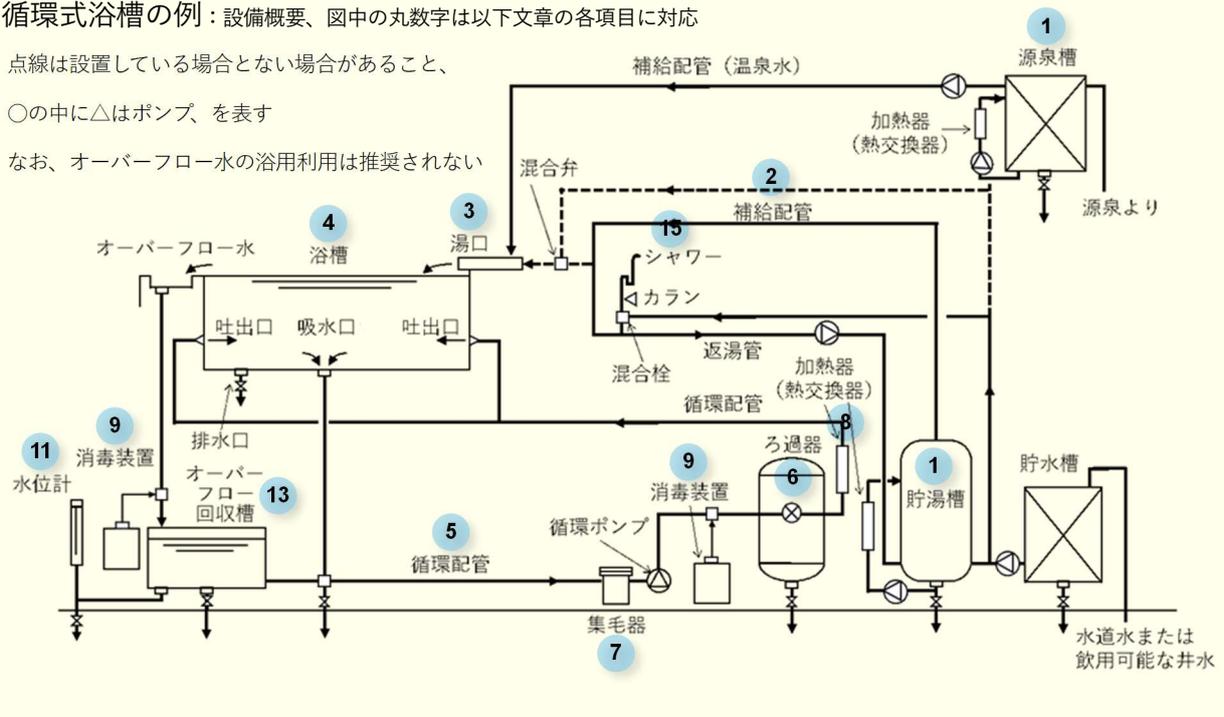
このパンフレットは、厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業「公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法のための研究」が作成した「**入浴施設の衛生管理の手引き**」（令和 4 年 5 月 13 日、以下「手引き」という。）の概要版です。具体的な対応等の詳細は、「📖 手引き」に示した該当ページをご確認ください。

循環式浴槽の例：設備概要、図中の丸数字は以下文章の各項目に対応

点線は設置している場合とない場合があること、

○の中に△はポンプ、を表す

なお、オーバーフロー水の浴用利用は推奨されない



1 貯湯槽 (源泉槽) 📖 手引き 29 ページ

【構造】

- ・湯の補給口、底部等に至るまで 60°C以上を保ち、かつ、最大使用時でも 55°C以上に保つことができる加温装置を設置する。
- ・加温できない場合は、貯湯槽水の遊離残留塩素濃度を 0.4 mg/L 以上に保つことができる消毒設備を設置する。

【管理】

- ・ブラシ等による洗浄で生物膜を除去し、次亜塩素酸ナトリウム溶液等を用いて消毒する。
- ・高圧洗浄では生物膜が残ることがあるので、洗浄後に徹底した消毒で生物膜を除去する。

2 補給配管 📖 手引き 32 ページ

【構造】

- ・給湯配管や給水配管は循環配管に接続しない。
- ・高温で劣化せず、湯の温度が下がりにくい材質 (耐熱性硬質ポリ塩化ビニル等) を使用する。

【管理】

- ・生物膜を除去するため、貯湯槽の清掃に併せて定期的に配管洗浄を実施する。

3 湯口 📖 手引き 33 ページ

【構造】

- ・原水又は原湯の注入口は循環配管に接続せず、浴槽水面上部の湯口から浴槽に落とし込む構造とする。
- ・循環水は浴槽底部に近い部分から補給し、湯口から出さない。
- ・上蓋が外せ、内部の洗浄・消毒が容易な構造が望ましい。

【管理】

- ・定期的にブラシを使って洗浄し、塩素系消毒剤で消毒する。

【構造】

- ・循環水は浴槽底部に近い部分から補給する。
- ・内湯と露天風呂は配管で接続せず、露天風呂の湯が内湯に混じらない構造とする。
- ・浴槽に開口している吸水口、吐出口、排水口、水位計配管等を把握し、使用していない開口穴は物理的に閉塞する。
- ・自然石や木製の浴槽は洗浄・消毒が難しく、表面が滑らかな素材であれば管理が容易になる。

【管理】

○浴槽

- ・浴槽水は常に満水状態とし、溢水（水をあふれさせること）により浮遊物を除去する。
- ・毎日完全に排水して浴槽を洗浄・消毒する。
- ・毎日換水ができない場合、週に1回以上、完全に排水して洗浄・消毒する。
- ・気泡発生装置、ジェット噴射装置等を使用している浴槽や、浴槽水を消毒していない浴槽は、毎日完全に排水して洗浄・消毒する。

○浴槽水

- ・遊離残留塩素濃度 0.4 mg/L 程度を維持し、1 mg/L を超えないようにする。
- ・モノクロラミン消毒の場合は、結合残留塩素濃度 3 mg/L 程度を維持する。
- ・浴槽水中の消毒剤の濃度は、個々の施設で決めた頻度（1～2 時間毎など）で測定・記録し、3 年間保管する。

○水質検査

- ・原湯、原水、上がり用湯及び上がり用水は1年に1回以上、以下の項目を検査する。

項目	水質基準
色度	5 度以下
濁度	2 度以下
pH 値	5.8 以上 8.6 以下
有機物	全有機炭素(TOC) 3 mg/L 以下 又は 過マンガン酸カリウム消費量 10 mg/L 以下
大腸菌	検出されないこと
レジオネラ属菌	検出されないこと (10 cfu/100 mL 未満)

- ・ろ過器を使用していない浴槽水及び毎日完全換水している浴槽水は1年に1回以上、連日使用している浴槽水は1年に2回以上（消毒方法が塩素消毒以外の場合は1年に4回以上）、以下の項目を検査する。

項目	水質基準
濁度	5 度以下
有機物	全有機炭素(TOC) 8 mg/L 以下 又は 過マンガン酸カリウム消費量 25 mg/L 以下
大腸菌	1 個/mL 以下
レジオネラ属菌	検出されないこと (10 cfu/100 mL 未満)

- ・検査結果は3年間保管する。

## 5 循環配管 手引き 40 ページ

### 【構造】

- ・循環している湯水は浴槽の底部に近い部分から補給する（誤飲及びエアロゾル発生防止）。
- ・配管内の浴槽水が完全に排水できる構造とする（滞留場所に排水弁を設置）。
- ・配管の状況を正確に把握し、使用していない配管を撤去する（浴槽や循環系から完全に切り離す）。
- ・循環配管に給湯・給水配管を直接接続しない（逆流による給湯・給水配管の汚染防止）。

### 【管理】

- ・1週間に1回以上（毎日を推奨）、高濃度塩素等を使用した配管洗浄・消毒を行い、配管内部の生物膜を除去する。
- ・1年に1回以上、過酸化水素や過炭酸ナトリウム等の発泡系洗浄剤や二酸化塩素等を使用した配管洗浄・消毒を行い、配管内部の生物膜を徹底除去する（泉質によってはスケール溶解除去も行う）。専門業者に依頼して実施することが推奨される。
- ・ろ過器を設置していない循環配管も、同様に生物膜を除去する。
- ・浴槽に湯水がある間は、営業時間外であっても循環ポンプ、ろ過器、消毒装置を常に作動し、配管内の消毒剤濃度を維持することで生物膜の蓄積を防止する。

## 6 ろ過器 手引き 43 ページ

### 【構造】

- ・1時間当たり浴槽容量以上のろ過能力を有する。
- ・逆洗浄等の適切な方法でろ過器内のごみ、汚泥等を排出できる構造とする。
- ・浴槽ごとに設置することが望ましい。

### 【管理】

- ・1週間に1回以上（毎日を推奨）十分にろ過器を逆洗浄して汚れを排出するとともに、ろ過器及び循環配管について適切な方法で生物膜を除去、消毒する。
- ・浴槽に湯水がある間は、営業時間外であっても循環ポンプ、ろ過器、消毒装置を常に作動させる。
- ・1年に1回以上、ろ過器の蓋を開けて内部の様子を確認し、必要に応じてろ材を交換する。

## 7 集毛器 手引き 46 ページ

### 【構造】

- ・ろ過器の前に設置する。
- ・内部の汚れが確認できるよう透明な蓋を使用し、手で容易に開閉できる構造とすることが推奨される。

### 【管理】

- ・毎日、洗浄・消毒する。
- ・ストレーナーを取り出し、洗浄後、消毒剤に10分程度浸けて消毒する。
- ・配管内部に生物膜が蓄積していたら循環配管全体を洗浄・消毒する。

## 8 熱交換器 手引き 46 ページ

### 【構造】

- ・排水の熱で補給水を加温する場合、給水管は排水管より圧力を高くする。

### 【管理】

- ・給水管にピンホールができていないか定期的に検査する。
- ・熱交換器内部の生物膜やスケール成分を定期的に除去する。

## 9 消毒装置 手引き 47 ページ

### 【構造】

- ・浴槽水の消毒に用いる塩素系薬剤の注入口又は投入口は、浴槽水がろ過器に入る直前に設置する。
- ・貯湯槽が 60°C 以上（最大使用時は 55°C 以上）に保てない場合は消毒装置を設置する。

### 【管理】

- ・浴槽に湯水がある間は、営業時間外も循環ポンプ、ろ過器、消毒装置を常に作動させる。
- ・定期的に薬液タンクの薬剂量を確認し消毒薬を補給する。
- ・注入ポンプが正常に作動し、薬剤の注入が適正に行われているか毎日確認する。
- ・注入弁が目詰まりを起こさないよう、定期的に清掃する。

## 10 気泡発生装置等（ジェット噴射装置等のエアゾルが発生する設備を含む） 手引き 47 ページ

### 【構造】

- ・連日使用している浴槽水を使用しない構造とする。
- ・気泡板を取り外し可能とし、内部に排水口を設けるなど、点検、清掃、消毒、排水が容易にできる構造とする。
- ・空気取入口から土ぼこりや浴槽水等が入らない設置位置・構造とする（砂塵侵入防止のため目の細かい防虫網を設置）。

### 【管理】

- ・使用している浴槽水は毎日換水する。
- ・浴槽水換水の都度、高濃度塩素又は過酸化水素水で洗浄・消毒し、装置内部に生物膜が形成されないよう適切に管理する。

## 11 水位計・水位計配管 手引き 49 ページ

### 【構造】

- ・配管内を洗浄・消毒できる構造又は配管等を要しないセンサー方式とする。

### 【管理】

- ・1週間に1回以上、高濃度塩素や過酸化水素水等で洗浄・消毒し、内部の生物膜を除去する。
- ・必要に応じて分解・洗浄する。

## 12 連通管 手引き 50 ページ

### 【構造】

- ・1台のろ過器で複数の浴槽水を処理する場合に、浴槽水位を調整するため複数の浴槽をつなぐための配管を指す。生物膜が蓄積しやすいため、設置しないことが望ましい。

### 【管理】

- ・循環配管とは別経路であり、浴槽水換水時に別途、ブラシ等による物理洗浄や高圧洗浄後に消毒する。

## 13 オーバーフロー回収槽 手引き 51 ページ

### 【構造】

- ・オーバーフロー水及びオーバーフロー回収槽（以下「回収槽」）内の湯水を浴用に供する構造としない。

- ・やむを得ずオーバーフロー水を再利用する場合は、オーバーフロー還水管を直接循環配管に接続せず、消毒設備を備えた回収槽で消毒後に循環配管に戻し、集毛器とろ過器を通過後に浴槽に入る構造とする。
- ・回収槽は地下埋設を避け、内部の清掃が容易に行える位置及び構造とする（回収槽内の湯水が完全に排水できる構造）。
- ・浴槽からのオーバーフロー水のみを回収し、浴場床排水を再利用しない。

#### 【管理】

- ・回収槽の湯水は塩素系薬剤で消毒する（常時遊離残留塩素濃度を0.4～1.0 mg/Lに維持する）。
- ・オーバーフロー還水管及び回収槽内部の清掃及び消毒を頻繁に実施する（1週間に1回以上完全に排水して回収槽の壁面の清掃及び消毒を行い、3 か月ごとにレジオネラ属菌検査を行って不検出を確認することが望ましい）。

### 14 調節箱 手引き 53 ページ

#### 【構造】

- ・清掃しやすい構造とし、カランやシャワーでの遊離残留塩素濃度が0.4～1.0 mg/Lに保たれるよう、塩素剤を注入できる装置を設置する。

#### 【管理】

- ・生物膜の状況を監視し、必要に応じて洗浄・消毒する（毎日を推奨）。

### 15 シャワー・打たせ湯 手引き 54 ページ

#### 【構造】

- ・循環している浴槽水を使用しない構造とする。

#### 【管理】

- ・少なくとも1週間に1回（毎日を推奨）、内部の水が置き換わるよう通水する。
- ・シャワーヘッドとホースは6か月に1回以上点検し、内部の汚れとスケールを1年に1回以上洗浄、消毒する。

### 16 原水・原湯 手引き 56 ページ

#### 【管理】

- ・1年に1回以上水質検査を行い、結果は3年間保存する（検査項目等は④浴槽の項を参照）。

### 17 上がり用湯・上がり用水 手引き 56 ページ

#### 【構造】

- ・循環している浴槽水を使用しない構造とする。

#### 【管理】

- ・1年に1回以上水質検査を行い、結果は3年間保存する（検査項目等は④浴槽の項を参照）。

### 18 排水 手引き 57 ページ

#### 【構造】

- ・排水設備（排水溝、排水管、汚水ます、温水器（排湯熱交換器）等）として、浴場の汚水を屋外の下水溝、排水ます等に遅滞なく排水できる排水溝等を設置する。

#### 【管理】

- ・排水設備を適宜清掃し、防臭に努め、常に流通を良好に保ち、1か月に1回以上消毒する。
- ・河川・湖沼に排水する場合は、環境保全のため必要な処理（残留塩素の中和等）を実施する。

施設設備／保守管理チェックリスト

○施設管理者等

衛生管理責任者		電話	
衛生管理担当者		電話	
設備保守点検業者		電話	担当
設備洗浄消毒業者		電話	担当

○構造・設備の概要

(1) 補給系統

施設設備	項目	内 容		
原水	種類	<input type="checkbox"/> 温泉 <input type="checkbox"/> 井水 <input type="checkbox"/> 水道水 <input type="checkbox"/> その他 ( )		
	泉質		湧出量	m <sup>3</sup> /h
源泉槽	原水槽の有無	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし	容量	m <sup>3</sup>
	温度設定	<input type="checkbox"/> あり ( °C) <input type="checkbox"/> なし		
	消毒設備の有無	<input type="checkbox"/> あり (消毒剤： )    設定濃度： mg/L <input type="checkbox"/> なし		
	原水消毒の有無	<input type="checkbox"/> あり (消毒剤： )    投入頻度： ( ) <input type="checkbox"/> なし		
	槽の洗浄消毒頻度	<input type="checkbox"/> 年1回 <input type="checkbox"/> 半年に1回 <input type="checkbox"/> 毎月 <input type="checkbox"/> その他 ( )		
貯湯槽	貯湯槽の有無	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし	容量	m <sup>3</sup>
	温度設定	<input type="checkbox"/> あり ( °C) <input type="checkbox"/> なし		
	消毒設備の有無	<input type="checkbox"/> あり (消毒剤： )    設定濃度： mg/L <input type="checkbox"/> なし		
	原水消毒の有無	<input type="checkbox"/> あり (消毒剤： )    投入頻度： ( ) <input type="checkbox"/> なし		
	槽の洗浄消毒頻度	<input type="checkbox"/> 年1回 <input type="checkbox"/> 半年に1回 <input type="checkbox"/> 毎月 <input type="checkbox"/> その他 ( )		
調節箱	洗浄頻度	<input type="checkbox"/> 毎日 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> その他 ( )		
	洗浄方法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒 (消毒剤の種類： )		
補給配管	循環の有無	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし		
	接続先	<input type="checkbox"/> 貯湯槽 <input type="checkbox"/> 湯口 <input type="checkbox"/> シャワー <input type="checkbox"/> カラン <input type="checkbox"/> 打たせ湯 <input type="checkbox"/> 調節箱 <input type="checkbox"/> その他 ( )		
	洗浄消毒頻度	<input type="checkbox"/> 年1回 <input type="checkbox"/> 半年に1回 <input type="checkbox"/> 毎月 <input type="checkbox"/> その他 ( )		
シャワーせ湯	分解洗浄頻度	<input type="checkbox"/> 毎日 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> その他 ( )		
	洗浄方法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒 (消毒剤の種類： )		

## (2) 浴槽・付帯設備

施設設備	項目	内 容	
浴槽	容 量	m <sup>3</sup>	
	材 質	<input type="checkbox"/> 石 <input type="checkbox"/> タイル <input type="checkbox"/> 木 <input type="checkbox"/> その他 ( )	
	循環の有無	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし	循環の目的 <input type="checkbox"/> ろ過 <input type="checkbox"/> 加温 <input type="checkbox"/> その他 ( )
	配管の有無	<input type="checkbox"/> 水位計配管 <input type="checkbox"/> 連通管 <input type="checkbox"/> その他 ( ) <input type="checkbox"/> なし	
	付帯設備の有無	<input type="checkbox"/> 気泡発生装置 <input type="checkbox"/> ジェット噴射装置 <input type="checkbox"/> その他 ( ) <input type="checkbox"/> なし	
	換水・洗浄頻度	回/週	
	換水時の洗浄方法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒 (消毒剤の種類: ) <input type="checkbox"/> 高圧洗浄	
	浴槽水の消毒方法	<input type="checkbox"/> 次亜塩素酸ナトリウム <input type="checkbox"/> モノクロラミン <input type="checkbox"/> ジクロロイソシアヌル酸 <input type="checkbox"/> その他 ( )	
	消毒剤の濃度管理	<input type="checkbox"/> 連続注入 (設定濃度: mg/L) <input type="checkbox"/> 投げ込み ( 回/日) <input type="checkbox"/> その他 ( )	
湯口	補給湯の種別	<input type="checkbox"/> 温泉水 <input type="checkbox"/> 加温水 <input type="checkbox"/> その他 ( )	
	洗 浄 頻 度	回/週	
	洗 浄 方 法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒 (消毒剤の種類: )	
水位計	方 式	<input type="checkbox"/> 電極棒式 <input type="checkbox"/> 圧力センサー式 <input type="checkbox"/> その他 ( ) <input type="checkbox"/> なし	
	洗 浄 頻 度	回/週	
	洗 浄 方 法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒 (消毒剤の種類: )	
連通管	洗 浄 頻 度	回/週	
	洗 浄 方 法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒 (消毒剤の種類: )	
気泡発生装置	管理責任者		
	構 造	・気泡板、噴射口等の取外し ( <input type="checkbox"/> 可 <input type="checkbox"/> 不可) ・内部排水口の有無 ( <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし)	
	内部洗浄頻度	回/週	
	内部洗浄方法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒 (消毒剤の種類: ) <input type="checkbox"/> 高圧洗浄 <input type="checkbox"/> 完全排水	

## (3) 浴用水のろ過・循環系統

施設設備	項目	内 容
ろ過器	ろ過能力	m <sup>3</sup> /時
	ろ材の種類	<input type="checkbox"/> 砂 <input type="checkbox"/> けいそう土 <input type="checkbox"/> カートリッジ <input type="checkbox"/> その他 ( )
	逆洗の頻度	回/週
	逆洗の方法	<input type="checkbox"/> 消毒剤を添加する(種類: 、濃度: mg/L) <input type="checkbox"/> 添加しない
	ろ材交換頻度	回/年 (交換年月日: )
集毛器	洗浄頻度	<input type="checkbox"/> 毎日 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> その他 ( )
	洗浄方法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒剤噴霧 <input type="checkbox"/> 消毒剤浸漬 消毒剤の種類 ( )
消毒装置	消毒剤	<input type="checkbox"/> 次亜塩素酸ナトリウム <input type="checkbox"/> モノクロラミン <input type="checkbox"/> その他 ( )
	消毒剤補充頻度	回/週
	稼働状況確認頻度	<input type="checkbox"/> 毎日 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> その他 ( )
オーバ回収槽	ノズル洗浄頻度	<input type="checkbox"/> 毎日 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> その他 ( )
	回収槽設置場所	<input type="checkbox"/> 地上設置 <input type="checkbox"/> 地下埋設 <input type="checkbox"/> その他 ( )
	使用目的	<input type="checkbox"/> 浴用 <input type="checkbox"/> 加温(熱交換) <input type="checkbox"/> その他 ( )
	消毒設備の有無	<input type="checkbox"/> あり(消毒剤: 設定濃度: mg/L) <input type="checkbox"/> なし(ない場合の対応方法: )
	槽の洗浄消毒頻度	<input type="checkbox"/> 毎日 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> 回/月 <input type="checkbox"/> その他 ( )
循環配管	洗浄方法	<input type="checkbox"/> ブラシ洗浄 <input type="checkbox"/> 消毒剤噴霧 <input type="checkbox"/> 消毒剤浸漬 消毒剤の種類 ( )
	洗浄、消毒頻度	<input type="checkbox"/> 毎日 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> 回/月 <input type="checkbox"/> その他 ( )
	消毒剤の種類	<input type="checkbox"/> 過酸化水素 <input type="checkbox"/> 次亜塩素酸ナトリウム <input type="checkbox"/> 二酸化塩素 <input type="checkbox"/> ジクロロイソシアヌル酸 <input type="checkbox"/> 過炭酸ナトリウム <input type="checkbox"/> その他 ( )
	消毒剤の濃度	mg/L
熱交換器	スケール除去	<input type="checkbox"/> あり(薬剤: 、頻度: 回/ ) <input type="checkbox"/> なし
	ピンホール確認	<input type="checkbox"/> 回/年 <input type="checkbox"/> 回/月 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> その他 ( )
	内部洗浄頻度	<input type="checkbox"/> 回/年 <input type="checkbox"/> 回/月 <input type="checkbox"/> 回/週 <input type="checkbox"/> その他 ( )

年 月 点検記録表（毎日点検） 消毒剤濃度（mg/L）

日	浴槽（循環系統）											
	1回目		2回目		3回目		4回目		5回目		6回目	
1	:		:		:		:		:		:	
2	:		:		:		:		:		:	
3	:		:		:		:		:		:	
4	:		:		:		:		:		:	
5	:		:		:		:		:		:	
6	:		:		:		:		:		:	
7	:		:		:		:		:		:	
8	:		:		:		:		:		:	
9	:		:		:		:		:		:	
10	:		:		:		:		:		:	
11	:		:		:		:		:		:	
12	:		:		:		:		:		:	
13	:		:		:		:		:		:	
14	:		:		:		:		:		:	
15	:		:		:		:		:		:	
16	:		:		:		:		:		:	
17	:		:		:		:		:		:	
18	:		:		:		:		:		:	
19	:		:		:		:		:		:	
20	:		:		:		:		:		:	
21	:		:		:		:		:		:	
22	:		:		:		:		:		:	
23	:		:		:		:		:		:	
24	:		:		:		:		:		:	
25	:		:		:		:		:		:	
26	:		:		:		:		:		:	
27	:		:		:		:		:		:	
28	:		:		:		:		:		:	
29	:		:		:		:		:		:	
30	:		:		:		:		:		:	
31	:		:		:		:		:		:	

年 月 点検記録表 (毎日点検) 温度 (°C) 又は消毒剤濃度 (mg/L)

日	貯湯槽						源泉槽					
	1回目		2回目		3回目		1回目		2回目		3回目	
1	:		:		:		:		:		:	
2	:		:		:		:		:		:	
3	:		:		:		:		:		:	
4	:		:		:		:		:		:	
5	:		:		:		:		:		:	
6	:		:		:		:		:		:	
7	:		:		:		:		:		:	
8	:		:		:		:		:		:	
9	:		:		:		:		:		:	
10	:		:		:		:		:		:	
11	:		:		:		:		:		:	
12	:		:		:		:		:		:	
13	:		:		:		:		:		:	
14	:		:		:		:		:		:	
15	:		:		:		:		:		:	
16	:		:		:		:		:		:	
17	:		:		:		:		:		:	
18	:		:		:		:		:		:	
19	:		:		:		:		:		:	
20	:		:		:		:		:		:	
21	:		:		:		:		:		:	
22	:		:		:		:		:		:	
23	:		:		:		:		:		:	
24	:		:		:		:		:		:	
25	:		:		:		:		:		:	
26	:		:		:		:		:		:	
27	:		:		:		:		:		:	
28	:		:		:		:		:		:	
29	:		:		:		:		:		:	
30	:		:		:		:		:		:	
31	:		:		:		:		:		:	

年 月 浴槽関係 管理記録表

日	浴槽		湯口		水位計		連通管		気泡発生装置 ジェット噴射装置	
	洗浄	特記事項								
1	<input type="checkbox"/>									
2	<input type="checkbox"/>									
3	<input type="checkbox"/>									
4	<input type="checkbox"/>									
5	<input type="checkbox"/>									
6	<input type="checkbox"/>									
7	<input type="checkbox"/>									
8	<input type="checkbox"/>									
9	<input type="checkbox"/>									
10	<input type="checkbox"/>									
11	<input type="checkbox"/>									
12	<input type="checkbox"/>									
13	<input type="checkbox"/>									
14	<input type="checkbox"/>									
15	<input type="checkbox"/>									
16	<input type="checkbox"/>									
17	<input type="checkbox"/>									
18	<input type="checkbox"/>									
19	<input type="checkbox"/>									
20	<input type="checkbox"/>									
21	<input type="checkbox"/>									
22	<input type="checkbox"/>									
23	<input type="checkbox"/>									
24	<input type="checkbox"/>									
25	<input type="checkbox"/>									
26	<input type="checkbox"/>									
27	<input type="checkbox"/>									
28	<input type="checkbox"/>									
29	<input type="checkbox"/>									
30	<input type="checkbox"/>									
31	<input type="checkbox"/>									

年 月 ろ過・循環系統 管理記録表

日	ろ過器		集毛器		消毒装置		循環配管		オーバーフロー回収槽	
	逆洗	特記事項	洗浄	特記事項	確認	特記事項	洗浄	特記事項	洗浄	特記事項
1	<input type="checkbox"/>									
2	<input type="checkbox"/>									
3	<input type="checkbox"/>									
4	<input type="checkbox"/>									
5	<input type="checkbox"/>									
6	<input type="checkbox"/>									
7	<input type="checkbox"/>									
8	<input type="checkbox"/>									
9	<input type="checkbox"/>									
10	<input type="checkbox"/>									
11	<input type="checkbox"/>									
12	<input type="checkbox"/>									
13	<input type="checkbox"/>									
14	<input type="checkbox"/>									
15	<input type="checkbox"/>									
16	<input type="checkbox"/>									
17	<input type="checkbox"/>									
18	<input type="checkbox"/>									
19	<input type="checkbox"/>									
20	<input type="checkbox"/>									
21	<input type="checkbox"/>									
22	<input type="checkbox"/>									
23	<input type="checkbox"/>									
24	<input type="checkbox"/>									
25	<input type="checkbox"/>									
26	<input type="checkbox"/>									
27	<input type="checkbox"/>									
28	<input type="checkbox"/>									
29	<input type="checkbox"/>									
30	<input type="checkbox"/>									
31	<input type="checkbox"/>									

年 補給系統 管理記録表

月	源泉槽		貯湯槽		調節箱		補給配管		シャワー・打たせ湯	
	実施日	実施内容	実施日	実施内容	実施日	実施内容	実施日	実施内容	実施日	実施内容
1月										
2月										
3月										
4月										
5月										
6月										
7月										
8月										
9月										
10月										
11月										
12月										

# レジオネラ症防止対策における 総合衛生管理プログラムの必要性

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）  
「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

分担研究者 岡山理科大学 黒木俊郎

## 入浴施設の衛生管理の手引き



厚生労働省 (Ministry of Health, Labour and Welfare)

ホーム

Google カスタム検索

検索

ホーム > 政策について > 分野別の政策一覧 > 健康・医療 > 生活衛生 > 生活衛生対策 > レジオネラ対策のページ

### 健康・医療 レジオネラ対策のページ

関係通知/Q&Aなど

レジオネラ症防止対策・発生時対応

レジオネラ症患者の発生時等の対応について (平成14年9月3日)

入浴施設におけるレジオネラ症防止対策の実施状況の報告一覧点検について (平成14年9月20日)

入浴施設におけるレジオネラ症防止対策の調査結果 (平成15年3月31日)

※ 関係の使用施設に存在レジオネラ症への緊急防止対策について (令和2年9月13日) [50KB]

指針

※ 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) [135KB]

※ 緊急発生第9条第1項の規定による「緊急時の予防の社会的な推進を図るための基本的な指針」に基づく指針

※ 健康・生活衛生局感染症対策部感染症対策課にお問合せください

衛生等管理要領・マニュアル (現行)

※ 公衆浴場における衛生管理要領等について (全文) (令和2年12月10日時点) [300KB]

※ 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ菌検査検査方法について (令和元年9月19日) [306KB]

※ 関係式浴場におけるレジオネラ症防止対策マニュアル (全文) (令和元年12月17日時点) [466KB]

※ 入浴施設の衛生管理の手引き (令和4年5月13日) [3.5MB]

政策について

- 分野別の政策一覧
- 健康・医療
  - 健康
  - 食品
  - 医療
  - 医療促進
  - 医薬品・医療機器
- 生活衛生
  - 水道
  - 福祉・介護
  - 雇用・労働
  - 年金
  - 他の分野の取り組み
- 関係別の政策一覧
- 各種助成金・奨励金等の制度
- 審議会・研究会等
- 国会会議録
- 予算および決算・税制の概要

## 入浴施設の衛生管理の手引き

### 目的

- ・ 具体的な管理方法の解説
- ・ 実践的な管理方法の紹介

### 構成

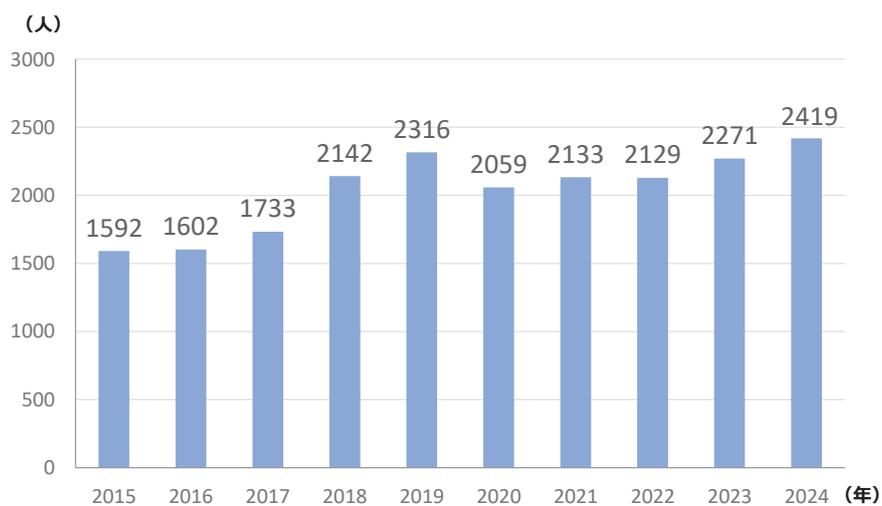
#### 「総合衛生管理プログラム」

安全で安心できる良質の入浴を提供するために  
営業者が取り組む体制

#### 「一般衛生管理」

レジオネラ属菌の汚染を防ぐための手法  
洗浄や消毒などの管理方法を紹介

## 全国のレジオネラ症患者発生の状況（2015～2024年）



2018年以降、毎年2,000人以上の患者が発生  
感染源として入浴施設や冷却塔などが注目

## レジオネラ集団感染事例と発生の要因

発生年	施設形態	患者数	要因
2000年	複合レジャー施設	23	塩素注入装置の <b>不備</b> 、浴槽水の塩素濃度が <b>不十分</b>
2002年	公衆浴場	295	貯湯槽の洗浄消毒と温度管理が <b>不十分</b> 浴槽水の塩素濃度測定が <b>不十分</b> 、塩素注入装置の管理の <b>不備</b> ろ過装置の逆洗浄時間の <b>不足</b> 、ヘアキャッチャーの洗浄消毒が <b>不十分</b> 管理マニュアルの <b>不備</b>
2012年	日帰り温泉	8	配管系統図や洗浄消毒のマニュアルの <b>不備</b> 貯湯槽の洗浄消毒が <b>不十分</b> 、循環配管の消毒頻度が <b>不十分</b> 消毒剤注入口の設置場所の <b>不備</b> （ろ過器の後ろ）
2014年	公衆浴場	8	貯湯槽や配管の洗浄消毒が <b>不十分</b> 、浴槽水の塩素濃度管理の <b>不備</b> 浴槽水の交換が <b>不十分</b> （月に1回）、衛生管理計画書の <b>不備</b>
2015年	日帰り入浴施設	7	温泉原水槽の消毒装置が <b>不備</b> （故障）、温泉処理槽の湯温管理の <b>不備</b> （25～30℃）、ろ過器のろ材交換が <b>不十分</b> 、浴槽水の塩素濃度記録の <b>不備</b>
2019年	公衆浴場	58	浴槽水の塩素濃度管理の <b>不備</b> 、換水頻度が <b>不十分</b> 浴槽やオーバーフロー回収槽の洗浄消毒が <b>不十分</b> 浴槽壁の <b>不備</b> （ひび割れ）、温度センサーや用途不明配管の清掃が <b>不十分</b> 配管洗浄が <b>不十分</b> （10年程度未実施）
2019年	公衆浴場	13	浴槽水の塩素濃度測定の <b>不備</b> 、ヘアキャッチャーの洗浄消毒が <b>不十分</b> 浴槽壁の <b>不具合</b> （目地の劣化やすき間）

## レジオネラ集団感染事例と発生の要因

発生年	施設形態	患者数	要因
2000年	複合レジャー施設	23	塩素注入装置の <b>不備</b> 、浴槽水の塩素濃度が <b>不十分</b>
2002年	公衆浴場	295	貯湯槽の洗浄消毒と温度管理が <b>不十分</b> 浴槽水の塩素濃度測定が <b>不十分</b> 、塩素注入装置の管理の <b>不備</b> ろ過装置の逆洗浄時間の <b>不足</b> 、ヘアキャッチャーの洗浄消毒が <b>不十分</b>
2012年	日		
2014年			
2015年	日帰り入浴施設	7	ろ過器のろ材交換が <b>不十分</b> 、浴槽水の塩素濃度記録の <b>不備</b> 、 <b>不備</b> （25～30℃）、
2019年	公衆浴場	58	浴槽水の塩素濃度管理の <b>不備</b> 、換水頻度が <b>不十分</b> 浴槽やオーバーフロー回収槽の洗浄消毒が <b>不十分</b> 浴槽壁の <b>不備</b> （ひび割れ）、温度センサーや用途不明配管の清掃が <b>不十分</b> 配管洗浄が <b>不十分</b> （10年程度未実施）
2019年	公衆浴場	13	浴槽水の塩素濃度測定の <b>不備</b> 、ヘアキャッチャーの洗浄消毒が <b>不十分</b> 浴槽壁の <b>不具合</b> （目地の劣化やすき間）

**管理の不備や人的ミスが原因**

### 管理の不備や人的ミスの具体例

- ・ レジオネラ属菌を知る機会がなかった
- ・ 研修を実施していなかった
- ・ 業務内容をチェックしていなかった
- ・ 測定値を記録しなかった
- ・ 機器の操作が間違っていた
- ・ 機器の点検を忘れていた
- ・ 機器の故障を放置した
- ・ 浴槽壁の修理を怠っていた
- ・
- ・
- ・

### 管理の不備や人的ミスを防ぐには

- ・ 作業書やマニュアルの整備
- ・ 教育や研修の実施
- ・ 体系化された衛生管理業務の実施
- ・ チェックや評価の体制の確立
- ・ 円滑なコミュニケーションの確立
- ・ 種々の情報の共有
- ・ 責任の共有（担当任せにしない）



### 解決策としての総合衛生管理プログラムの導入

#### レジオネラ汚染のリスクを下げる体制の確立

業務関連：体系化された衛生管理業務の推進  
チームによるチェックと評価  
チームによる責任の共有

人事関連：教育・研修、人員配置への配慮など

メンタル関連：責任感、意欲、動機付け（モチベーション）  
衛生管理の重要性を認識する  
衛生管理を担当者任せにしない

## 総合衛生管理プログラムが必要な理由

なぜ日常の清掃や洗浄・消毒などの衛生管理だけでは不十分なのか。

### ○ レジオネラ問題はレジオネラとの戦い（いくさ）

浴場の衛生管理は戦場の最前線

**最前線だけではなく、従業員が一丸となって戦う**

- ・ チームを編成する、計画を立てる、物資の調達、人の配置、教育や研修、情報収集、情報共有、広報など
- ・ メンタルヘルス（意欲、責任感など）の解決



### ○ 確認・評価・改善

浴場の衛生管理の状況やプログラムの進行状況を**確認・評価**し、**改善**  
例えば、レジオネラ属菌が検出されないことなどで評価

### ○ ボトムアップ

トップダウンだけでなく、**ボトムアップ**による運営  
現場の意見を取り入れた運営

## 総合衛生管理プログラムの概要

### 計画：総合衛生管理プログラムの作成

レジオネラとの戦い

- |                         |       |                   |
|-------------------------|-------|-------------------|
| 1. チームの編成               | ----- | 体制を立て一丸で取り組む、敵を知る |
| 2. 施設・設備の確認             | ----- | 己を知る              |
| 3. 危険箇所・設備の確認           | ----- | 攻め方を決める           |
| 4. 重点管理箇所とモニタリング法の決定、確認 | ----- | 守り方を決める           |
| 5. 逸脱の対策の決定、確認          | ----- | 守り切れないときの対応を決める   |
| 6. 運用状況と評価の確認方法の決定、確認   | ----- | 攻めと守りの評価方法を決める    |
| 7. 運用計画の作成              | ----- | 作戦を計画する           |

### 実行：総合衛生管理プログラムを計画に従い実施

戦いを始める（攻めと守り）

### 評価：総合衛生管理プログラムの効果を評価

攻めと守りを評価する

### 改善：総合衛生管理プログラムの修正

攻め方と守り方を修正する

## チームにおける役割分担の例

役割	取り組みの内容
経営者	施設の営業・運営方針の決定 話し合いでの現場の意見等で方針を決定・修正
経理担当	衛生管理に必要な経費を検討し、器材などを購入
衛生管理担当	浴場等の衛生管理（浴槽や配管の洗浄・消毒など）の実施 定期的にレジオネラ属菌検査を検査機関に依頼 衛生管理の状況やレジオネラ属菌検査の結果などをチームで共有 良質の入浴を提供していることやその安全性などもチームに伝達
接客担当	入浴客数を把握して衛生管理担当などと共有 入浴客からの感想やクレームなどをチームで共有 衛生管理の状況を必要に応じて入浴客に説明
企画担当	自施設の良さを宣伝、イベントなどの企画の参考
営業担当	良質の入浴を提供できる根拠を共有して営業活動を実施 顧客からの要望などの情報を収集してチームで共有

## 総合衛生管理プログラムの効果

安全で安心できる良質の入浴の提供を目指して

- 組織全体で取り組む体制の確立
- 入浴施設の衛生管理の計画的実施と評価
- 現場からの意見や提案のボトムアップ



## 入浴施設におけるレジオネラ問題への取り組み方

### リスク軽減のための体制づくり

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）  
「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

分担研究者 岡山理科大学 黒木俊郎

### 入浴施設のレジオネラ問題は レジオネラ属菌との戦い

浴場の衛生管理は戦いの最前線です。

最前線の戦いだけで勝つのは難しい。

**従業員一同、一丸となって取り組むことが重要**です。



## レジオネラ問題への取り組み方

1. 全員で一丸となって取り組むことを決めましょう。
2. 浴場の設備がどのようになっているかを確認しましょう。
3. レジオネラ属菌が増える場所や感染する可能性がある場所を確認しましょう。
4. どこでレジオネラ属菌をやっつけるかを確認し、十分にやっつけていることを確認する方法を決めましょう。
5. うまくやっつけていないことが分かった時の対処の仕方を決めましょう。
6. 取り組みがうまくいったかを定期的に話し合うことを決めましょう。
7. 取り組みの年間の計画を決めましょう。
8. 1～7で決めた内容で取り組みを始めましょう。

### 1. 全員で一丸となって取り組むことを決めましょう。

- 取り組みの責任者を決めましょう。
- 取り組みに従業員全員で参加することを決めましょう。
- 取り組みの目的に従業員全員で共有しましょう。
- **講習会などの機会を活用し、レジオネラ属菌について学びましょう。**

レジオネラ属菌についてわからないことがあれば、  
保健所や専門業者などに尋ねてください。



## 因みに、レジオネラ属菌の特徴は・・・

- ・ 様々な水や土の中にいます。
- ・ 25～45℃で盛んに増えます。
- ・ 浴槽壁や配管の内側などのぬめり（生物膜）で増えます。
- ・ 菌を含んだ水やしぶきを吸い込むと感染します。
- ・ 重い肺炎を引き起こすことがあります。
- ・ 日本では毎年2,000人を超える患者が発生しています。
- ・ 入浴施設で感染する可能性があることで注目されています。

安全で安心できる良質の入浴を提供するためには、  
**レジオネラ属菌が増えないようにしなければなりません。**



### 1. 全員で一丸となって取り組むことを決めましょう。

○ 取り組みでの役割を決めましょう。

役割	取り組みの内容
経営者	現場からの意見等で方針を決定・修正します。
経理担当	衛生管理に必要な経費を検討し、器材などを購入します。
衛生管理担当	浴場等の衛生管理（浴槽や配管の洗浄・消毒など）を進めます。 定期的にレジオネラ属菌検査を検査機関に依頼します。 衛生管理の状況やレジオネラ属菌検査の結果などを従業員で共有します。 良質の入浴を提供していることやその安全性なども従業員に伝えます。
接客担当	入浴客の数を把握して衛生管理担当や他の従業員と共有します。 入浴客からの感想やクレームなどを従業員で共有します。 衛生管理の状況を必要に応じて入浴客に伝えることができます。
営業担当	良質の入浴を提供できる根拠を共有して営業活動を行います。 顧客からの要望などの情報を収集して従業員で共有します。

## 2. 浴場の設備がどのようになっているかを確認しましょう。

- 自施設の設備や装置などの設置状況を、配管図などを参照しながら、全従業員と一緒に現場で確認しましょう。  
貯湯槽、浴槽、配管、ろ過器、その他の設備や装置など

## 3. レジオネラ属菌が増える場所や感染する可能性がある場所を確認しましょう。

- レジオネラ属菌が増える可能性が高い設備  
貯湯槽、浴槽、配管、ろ過器、集毛器など
- 感染が起きやすい設備しづきが出る設備  
湯口、浴槽、打たせ湯、シャワー、カランなど

## 4. どこでレジオネラ属菌をやっつけるかを確認し、十分にやっつけていることを確認する方法を決めましょう。

- 温度や消毒剤で管理できる設備を確認しておきましょう。
- 洗浄や消毒などの作業書や塩素濃度の測定記録簿があるか、適切に使われているかを同時に確認しましょう。
- 貯湯槽の水温（60℃以上）や浴槽水などの塩素系消毒剤の濃度(0.4～1.0 mg/L)を測定する方法を確認しておきましょう。

**レジオネラ属菌は塩素などの消毒剤や高温（60℃～）でやっつけることができます。**

5. うまくやっつけていないことが分かった時の対処法を決めておきましょう。

○ うまくやっつけていないとは、

- 貯湯槽の温度が60℃に達していない
- 浴槽水の塩素系消毒剤の濃度が0.4 mg/Lに達していない
- 浴槽壁にぬめりが出た
- レジオネラ属菌検査でレジオネラ属菌が検出された などです。

対処法は例えば、

- ✓ 熱交換器や消毒装置の点検
- ✓ 高濃度塩素消毒の実施
- ✓ レジオネラ属菌検査による確認
- ✓ 保健所への連絡 などです。

6. 取り組みがうまくいったかどうかを定期的に話し合うことを決めておきましょう。

○ 4番目の取り組みを行い、

- 決められた温度や濃度を維持しているか
- ぬめりの発生を防ぐことができたか
- レジオネラ属菌が検出されることはなかったか

について話し合いの場を持ち、

検査結果とともに温度管理や塩素濃度管理の記録、その他の記録を見直し、衛生管理の内容や取り組みの進め方に改善すべきところがあれば改善するというようなことを、予め決めておきましょう。

## 7. 取り組みの年間の計画を決めましょう。

- レジオネラ属菌検査を1年に何回、いつ、どこに依頼するかなどを決めます。
- レジオネラ属菌検査の検査結果が出たときに話し合いを開き、作業書のとおりに行ったか、塩素濃度や温度は適切に管理できたかなどを確認します。

## 8. 1～7で決めた内容で取り組みを始めましょう。

- 1において決めた責任者の下で、それぞれの役割で取り組みを始めましょう。
- 2～7で決めた内容を、決められたとおりに進めていきましょう。
- 取り組みを進めたにもかかわらず、ぬめりの発生やレジオネラ属菌の検出などがあれば、2～7をやり直して、取り組み方を修正してください。

この取り組みの詳細は、入浴施設の衛生管理の手引きに記載されていますので、必要に応じて、参照してください。

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）

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所

令和6年度分担研究報告書

「浴槽水の糞便汚染指標細菌の変更の妥当性の検討」

研究分担者	黒木俊郎	岡山理科大学
研究分担者	枝川亜希子	大阪健康安全基盤研究所
研究分担者	中西典子	神戸市健康科学研究所
研究分担者	前川純子	国立感染症研究所
研究協力者	工藤剛	宮城県保健環境センター
研究協力者	武藤千恵子	東京都健康安全研究センター
研究協力者	梅津萌子	東京都健康安全研究センター
研究協力者	高久靖弘	東京都健康安全研究センター
研究協力者	鍋田信吾	静岡県環境衛生科学研究所
研究協力者	小松頌子	神戸市健康科学研究所
研究協力者	烏谷竜哉	愛媛県立衛生環境研究所
研究協力者	佐々木麻里	大分県衛生環境研究センター
研究協力者	緒方喜久代	大分県薬剤師会検査センター
研究協力者	太田奈保美	岡山理科大学

浴槽水の水質基準のうち、糞便汚染指標は大腸菌群とされている。しかし近年、各種水環境の糞便汚染指標細菌は大腸菌群から大腸菌に移行しており、浴槽水の糞便汚染指標細菌を大腸菌に移行することとそれに伴う検査法ならびに基準の設定について、妥当性を検討した。検査法は現行法の使用培地を特定酵素基質寒天培地に変更する定量法と、プール水の検査法に準じた特定酵素基質液体培地を用いた定性法の2法が議論に上がり、それぞれの検査法での基準の設定も検討した。過去の入浴施設のレジオネラに関する研究班において実施した浴槽水の大腸菌群と大腸菌の汚染実態調査に基づいて、浴槽水における大腸菌/大腸菌群数の比率を算出した。浴槽水の大腸菌群と大腸菌の実地調査を実施し、塩素消毒の有無による汚染状況の違いを確認した。さらに、現行法と定量法あるいは定性法による結果に統計学的差がないことを明らかにした。基準については、欧米の recreational water の大腸菌の基準に関する文献等のレビューを行った。

## A. はじめに

水環境の糞便汚染指標細菌は長らく大腸菌群とされてきた。しかし、大腸菌群と大腸菌の迅速定性および定量検査法が近年開発されたことで、水道水をはじめとする種々の水環境の指標細菌が大腸菌群から大腸菌へと変更されている（水質基準に関する省令 厚生労働省令第 101 号 平成 15 年 5 月 30 日）。大腸菌群には糞便由来ではなく環境に由来する細菌が含まれていることから、大腸菌群の存在が糞便汚染の実態を正しく反映していないことが以前から指摘されており、大腸菌を選択的に検出することを可能にする検査技術が開発されたことが移行の大きな理由となっている。

浴槽水の糞便汚染指標は現行では大腸菌群とし、検査法は「下水の水質の検定方法等に関する省令（昭和 37 年厚生省・建設省令第 1 号）別表第 1（第 6 条）」に規定する大腸菌群数の検定方法に準じて実施し、基準は 1 個/mL 以下とされている。ところが、下水の水質の検定方法が令和 7 年 4 月 1 日からデソキシコレート寒天培地培養法から特定酵素基質寒天培地培養法に変更されることとなった。そこで、浴槽水の糞便汚染指標細菌の検査法を、下水の水質の検定方法の変更と同様にすることが妥当であるか、あるいは別の検査法を適用するかを検討することとした。さらに、変更した際の大腸菌の基準の設定についても協議した。

## B. 材料と方法

### 1. ワーキンググループにおける協議

浴槽水の糞便汚染指標細菌の検査法と基準について協議するために、ワーキンググ

ループ (WG) を立ち上げた。当研究班の分担研究者ならびに研究協力者からメンバーを募り、黒木、枝川、前川、工藤、武藤、鍋田がメンバーとなった。

### 2. 浴槽水における大腸菌群と大腸菌の比率の推定

平成 18 年度の研究班（平成 18 年度 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：研究代表者 井上博雄（掛け流し式温泉研究班）、および平成 18 年度 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：研究代表者 倉文明（温泉の泉質研究班））において実施された浴槽水の大腸菌群・大腸菌汚染実態調査のデータに基づいて大腸菌群数と大腸菌数の比率を計算した。比率を求めるために大腸菌群と大腸菌のいずれも検出された検体のデータを抽出し、各検体の大腸菌数/大腸菌群数の比率を求めた。あらかじめ、大腸菌数および大腸菌群数について、Smirnov-Grubbs 検定を用いて外れ値の判定を行い、残ったデータから大腸菌数/大腸菌群数の比率の平均値を計算した。

### 3. 欧米の recreational water における大腸菌の基準の文献調査

欧米においては水浴場の水や浴槽水の水質基準は、recreational water にかかる基準とされている。今回の浴槽水の糞便汚染指標細菌の対象を大腸菌群から大腸菌への移行に伴う基準の検討に際して参考とするために、欧米の基準やその根拠に関連した文献等の調査を行った。

#### 4. 浴槽水の大腸菌群・大腸菌汚染の実態調査

令和6年5月から9月にかけて、3つの自治体の管轄内の137の入浴施設に由来する浴槽水の大腸菌群ならびに大腸菌の汚染実態を調査した。各入浴施設から浴槽水を1検体ずつ採取した。各検体はチオ硫酸ナトリウムを添加したポリ容器に採取し、冷蔵で輸送し、検査を開始するまで冷蔵で保管した。遊離残留塩素濃度および結合残留塩素濃度は採水時にDPD法により測定した。

検査法は、現行法と特定酵素基質培地法による定量法および定性法とした。現行法として、検水1mLを2枚のデソキシコレート寒天培地に混和し、35°Cで20時間培養した。培養後、コロニーの色調に基づいて、プレート2枚の平均値から大腸菌群数を算出した。定量法で用いる特定酵素基質寒天培地は、アキュディア™XM-G寒天培地（島津ダイアグノスティクス）あるいはES Colimark Agar（栄研化学）とした。検体1mLを混和し、35°Cで20時間培養後に判定した。コロニーの色調に基づいて、プレート2枚の平均値から大腸菌・大腸菌群数を算出した。

定性法の検査には、特定酵素基質培地であるECブルー100P（島津ダイアグノスティクス）またはColilert(IDEXX)を用いた。あらかじめ培地が分包されたボトルに検水を100mL添加あるいは検体100mLに培地の1包を添加し、35~36°Cで24時間培養後、青~青緑色/黄色の呈色および蛍光の有無により大腸菌群および大腸菌の判定を行った。

残留塩素濃度が基準値未満（遊離残留塩

素濃度<0.4ml/L または結合塩素濃度<3mg/L）の浴槽水と基準値以上（遊離残留塩素濃度 $\geq$ 0.4ml/L または結合塩素濃度 $\geq$ 3mg/L）の浴槽水に分け、それぞれの大腸菌群あるいは大腸菌の検出率の差の検定を、フィッシャーの正確確率検定をOpenEpiサイト (<https://www.openepi.com>) を利用して行った。

定量法の大腸菌の基準を「1個/mL以下」、「1個/mL未満」、「不検出」の3通りと、定性法の基準を「不検出」とそれぞれ設定し、それらによる判定結果と現行法による大腸菌群の基準「1個/mL以下」の判定結果との比較をフィッシャーの正確確率検定（OpenEpiサイト：<https://www.openepi.com>）により検定した。

#### C. 結果と考察

##### 1. WGにおける協議

浴槽水の糞便汚染指標細菌に関する検討会では、糞便汚染指標菌を大腸菌群から大腸菌への基準の変更の妥当性ならびに変更する場合の検査法について協議を行った。その結果、浴槽水以外の水環境における糞便汚染指標細菌が大腸菌群から大腸菌へ変更されている状況を鑑み、浴槽水の糞便汚染指標細菌を大腸菌群から大腸菌に変更することは妥当であるとした。

検査法については、現行の検査法において利用する培地をデソキシコレート寒天培地から特定酵素基質寒天培地に変更して定量法で検査することが適当であるという意見と、プール水の検査法と同じにして特定酵素基質液体培地により定性法で検査することが妥当であるとの意見があった。

そこでこうした議論を受けて、1)水環境の糞便汚染指標細菌検査の意義、2)指標細菌が大腸菌群から大腸菌に移行する背景、3)各種水環境の大腸菌群と大腸菌にかかる水質基準の比較、4)糞便汚染指標細菌の定量法と定性法の比較の課題を立ち上げ、それぞれの検討を行った。

#### 1) 水環境の糞便汚染指標細菌検査の意義

水環境における糞便汚染指標細菌検査の意義としては、次の2点が挙げられる。

1. 人、その他の温血動物の糞便による汚染の有無を判定する。
2. 衛生管理の効果を判定する。

人やその他の温血動物の糞便中には腸管感染性の病原微生物が含まれている可能性があり、汚染を受けた水を介して感染するリスクがある。こうしたリスクを避けるために、水環境における糞便汚染の有無を調べることは非常に重要である。水が清浄(糞便汚染を受けていない状態)であれば当然感染のリスクは低い、糞便汚染が起きる環境にあっては衛生管理(清掃や消毒等)により病原微生物を除き、感染のリスクを低減させている。そこで、大腸菌群や大腸菌の存在の有無は、衛生管理が適切に行われているか、効果が十分であるかの評価や判定に役立つ。

#### 2) 指標細菌が大腸菌群から大腸菌に移行する背景

水域に糞便汚染がある場合には種々の腸管系病原体が存在する可能性がある。そこで糞便汚染の指標として、温血動物の腸管内に数多く常在する大腸菌が注目される。

しかし、過去においては培養技術の制約から大腸菌のみを検出することは困難であった。そのため、糞便に由来しない菌が含まれているものの、培養が容易な大腸菌群が糞便汚染の指標とせざるを得なかった。

現在は培養技術が発達し、特定酵素基質培地を用いることで簡便・短時間に大腸菌を検出することが可能となり、糞便汚染の指標として大腸菌群に代えて大腸菌を用いることができるようになった。近年、水道水、環境水、下水、放流水を対象にした大腸菌群検査が大腸菌検査に変更されてきている。

#### 3) 各種水環境の大腸菌群と大腸菌にかかる水質基準の比較

ここに、現行の浴槽(原水等および浴槽水)ならびに参考としてその他の水環境の糞便汚染指標細菌の基準と検査法を列挙する。

##### (1) 現行の大腸菌群と大腸菌に係る入浴施設の水質基準

- 原水、原湯、上がり用湯及び上がり用水
- ・基準：大腸菌は検出されないこと
  - ・検査法：水質基準に関する省令(平成15年厚生労働省令第101号)で定める検査方法  
検水100mLと特定酵素基質培地を混和し、定性試験

##### 浴槽水

- ・基準：大腸菌群は1個/mL以下であること
- ・検査法：下水の水質の検定方法等に関する省令(昭和37年厚生省令・建設省令第1号)別表第1

(第6条)の大腸菌群数の検定方法による。試料は希釈せずに使用する。

## (2) 参考となる水環境の現行の基準と検査法

### 水道水

- ・基準：大腸菌は検出されないこと
- ・検査法：検水 100mL と特定酵素基質培地を混和し、定性試験

### プール水

- ・基準：大腸菌は検出されないこと
- ・検査法：検水 100mL と特定酵素基質培地を混和し、定性試験

### 下水・放流水

- ・基準：大腸菌群が 3000 個/mL 以下（令和7年3月末まで）
- ・検査法：100 倍希釈した検水 1mL をデソキシコレート寒天培地で混積培養

(参考情報) 下水・放流水の水質基準の変更（令和7年4月以降）

下水道法施行令（昭和34年政令第147号）第6条第1項第2号

排水基準を定める省令（昭和46年総理府令第35号）別表第2（第1条関係）

- ・基準：大腸菌が 800 個/mL 以下（実態調査による大腸菌/大腸菌群の比から算出）
- ・検査方法：10 倍希釈した検水 1mL を特定酵素基質培地で混積培養

## 4) 浴槽水の糞便汚染指標細菌の定量法と

## 定性法の比較

WG において浴槽水の大腸菌検査法への意見が定量法と定性法に分かれたことから、それぞれの概要とメリットおよびデメリットをまとめた。

### 1) 現行法を特定酵素基質寒天平板培地に変更した検査法（定量法）

#### 検査法の概要

検体 1mL を特定酵素基質寒天培地に加えて混積培養する。培養後に大腸菌に相当する集落数を数える。

大腸菌数の基準の設定は、現行の「1 個/mL 以下」を採用することの他に、「1 個/mL 未満」および「検出されないこと」とすることが想定される。

#### メリット

- ・現行法の培地を変えることで移行できる。
- ・基準の設定次第で現行の基準よりも厳しくできる可能性がある。
- ・定量法であるため汚染の程度を把握することができる。
- ・1mL の試料を 20mL の培地に加えて希釈するため、培養に水質（泉質）の影響を受ける可能性が低い。
- ・基準の設定の仕方により消毒していない浴槽水でこれまでと同等以上の衛生管理が求められるとの意見がある。

#### デメリット

- ・定性法と比べて操作がやや煩雑である。
- ・基準を「1 個/mL 以下」とした場合

は大腸菌群の基準を大腸菌に充てることになるので、基準が緩くなる。

- ・検水量が 1mL であるため、検出感度が低い。

## 2) プール水の基準に準拠した検査法(特定酵素基質液体培地を用いた定性法)

### 検査法の概要

検体 100mL と特定酵素基質培地を混和し、培養する。培養後に大腸菌群陽性であることを確認後に紫外線を当てて蛍光を発することを確認する。

大腸菌の基準は「検出されないこと」とする。

### メリット

- ・水道水の検査を実施している機関においては移行が容易である。
- ・定性法であるため菌数を決める必要がなく、操作も簡便である。
- ・検水量を 100mL としているため、高感度で大腸菌を検出することができる。

### デメリット

- ・新たに導入する場合には購入しなければならない装置がある。
- ・定性法であるため汚染の程度を把握することができない。
- ・試料を希釈せずに培養するため、水質(泉質)の影響を受ける可能性がある。
- ・消毒している浴槽水は基準をクリアしやすいが、消毒していない浴槽水では徹底的な衛生管理を求め

られ、「検出されないこと」を維持するのは厳しいとの意見がある。

## 2. 浴槽水における大腸菌群と大腸菌の比率の推定

大腸菌群と大腸菌のいずれも検出された検体は、掛け流し式温泉研究班では 187 検体中 70 検体、温泉の泉質研究班では 61 検体中 25 検体であった。大腸菌群数と大腸菌数の範囲は、それぞれ大腸菌群数が  $<3 \sim 24,000$ MPN/100mL および  $<3 \sim \geq 2,400$ MPN/100mL、大腸菌数が  $<3 \sim 2,400$ MPN/100mL および  $<3 \sim 1,100$ MPN/100mL であった。これらのデータを対象にして、Smirnov-Grubbs 検定を行ったが外れ値に該当するデータはなかった。そこで、すべての検体のデータを使って調査対象の検体における大腸菌数/大腸菌群数の比率を求めたところ、掛け流し式温泉研究班では 0.006 ~ 1.0、平均 0.55、温泉の泉質研究班では 0.04 ~ 1.0、平均 0.62 であった。

## 3. 欧米の recreational water における大腸菌の基準の文献調査

欧米においては、人が直接汚染に曝露される水環境における大腸菌群あるいは大腸菌の基準は、曝露集団における胃腸疾患の発生の有無により基準が評価され、決定されている。そこで、欧米の浴場環境の大腸菌群数・大腸菌数に関する文献調査を行った。

米国 EPA が 2012 年に定めた recreational water における大腸菌の基準は 126cfu/100mL 及び 100cfu/100mL としている<sup>1)</sup>。この基準値のうち、前者は 1986 年のガイドラインで設定されたものである<sup>2)</sup>。2012 年のガイドライン設定時には腸球菌

のみを対象に疫学調査を実施したため、大腸菌の基準値は Dufour が 1984 年に報告した大腸菌群、大腸菌、腸球菌の数と水浴関連の胃腸疾患の発生数の疫学調査の結果<sup>3)</sup>を元にして 100cfu/100mL が算出された。

Dufour の報告では大腸菌群の数と疾患数の関連性は低かった。主な理由として、調査した水環境におけるクレブシエラ属菌の存在が挙げられる。クレブシエラ属菌は環境中で増殖がしやすく塩素消毒に強い。そのため、塩素消毒等から生き残ったクレブシエラ属菌が排水から流入しやすく、大腸菌群数と疾患数の関連性が低くなった理由の 1 つである可能性がある<sup>4)</sup>と報告されている。

一方、大腸菌数と胃腸疾患は強い関連性を示した。1986 年の基準 (126cfu/100mL) を作成するにあたり使用された症状の基準 HCGI (Highly Credible Gastrointestinal Illness: 高信頼性胃腸炎) の定義には発熱を含めていたが、2012 年の基準 (100cfu/100mL) の作成に使用された症状の基準 NGI (NEEAR - GI: National Epidemiological and Environmental Assessment of Recreational Water-Gastrointestinal Illness) の定義では発熱を含めなかった。そのために発熱を伴わない下痢症をカウントするようになり、1986 年の基準 (126cfu/100mL) よりも基準菌数あたりの症例数が増える結果となった。すなわち、1986 年の HCGI では腸球菌 35cfu/100mL あたりの症例数は 8 HCGI/1000 人となるが、NGI では 36 人/1000 人となった。この腸球菌数を元に定められた 8 HCGI/1000 人を Dufour が算出した大腸菌数の回帰曲線\*に当てはめると 126cfu/100mL と計算された。同様に腸球菌

30cfu/100mL あたりの症例数は 7HCGI/1000 人で、NGI に換算すると 32NGI/1000 人となり、これを元に大腸菌数を計算すると 99cfu/100mL (四捨五入して 100cfu/100mL) となった。

また、海水浴場での 9 回の調査の結果、平均腸球菌数は 18.9cfu/100mL であったのに対し大腸菌数は 71.9cfu/100mL だった。1000 人あたり 8HCGI という症例数は 1986 年時点で "Acceptable swimming associated gastroenteritis rate per 1000 swimmers" と表記されており、受け入れられる症例数ということで決められた。

この基準 126cfu/100mL よりも菌数が多い場合には胃腸疾患の発生の相対リスク (リスク比) は 1.94 (95%信頼区間: 1.27-2.96) であるが、少ない場合には有意差はないと報告している<sup>4)</sup>。EU の浴場に関する基準では大腸菌数は  $\leq 500$ cfu/100mL が excellent とされており、ドイツにおける調査では大腸菌の NOAEL (最大有害無作用レベル: 有害な影響を示さない最大数) は 100cfu/100mL と報告されている<sup>5)</sup>。

米国と EU の浴場の大腸菌の基準と疫学調査の結果からすると、日本の浴槽水の大腸菌数の基準を 1.0 個/mL 以下とすることは妥当であるといえる。上述したように浴槽水の調査から得られた大腸菌数/大腸菌群数の比率が 0.55 あるいは 0.62 であったことから、1 個に比率 0.55 あるいは 0.62 を乗じた新たな基準 (0.55 個/mL 以下あるいは 0.62 個/mL 以下) とすることも考えられるが、米国<sup>4)</sup>およびドイツ<sup>5)</sup>の疫学調査により 1 個/mL 以下 (126cfu/100mL または 100cfu/100mL とほぼ同等) としても胃腸疾患が有意に発生するリスクがないのであれ

ば、敢えて1個/mL以下の基準を変える必要はないと考えられる。なお、「個」は細菌

学で用いる colony forming unit (cfu)に相当する。

\*大腸菌の回帰曲線 (Dufour, 1984)

$$1000 \text{ 人あたりの HCGI} = -11.74 + 9.397(\log_{10} \text{ 大腸菌数}/100\text{mL})$$

$$\therefore \text{大腸菌数} = \text{antilog}_{10} \frac{\text{症例数}/1000 \text{ 人} + 11.74}{9.397}$$

#### 4. 浴槽水の大腸菌群・大腸菌汚染の実態調査

調査で対象にした137検体の浴槽水の原水の内訳は、井戸水(ボーリング水を含む)22検体、水道水35検体、井戸水と水道水の混合4検体、温泉76検体であった。

採水時の消毒効果のカテゴリー分けについては、「公衆浴場における衛生等管理要領」に浴槽水の遊離残留塩素濃度は0.4mg/L程度とし1mg/Lを超えないように努め、モノクロアミンでは3mg/L程度とされていることに準じて、遊離残留塩素濃度0.4~1mg/L・結合残留塩素濃度3~4mg/Lを基準値内とし、さらに基準値未満と基準値超で分類すると、基準値未満が38検体、基準値内が61検体、基準値超が33検体、測定不能または不明が5検体となった。

定量法と定性法のいずれかの方法により大腸菌群あるいは大腸菌が検出された検体を大腸菌群陽性あるいは大腸菌陽性としたところ、137検体のうち20検体(14.6%)から大腸菌群が、14検体(10.2%)から大腸菌が検出された。残留塩素濃度別・原水の種類別の大腸菌群と大腸菌の検出結果を表1および表2に示した。大腸菌群と大腸菌

のいずれでも残留塩素濃度が基準値を満たす浴槽水で検出されることがあり、消毒効果が不足していることが推測され、大腸菌群・大腸菌検査に意義があることが改めて示された。

現行法で検出された大腸菌群数は0.5~13cfu/mLであり、定量法により検出された大腸菌数は0.5~11.5cfu/mLであった。塩素濃度を基準値未満と基準値以上で検体を分けると、基準値未満では定量法で検出された大腸菌群数は0.5~11.5cfu/mL、大腸菌数は0.5~4.5cfu/mL、現行法での大腸菌群数は0.5~13cfu/mLであり、基準値以上では定量法にて大腸菌群数は0.5~1cfu/mL、大腸菌数は1cfu/mL、現行法での大腸菌群数は1~1.5cfu/mLであった。残留塩素濃度の濃度別で比較すると、基準値未満の浴槽水において大腸菌群数と大腸菌数が多いことが示された。大腸菌数を計数できることで衛生管理の状況を推定することができるのは、定量法の大きな利点である。

残留塩素濃度が測定不能あるいは不明であった5検体を除外し、浴槽水の残留塩素濃度が基準値未満の38検体と基準値以上(基準値内&基準値超)の94検体における

大腸菌群と大腸菌のそれぞれの検出率を比較した。大腸菌群が基準値未満では 31.6% (=12/38)、基準値以上では 5.3% (=5/94) であり、大腸菌が基準値未満では 21.1% (=8/38)、基準値以上では 3.2% (=3/94) であった。残留塩素濃度が基準値未満の浴槽水での大腸菌群あるいは大腸菌の検出率が、基準値以上の浴槽水での検出率よりも高いことが示された。

基準値未満の浴槽水と基準値以上の浴槽水における大腸菌群あるいは大腸菌の検出と不検出の検体数から 2 x 2 表を作成し (表 3 および表 4)、フィッシャーの正確確率検定により検出率の差の検定を行った。その結果、残留塩素濃度が基準値未満の浴槽水からの大腸菌群あるいは大腸菌の検出率は、基準値以上の浴槽水における検出率よりも有意に高いことが示された。このことは、塩素消毒を行わないかあるいは基準値未満の不適切な消毒により大腸菌は生存し、検査により検出されることとなり、一方で適切な塩素消毒により大腸菌が不活化されていることを示唆している。

大腸菌の定量法の基準を「1 個/mL 以下」、「1 個/mL 未満」、「不検出」、大腸菌の定性法の基準を「不検出」とそれぞれ設定したと想定し、浴槽水が基準値超過と判定される検体数を基準値別に表 5 に示した。さらに、現行法と定量法あるいは定性法による糞便汚染指標細菌の判定結果の一致の状況をフィッシャーの正確確率検定により検定した。その結果、定量法と定性法のいずれの基準でも、現行法と同じ結果が得られていることが示された (表 6～9)。表 5 で示したように、定量法の基準を「1 個/mL 未満」にした場合の結果が現行法と類似の結

果となった。理由として、現行法と定量法の検体量がともに 1mL であることや、大腸菌群と大腸菌の比率を反映している可能性がある。ただし、検体数が少ないため、これをもって基準を決めるにはデータが十分ではないと考えられる。一方で、定性法は 100mL の検体量で検査を実施することから現行法よりも検出感度が高いことを示唆する結果になっている (表 5)。

定量法の 3 種の基準あるいは定性法の基準を設定し、これに基づいて適合の判断を行った場合に、現行法の結果と定量法あるいは定性法を用いた大腸菌による汚染の判定結果は統計的には一致していた (表 6～9)。したがって、いずれの基準を設定したとしても今回の調査からは、現行法による判定と同じが得られることが示唆された。しかし、今回の調査では 137 検体を対象にし、そのうち 14 検体から大腸菌が検出される結果であったが、解析に十分な検体数であったとは必ずしもなかった。検体数を増やすことで、さらに詳細な評価を行うことができる可能性がある。

#### D. まとめ

浴槽水の水質基準における糞便汚染指標を大腸菌群から大腸菌に変更すること、ならびに変更する場合の基準と検査法の妥当性について、WG において検討した。糞便汚染指標細菌を大腸菌群から大腸菌に変更することについては、他の水環境の基準との整合性や入手可能な検査法の存在から、妥当であるとした。大腸菌の検査法については、現行の検査法で使用されているデソキシコレート寒天培地を特定酵素基質寒天

培地に変更した定量法とする意見と、特定酵素基質液体培地による定性法にするとの意見があった。大腸菌の基準は、定量法の場合は現行の1個/mL以下、1個/mL未満および検出されないことの3案が、定性法の場合は検出されないことが挙げられた。過去のレジオネラ研究班において得られた浴槽水の大腸菌群と大腸菌の汚染実態調査のデータに基づく大腸菌数/大腸菌群数の比率は0.55および0.62(平均0.59)であった。欧米の水浴場の大腸菌の基準は、米国は100cfu/100mLと126cfu/100mLであり、ドイツは100cfu/100mLとしている。3自治体の浴槽水137検体における大腸菌群と大腸菌の汚染実態調査では、大腸菌にかかる定量法の3種の基準と定性法の基準(不検出)のいずれの基準でも、統計学的には現行法の大腸菌群の結果と有意差はなかった。事例数は少ないものの、定量法の大腸菌の基準を「1個/ml未満」での検出数が現行法での検出数と近い結果であった。残留塩素濃度が基準値未満の浴槽水では、基準値以上の浴槽水よりも検出率が有意に高いことが示された。

#### E. 参考文献

- 1)USEPA: Recreational Water Quality Criteria. pp63, Office of Water, United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C., USA, 2012.  
<https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/rwqc2012.pdf>
- 2)USEPA: Ambient water quality criteria for bacteria-1986. pp18, US Environmental Protection Agency,

Washington D.C., USA, 1986.  
<https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-03/documents/ambient-wqc-bacteria-1986.pdf>

- 3)Dufour: Health effects criteria for fresh recreational waters. pp33, US Environmental Protection Agency, Washington D.C., USA, 1984.  
<https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/300000H7.PDF?Dockey=300000H7.pdf>
- 4)Wade et al.: Do U.S. Environmental Protection Agency water quality guidelines for recreational waters prevent gastrointestinal illness? A systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect.* 2003;111(8):1102-9.  
doi: 10.1289/ehp.6241.
- 5)Wiedenmann et al.: A randomized controlled trial assessing infectious disease risks from bathing in fresh recreational waters in relation to the concentration of *Escherichia coli*, intestinal enterococci, *Clostridium perfringens*, and somatic coliphages. *Environ Health Perspect.* 2006;114(2):228-36.  
doi: 10.1289/ehp.8115.

F. 研究発表、学会発表、論文発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表1 浴槽水の大腸菌群・大腸菌汚染実態調査における大腸菌群の検出

原水の種類	検体数	残留塩素・モノクロラミン濃度別検出数				大腸菌群 検出検体数
		基準値 未満	基準値 内	基準値 超	測定不能 /不明	
井戸水	22	2	0	0	0	2(9.1)
水道水	35	1	1	0	0	2(5.7)
井戸水+水道水	4	0	0	0	0	0
温泉	76	9	4	0	3	16(21.1)
合計	137	12(8.8)	5(3.6)	0	3(2.2)	20(14.6)

( )内は%

表2 浴槽水の大腸菌群・大腸菌汚染実態調査における大腸菌の検出

原水の種類	検体数	残留塩素・モノクロラミン濃度別検出数				大腸菌 検出検体数
		基準値 未満	基準値 内	基準値 超	測定不能 /不明	
井戸水	22	2	0	0	0	2(9.1)
水道水	35	1	1	0	0	2(5.7)
井戸水+水道水	4	0	0	0	0	0
温泉	76	5	2	0	3	10(13.2)
合計	137	8(5.8)	3(2.2)	0	3(2.2)	14(10.2)

( )内は%

表3 浴槽水における残留塩素濃度と大腸菌群検出の関連性

		大腸菌群		合計
		検出	不検出	
残留 塩素濃度	基準値未満	12	26	38
	基準値以上	5	89	94
合計		17	115	132

フィッシャーの正確確率検定により塩素濃度の違いによる  
検出率の差は有意。  $p=0.00031<0.01$

表4 浴槽水における残留塩素濃度と大腸菌検出の関連性

		大腸菌		合計
		検出	不検出	
残留塩素濃度	基準値未満	8	30	38
	基準値以上	3	91	94
合計		11	121	132

フィッシャーの正確確率検定により塩素濃度の違いによる検出率の差は有意。  $p=0.0042<0.01$

表5 現行法と大腸菌の定量法および定性法による基準値超過検体数<sup>a</sup>

原水の種類	検体数	定量法			定性法	現行法
		1個/mL以下	1個/mL未満	不検出	不検出	1個/mL以下
井戸水	22	0	0	1	2	0
水道水	35	0	0	1	2	0
井戸水+水道水	4	0	0	0	0	0
温泉	76	3	5	6	10	6
計	137	3	5	8	14	6

a: 定量法の基準値を「1個/ml以上」、「1個/ml未満」、「不検出」、定性法の基準値を「不検出」と設定した場合の検出検体数

表6 現行法と大腸菌定量法（1個/mL以下）の比較

		現行法		合計
		基準値超過	基準値内	
定量法（1個/mL以下）	基準値超過	2	1	3
	基準値内	4	130	134
合計		6	131	137

フィッシャーの正確確率検定により2法の結果に差はない。  $p=0.0095<0.01$

表7 現行法と大腸菌定量法（1個/mL未満）の比較

		現行法		合計
		基準値超過	基準値内	
定量法（1個/mL未満）	基準値超過	4	1	5
	基準値内	2	130	132
合計		6	131	137

フィッシャーの正確確率検定により2法の結果に差はない。 $p=0.000011<0.01$

表8 現行法と大腸菌定量法（不検出）の比較

		現行法		合計
		基準値超過	基準値内	
定量法（不検出）	基準値超過	5	3	8
	基準値内	1	128	129
合計		6	131	137

フィッシャーの正確確率検定により2法の結果に差はない。 $p=0.0000018<0.01$

表9 現行法と大腸菌定性法（不検出）の比較

		現行法		合計
		基準値超過	基準値内	
定性法（不検出）	基準値超過	5	9	14
	基準値内	1	122	123
合計		6	131	137

フィッシャーの正確確率検定により2法の結果に差はない。 $p=0.000061<0.01$

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）

公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

令和6年度分担研究報告書

浴槽水における大腸菌検査法の検討

研究分担者	中西典子	神戸市健康科学研究所
研究協力者	小松頌子	神戸市健康科学研究所
研究協力者	武藤千恵子	東京都健康安全研究センター
研究協力者	梅津萌子	東京都健康安全研究センター
研究協力者	高久靖弘	東京都健康安全研究センター
研究協力者	佐々木麻里	大分県衛生環境研究センター

研究要旨：公共用水域の水質汚濁を防止するため、近年、放流水の基準が大腸菌群数から大腸菌数へと改正されている。本研究では、浴槽水における大腸菌検出法を検討するため、いくつかの特定酵素基質寒天培地の特徴づけと菌数比較を行い、実際の浴槽水における大腸菌の検出状況を定量・定性試験により調査した。特定酵素基質寒天培地では、培地によってコロニーの識別のしやすさや生育するコロニー数に差があり、一部の培地では大腸菌が非定型色を示すことが分かった。実際の浴槽水 126 検体のうち、定量法および定性法により 13 検体（10.3%）から大腸菌が、15 検体（11.9%）から大腸菌群が検出された。青色を呈するコロニーは大腸菌であり、赤色を呈するコロニーはエンテロバクター属、シトロバクター属、セラチア属が多かった。また、大腸菌の定性試験では、温泉水では偽陰性となる可能性があることが明らかとなった。

A. 研究目的

これまで、環境基本法に基づく水質汚濁に係る環境基準の内、生活環境の保全に関する環境基準（生活環境項目環境基準）における糞便汚染の指標には、大腸菌群が用いられてきた。大腸菌群には糞便由来の細菌の他、水系や土壤に生息する自然由来の細菌も含まれる。そのため、糞便汚染の指標性は低いというのが今日の国際的な理解となっている。一方で、大腸菌はヒトを含む温血動物の糞便由来の細菌の中で最

も菌数が多く、糞便汚染の指標として信頼性が高かったが、他の細菌と区別して大腸菌のみを検出することができないという、培養技術の制約があった<sup>1)</sup>。

しかしながら今日では、特定酵素基質培地を用いることで大腸菌を簡便かつ迅速に検出できるようになった<sup>2)</sup>。本培地は、大腸菌が特異的に産生する酵素β-グルクロニダーゼが分解する発色または蛍光基質を用いて、コロニーの色や培地の蛍光により大腸菌を検出できる。同時に、大腸菌

群が特異的に産生するβ-ガラクトシダーゼを利用した反応によって、大腸菌と大腸菌群を区別することができる。このように、簡便な大腸菌の検出技術が確立されたことから、生活環境項目が大腸菌群数から大腸菌数へと見直された<sup>3)</sup>。以上の状況を踏まえ、公共用水域の水質汚濁を防止するため、下水放流水に関して、大腸菌群数から大腸菌数へ基準項目の改正が行われている<sup>4, 5)</sup>。

公衆浴場の浴槽水の水質基準は、「公衆浴場における水質基準等に関する指針」において、「大腸菌群は、1個/mL以下であること」、大腸菌群の検査方法は「下水の水質の検定方法によること」と定められている<sup>6)</sup>。しかしながら、上述のように、下水放流水の基準項目の改正に伴い、検定方法も改訂され、令和7年4月1日より施行される<sup>7)</sup>。

本研究では、浴槽水における水質基準が大腸菌群から大腸菌へと改正されるのに先立ち、浴槽水の大腸菌検査方法の比較検討と実際の浴槽水における大腸菌の検出状況を調査した。

## B. 研究方法

### 1. 大腸菌と大腸菌群菌株を用いた特定酵素基質寒天培地の特徴付けと菌数比較

特定酵素基質寒天培地は、ES コリマーカー寒天培地（栄研化学）、アキュディア™XM-G 寒天培地（島津ダイアグノスティクス）、クロモアガー™ECC 寒天培地（関東化学）、クロモカルトコリフォーム寒天培地（Merck）、Pro・media アガートリコ

ロール（エルメックス）の5種類を用いた（表1）。以降は匿名化のため、培地A、培地B、培地C、培地D、培地Eとする。

供試菌株は、*Escherichia coli* ATCC25922、大腸菌群として *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705、*Serratia* 属菌（*S. liquefaciens* NCTC10442 または環境由来 *S. marcescens*）とした。なお、定義としての大腸菌群には大腸菌も含まれるが、以下、「大腸菌群」は「大腸菌」以外の大腸菌群とする。各菌種の菌液を 10<sup>3</sup> CFU/mL に調整し、*E. coli*、*K. pneumoniae* は 100 μL、*Serratia* 属菌は 50 μL、3 菌種の混合菌液は 100 μL を添加し、混釈培養した。各菌種の生育コロニー数を同程度にするため、3 菌種の混合菌液は、*E. coli* : *K. pneumoniae* : *Serratia* 属菌=2:2:1 の割合で混合した。培養時間・培養温度はマニュアルに従った。3 枚の菌数を平均し、現行の大腸菌群試験に用いられるデソキシコレート寒天培地（Merck）に生育した菌数を1としたときの各培地の菌数について、t 検定を用いて評価した。

### 2. 実際の浴槽水における大腸菌・大腸菌群検出状況

入浴施設 126 施設の浴槽水を用いた。浴槽水の泉質と採水時の遊離残留塩素濃度または結合残留塩素濃度の内訳を表2に示した。特定酵素基質寒天培地は、培地A、培地B、培地Dを用いた。検体1 mLを混釈培養し、コロニーの色調に基づいて菌数を計数し、2枚の平均値を算出した。生育したコロニーの菌種同定にはMALDI-TOF MS (Bruker)を用いた。

また、定性試験用の特定酵素基質培地である EC ブルー100P「ニッスイ」（島津ダイアグノスティクス）または Colilert（IDEXX）1 包を検体 100 mL に添加し、35~36°C で 24 時間培養後、青~青緑色/黄色の呈色および蛍光の有無を判定した。

### 3. 温泉水を用いた定性試験法の評価

10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup> CFU/mL および 10<sup>4</sup> CFU/mL に調整した *E. coli* ATCC25922 を 1 mL ずつ温泉水 99 mL に添加した。ポジティブコントロール（PC）は、各濃度の菌液 1 mL を滅菌水 99 mL に添加し、ネガティブコントロール（NC）は菌液調整に用いた生食 1 mL を滅菌水 99 mL に添加した。供試試料 100 mL に EC ブルー100P「ニッスイ」1 包を添加し、35~36°C で 24 時間培養後、青~青緑色の呈色および蛍光の有無を判定した（表 1）。

## C. 研究結果

### 1. 特定酵素基質寒天培地間の比較

#### (1) 各培地における大腸菌・大腸菌群の増殖形態

各培地における菌株の増殖形態を図 1 に示した。いずれの培地でも大腸菌と大腸菌群はコロニーの色で区別でき、最長の培養時間において、明瞭に発色した。大腸菌群がピンク色に発色した培地 B、培地 C、培地 D、培地 E では、青~紫色に発色した大腸菌と容易に区別が可能であった。ただし、培地 B と培地 E においては、赤紫色を呈する *E. coli* コロニーがあった（図 1 の矢印）。また、*Serratia* 属菌のコロニー色は培地によって白色から

ピンク色に発色した。

#### (2) コロニー数の培地間差

各培地における大腸菌・大腸菌群のコロニー数を比較した（図 2）。培地 A および培地 D では、いずれの菌種においても対照であるデソキシコレート寒天培地でのコロニー数と同等であった。培地 B と培地 E では、大腸菌数と 3 菌種混合時の大腸菌数が、デソキシコレート寒天培地と比較して 52.2~80.9%であった。一方で、培地 C では大腸菌および大腸菌群数が有意に低かった。

## 2. 実際の浴槽水における大腸菌・大腸菌群検出状況

### (1) 検査法別の大腸菌・大腸菌群検出率

特定酵素基質寒天培地を用いた定量試験の大腸菌検出率は 6.3%（8/126 検体）、大腸菌群検出率は 9.5%（12/126 検体）であった。一方で、定性試験による大腸菌陽性率は 10.3%（13/126 検体）、大腸菌群陽性率は 11.1%（14/126 検体）であった（表 3）。

### (2) 大腸菌・大腸菌群陽性の浴槽水

表 4 には、定量試験または定性試験で大腸菌・大腸菌群が検出された 17 検体の結果を示した。17 検体中 14 検体（82.4%）が温泉水であり、9 検体（52.9%）の残留塩素濃度は基準値以下であった。

定量試験における大腸菌検出率は培地 B が 6.3%（8/126 検体）、培地 A が 4.0%（5/126 検体）、培地 D が 1.9%（2/107 検体）であった。また、大腸菌群検出率は、培地 A で 7.1%（9/126 検体）、培地 B で

6.3% (8/126 検体)、培地 D で 4.7% (5/107 検体) であり、現行法のデソキシコレート寒天培地における大腸菌群検出率 7.1% (9/126 検体) と同程度であった。

### (3) 浴槽水で検出された菌種

特定酵素基質寒天培地で検出されたコロニーの色と菌種を表 5 に示した。青～青紫色を呈したコロニーはすべて *E. coli* であった。ピンク～紫色を呈したコロニーは *Enterobacter* 属菌、*Citrobacter* 属菌、*Serratia* 属菌等であった。1 検体において、培地 B 上で、全体が赤色で中心が黒色を呈したコロニーが *E. coli* であった。また、白色を呈したコロニーは、*Pseudomonas* 属菌や *Achromobacter* 属菌、*Acinetobacter* 属菌等であったが、培地 A や培地 B に生育したコロニーの一部は *S. marcescens* や *Cronobacter sp.* であった。

### 3. 温泉水における定性試験法の検討結果

$10^2$ - $10^3$  CFU/mL の大腸菌を添加した 33 検体中 19 検体 (57.6%) が、定性試験法で偽陰性となった。さらに、 $10^4$  CFU/mL の菌液を添加した場合、4 検体は陽転したものの、15 検体 (45.5%) の偽陰性という判定は変わらなかった (表 6)。

### D. 考察

浴槽水の大腸菌群検査が大腸菌検査へと移行されるのに先立ち、本研究では、浴槽水における大腸菌検査方法の検討と実態把握調査を行った。

菌株を用いた特定酵素基質寒天培地の検証により、培地間での菌数や識別能に

差が認められた。培地 C では他の培地に比べて、菌数が低値であったのは、ピルビン酸ナトリウムが含まれていないなどの培地組成の違いによるものと考えられた。また、一部の培地において、赤紫色を呈する *E. coli* コロニーがあったことから、正確な判別がされにくいことによる実験精度の低下を招来する可能性がある。実際の検体においても、全体が赤色で中心が黒色の非定型の色を呈した *E. coli* が検出されている。特定酵素基質寒天培地を用いての大腸菌検査を行うにあたっては、菌数・形状・識別能など複数の観点から適した培地を選択し、それらの特性を把握したうえで実施する必要があると考えられる。

今回調査した浴槽水の 6.3%~10.3%が大腸菌陽性となった。既報の浴槽水の大腸菌検出率 1.0% (1/102 検体)<sup>8)</sup>と比較すると高値であった。この要因として、調査した浴槽水の 56.3% (71/126 検体) が温泉水であり、14.1% (10/71 検体) が大腸菌陽性であったことが影響していると考えられる。また、かけ流し式温泉における大腸菌検出率に関しては 22.2% (88/396 検体) と比較的高いことが報告されているが<sup>9)</sup>、今回の調査においても大腸菌数が 9 CFU/mL 以上検出された 1 検体は、かけ流し式温泉で消毒剤を使用していなかった。

大腸菌・大腸菌群の検出率を検査方法ごとにみた場合、定量試験よりも定性試験の方が高く、定性試験のみで大腸菌陽性となった検体が 5 検体あった。これは、

定性試験では供される試料の量が定量試験に比べて 100 倍多いため検出感度が 100 倍高くなるためと考えられた。定量試験における培地間での大腸菌検出率・検出菌数は、培地 A と培地 B で大きな差はみられず、現行のデソキシコレート寒天培地による大腸菌群数と比較しても同程度であった。一方で、培地 D では大腸菌検出率が低かった。培地 D で大腸菌が検出されなかった検体において、他の培地での菌数は 0.5~2 CFU/mL と少数であったことから、培地間の差の他に、確率的な要因も考えられた。

温泉水においては、大腸菌を添加した EC ブルー100P での定性試験により偽陰性となる検体が、50%以上存在することが明らかとなった。硬水では白濁することがあるが判定には支障がないという添付文書の記載があったが、温泉水においても検査試薬添加直後から白濁の現象がみられた。しかし、結果判定時には沈殿しており、陽性・陰性の判定に支障はなかった。偽陰性となった検体の泉質としては、ナトリウム塩化物・炭酸水素塩温泉、カルシウム-硫酸塩温泉、含鉄ナトリウム塩化物強塩高温泉であった。大腸菌の添加量を増やすと陽転した検体がみられたことから、これらの泉質の何らかの成分と検査試薬の組成成分とが反応することで、大腸菌の特定酵素反応が抑制された可能性が考えられた。また、コリラートにおいては原水が海水の場合には適さず、コリラート 18 においては 10 倍希釈した上で使用することと記されている。従って、

温泉水や原水に海水を含むものを 100 mL 用いる場合には、大腸菌検出法として定性試験は適していないと考えられた。

#### E. 結論

特定酵素基質寒天培地を用いた定量試験は、大腸菌を簡便に識別可能であり、水源・泉源の多様な浴槽水に適用可能であることが示された。本試験は、浴場施設の衛生管理効果を把握するための大腸菌検査法として、適用可能な試験法であると考えられた。

#### F. 参考文献

- 1) 厚生労働省, II. 病原微生物に係る水質基準:  
(<https://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/04/dl/s0428-4d.pdf>), 2024 年 10 月 3 日 取得
- 2) Manafi, M., Kneifel, W. and Bascomb, S. (1991) Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. *Microbiol. Rev.* 55. 335-348.
- 3) 環境省水・大気環境局長 (2021) 水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件の施行及び地下水の水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件の施行について, 環水大水発第 2110072 号, 環水大土発第 2110072 号
- 4) 環境省水・大気環境局長 (2024) 水質汚濁防止法施行令の一部を改正する政令等の施行について, 環水大管発第 2403149 号

- 5) 国土交通省水管理・国土保全局下水道部長 (2024) 下水道法施行令の一部を改正する政令等の施行について, 国水下企第 108 号
  - 6) 厚生省生活衛生局長 (2000) 公衆浴場における衛生等管理要領等について, 生衛発第 1,811 号, 2024 年 10 月 4 日閲覧
  - 7) 国土交通省水管理・国土保全局 下水道部流域管理官付課長補佐 (2024) 大腸菌数の検定方法について, 事務連絡
  - 8) 枝川亜希子, 安達史恵, 小池真生, 肥塚利江, 松島加代, 土屋誠, (2023) 大阪府内中核市における公衆浴場等浴槽水のレジオネラ属菌および水質状況調査. 大阪健康安全基盤研究所年報, 7: 94-101
  - 9) 井上博雄ら, (2007) 厚生労働科学研究費補助金 (地域健康危機管理研究事業) 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 : (<https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/2006/064061/200639020B/200639020B0001.pdf>), 2024 年 10 月 4 日取得
- G. 研究発表
- 論文発表
- 1) 小松頌子、武藤千恵子、佐々木麻里、梅津萌子、高久靖弘、大谷彩恵、田中和良、木下輝昭、猪又明子、藤永千波、田中忍、中西典子. 浴槽水における大腸菌検査法の検討. 日本防菌防黴学会誌 Vol53-3. 2025.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし

表 1 大腸菌および大腸菌群の定量・定性試験培地

培地	定量試験					定性試験		
	ESコリマーク 寒天培地	アキュディア™ XM-G寒天培地	クロモアガー™ ECC寒天培地	クロモカルト コリフォーム 寒天培地	Pro·media アガートリコロール	EC ブルー100P 「ニッスイ」	コリラート	
培養温度	35-37°C	34-36°C	37°C	35-37°C	35-37°C	35-37°C	34.5-35.5°C	
培養時間	18-22 h	18-22 h	24 h	24 h	18-24 h	24-28 h	24 h	
大腸菌	(基質)	X-Gluc	X-Gluc	特殊酵素基質	X-Gluc	X-Gluc	MUG	MUG
	(発色)	青～青紫	青～青紫	青	青	青～青紫	青～青緑色 & 蛍光	黄色 & 蛍光
大腸菌群	(基質)	Magenta-Gal	Magenta-Gal	特殊酵素基質	Salmon-Gal	Magenta-Gal	X-Gal	ONPG
	(発色)	ピンク～赤紫	ピンク～赤紫	赤	淡紅～赤	赤～紫	青～青緑色	黄色

X-Gluc: 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide, MUG: 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide, Magenta-Gal: 6-bromo-5-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside, Salmon-Gal: 6-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside, X-Gal: 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside, ONPG: o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside

培地	培養時間	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Serratia</i> spp.	3菌種混合
A	18 h				
	22 h				
B	18 h				
	22 h				
C	24 h				
D	24 h				
E	18 h				
	24 h				
F	18-22 h				

図1 大腸菌および大腸菌群の培養時間によるコロニーの大きさと色調の変化  
矢印は *E. coli* の非定型コロニーを示す。

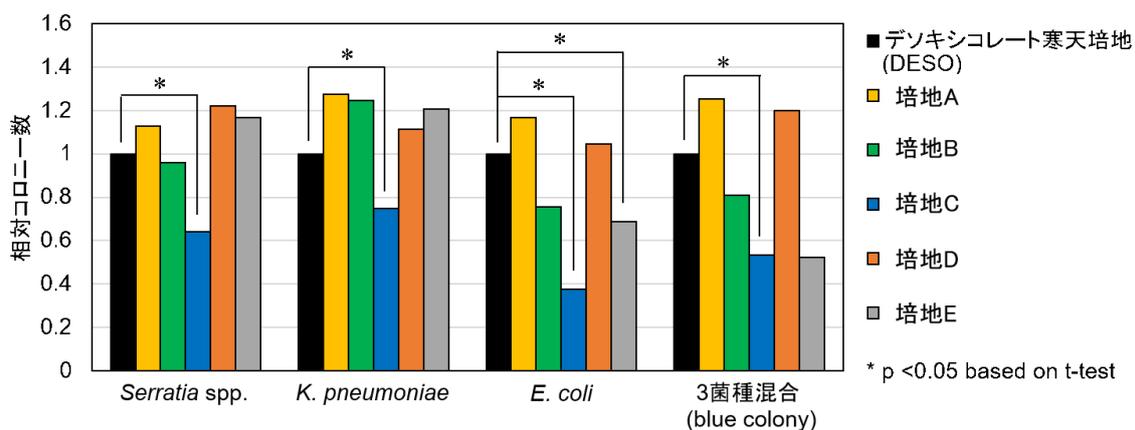


図2 5種類の酵素基質寒天培地におけるコロニー数の比較

各酵素基質寒天培地の相対コロニー数は、デソキシコレート寒天培地に生育したコロニー数を1として算出した。3菌種混合時のデソキシコレート寒天培地上の大腸菌のコロニー数は、大腸菌単独接種時のコロニー数から算出した。\*  $p < 0.05$  はt検定に基づく。

表2 浴槽水の種類と残留塩素濃度

	サンプル数	残留塩素濃度 <sup>1)</sup>			
		基準値未満	基準値内	基準値超過	測定不能/不明
井戸水(ボーリング水含む)	18	3	8	7	0
水道水	33	1	24	7	1
井戸水&水道水	4	2	1	1	0
温泉水	71	25	24	18	4
合計	126	31	57	33	5

<sup>1)</sup>遊離残留塩素濃度は、< 0.4 mg/Lを基準値未満、0.4~1 mg/Lを基準値内、>1 mg/Lを基準値超過とした。モノクロラミン濃度については、< 3 mg/Lを基準値未満、3~4 mg/Lを基準値内、> 4 mg/Lを基準値超過とした。

表3 定量・定性試験における大腸菌および大腸菌群の検出率

	サンプル数	定量試験		定性試験	
		大腸菌陽性のサンプル数 (%)	大腸菌群陽性のサンプル数 (%)	大腸菌陽性のサンプル数 (%)	大腸菌群陽性のサンプル数 (%)
井戸水(ボーリング水含む)	18	1	1	1	1
水道水	33	1	1	2	2
井戸水&水道水	4	0	0	0	0
温泉水	71	6	10	10	11
合計	126	8 (6.3%)	12 (9.5%)	13 (10.3%)	14 (11.1%)

表4 大腸菌・大腸菌群陽性となった検体のリスト

サンプル No.	水源	残留塩素濃度 <sup>1)</sup>	培地A (CFU/plate)			培地B (CFU/plate)			培地D (CFU/plate)			ECブルー100P 「ニッスイ」		コリラート		デソキシコレート 寒天培地 (CFU/plate)
			大腸菌	大腸菌群	他	大腸菌	大腸菌群	他	大腸菌	大腸菌群	他	大腸菌	大腸菌群	大腸菌	大腸菌群	
E-002	井戸水	基準値未満	0	0	3+	0.5	0.5	3+	0	0	3+	+	+	実施せず	0.5	
E-007	温泉水	基準値未満	0	0	0	0	0	1+	0	1.5	0	-	+	実施せず	0	
E-018	温泉水	基準値内	0	0.5	1+	0	0	0	0	0	1+	-	-	実施せず	0	
E-035	温泉水	基準値未満	0	>4	2+	0.5	>4	1+	2	2	2+	+	+	実施せず	1.5	
E-057	温泉水	基準値未満	9	1	3+	9	1.5	3+	実施せず			+	+	実施せず	9	
E-063	温泉水	基準値未満	0	0	2+	0	0	1+	実施せず			-	+	実施せず	0	
E-064	温泉水	基準値未満	0	1	1+	0	0	0	実施せず			+	+	実施せず	0.5	
E-066	温泉水	基準値未満	11.5	0	2+	9.5	0.5	0	実施せず			+	+	実施せず	13	
E-070	水道水	基準値未満	0.5	1	3+	0.5	0.5	3+	0	0	3+	実施せず		+	+	0
E-073	温泉水	基準値内	1	1		0.5	0.5		1	1		実施せず		+	+	1.5
E-076	温泉水	基準値内	0	0		0	0		0	0		実施せず		+	+	0
E-080	温泉水	測定不能	0	4		1	4.5		0	1.5		実施せず		+	+	3
E-081	温泉水	測定不能	0	0		0	0		0	0		実施せず		+	測定不能	0
E-082	温泉水	測定不能	0	0		0	0		0	0		実施せず		+	測定不能	0
E-083	温泉水	基準値内	0	0.5		0	0		0	0		実施せず		-	+	1
E-084	水道水	基準値内	0	0		0	0		0	0		実施せず		+	+	0
E-098	温泉水	基準値未満	0.5	0.5		2	3		0	0.5		実施せず		+	+	0.5

<sup>1)</sup>遊離残留塩素濃度は、< 0.4 mg/Lを基準値未満、0.4~1 mg/Lを基準値内、>1 mg/Lを基準値超過とした。モノクロロミン濃度については、< 3 mg/Lを基準値未満、3~4 mg/Lを基準値内、> 4 mg/Lを基準値超過とした。

表5 各培地で検出されたコロニーの色調と菌種

コロニーの色調	菌種 <sup>1)</sup> (サンプル数)		
	培地A	培地B	培地D
青~青紫	<i>Escherichia coli</i> (5)	<i>Escherichia coli</i> (8)	<i>Escherichia coli</i> (2)
ピンク~紫	<i>Citrobacter koseri</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (1)	<i>Citrobacter koseri</i> (1)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	<i>Citrobacter koseri</i> (2)	<i>Cronobacter</i> sp. (1)
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex (3)	<i>Enterobacter cloacae</i> complex (1)	
	<i>Enterobacter aerogenes</i> (1)	<i>Serratia marcescens</i> (1)	
		<i>Aeromonas caviae</i> (1)	
白	<i>Serratia marcescens</i> (1)	<i>Serratia marcescens</i> (1)	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> (3)
	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> (2)	<i>Cronobacter</i> sp. (1)	<i>Pseudomonas mendocina</i> (1)
	<i>Pseudomonas mendocina</i> (2)	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> (3)	<i>Pseudomonas alcaliphila</i> (1)
	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (1)	<i>Pseudomonas mendocina</i> (1)	<i>Pseudomonas balearica</i> (1)
	<i>Providencia stuartii</i> (1)	<i>Providencia stuartii</i> (1)	<i>Pseudomonas otidis</i> (1)
			<i>Pseudomonas oleovorans</i> (1)
			<i>Achromobacter xylosoxidans</i> (1)
			<i>Acinetobacter baumannii</i> (2)
			<i>Acinetobacter lactucae</i> (1)
			<i>Providencia stuartii</i> (1)

<sup>1)</sup> 非典型的なコロニーには下線を引いた。

表6 温泉水における EC ブルー100P 「ニッスイ」 による大腸菌偽陰性率

サンプル数	大腸菌偽陰性のサンプル数 (%)	
	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup> CFU/mL	10 <sup>4</sup> CFU/mL
33	19 (57.6%)	15 (45.5%)

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）

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所

令和6年度分担研究報告書

「国内から参加可能な英国のレジオネラ外部精度管理（UKHSA および FAPAS）への参加と検査精度に関連する国際的な現状」

- |         |       |                |
|---------|-------|----------------|
| ○ 研究分担者 | 枝川亜希子 | 大阪健康安全基盤研究所    |
| 研究分担者   | 前川純子  | 国立感染症研究所       |
| 研究協力者   | 井上浩章  | アクアス株式会社       |
| 研究協力者   | 縣 邦雄  | アクアス株式会社       |
| 研究協力者   | 杉山順一  | 日本建築衛生管理教育センター |
| 研究協力者   | 安齋博文  | 日本建築衛生管理教育センター |
| 研究協力者   | 小池真生子 | 大阪健康安全基盤研究所    |

#### 研究要旨

浴槽水を対象としたレジオネラ検査結果は、行政指導の根拠となることに加え、日常的な衛生管理を行う上での重要なデータであることから高い精度が求められる。一方で、レジオネラ検査は工程が多いことや、水質の影響を大きく受けるため、一般的な細菌検査と比較して複雑な検査である。そのため、検査機関は外部精度管理に参加し、各施設の検査精度の確認を行っている。本研究は、外部精度管理への参加の一般化と検査精度の安定化を目指し、地衛研の外部精度管理への参加支援を検討した。この支援により、2024年度はUKHSAのEQA Legionella isolation scheme、2023年度はFeraのFAPAS Legionella spp. in Environmental Water Proficiency Testの外部精度管理に、各年55機関が参加した。検査は各機関の標準作業手順書による方法で行い、その結果を集約した。これらの参加実績と支援を通じて、国内から参加可能な外部精度管理の情報収集や以前からの変更点の確認など、最新情報の周知に努めた。関心が高まっている国際規格認定ISO17025（試験所や校正機関の認定規格）、ISO17043（技能試験提供者の認定規格）についても確認した。参加者へのアンケート調査から、半数以上で外部精度管理への参加意向があっても、予算化が難しいことが明らかになった。

- A. はじめに 地方衛生研究所（以下、地衛研）、保健所、  
浴槽水を対象としたレジオネラ検査は、民間検査機関を含め多くの機関で実施され

ている。公衆浴場等の浴槽水のレジオネラ基準値は、厚生労働省の通知により、培養法で「検出されないこと（10 CFU/100mL 未満）」と定められている。レジオネラ培養法の検査結果は、行政指導の根拠となることに加え、日常的な衛生管理を行う上での重要なデータであることから、高い精度が求められる。そのため、検査機関は各施設で標準作業手順書（SOP）を作成し、その方法に沿って外部精度管理に参加して検査精度を確認している。外部精度管理の実際は、外部で用意された模擬試料を各施設の SOP に従って検査し、自他施設の結果を比較する。評価方法は Z スコアが用いられ、Z スコアの絶対値 2 以内が良好範囲内とされる。

令和元年に発出された「公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について」（生食発 0919 第 8 号厚生労働省大臣官房生活衛生・食品安全審議官通知）により、「公衆浴場における衛生等管理要領等について」に、「検査の依頼に当たっては、精度管理を行っている検査機関に依頼することが望ましい」の一文が記載された。関連する国際規格認定として、ISO17025（試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項）、ISO17043（技能試験提供者の能力に関する一般的要求事項）があり、これらへの関心も高まっている。日本国内では、ISO17043 の認定を受けている技能試験提供者は少ないが、英国では、技能試験提供者は基本的には ISO17043 の認定を受けている必要があり、認定された技能試験提供者は年に 1 回 ISO17043 の基準に合致しているかを確認するために第三者認定機関による審査を受けている。世界の主要国の主な技能試験提供者は ISO 17043 を持っており、これらの

外部精度管理を受けることによって、参加者側は国際規格に適合した質の高い外部精度管理を受けていることを検査依頼者に示すことができる。

今年度 2024 年度は、英国健康安全保障庁（UKHSA：UK Health Security Agency）の EQA Legionella isolation scheme（以下、UKHSA）、2023 年度は英国食料環境研究庁（Fera：The Food and Environment Research Agency）の FAPAS Legionella spp. in Environmental Water Proficiency Test（以下、FAPAS）に地方衛生研究所が参加した。本研究では、これらのデータを収集して解析し、合わせて外部精度管理に関するアンケート調査を行ったので報告する。また、本研究班では日本国内から参加可能な外部精度管理の情報を収集しており、最新の情報をアップデートした。さらには、国際規格の認定など、検査精度に関連する国際的な現状について情報収集を行った。

## B. 方法

### 1) 地衛研の外部精度管理への参加

2024 年度は UKHSA の G136（2024 年 10 月実施）、2023 年度は FAPAS の LG0124（2024 年 2 月実施）に、地衛研 55 機関が参加した。参加地衛研の募集は、国立感染症研究所と地衛研で構成される「衛生微生物技術協議会レジオネラ・レファレンスセンター」を通じて行った。本研究班およびレジオネラ・レファレンスセンターでは、レジオネラ外部精度管理への地衛研の参加の支援およびとりまとめを行っている<sup>1)</sup>。検査は、UKHSA および FAPAS に指示された方法に加えて、研究班が指定する方法で並行して行われた。すなわち、UKHSA に指示され

た方法は、各機関の SOP による環境水の標準的な方法の「前処理あり、選択培地」、研究班が指定する方法として「前処理なし、非選択培地」が行われた。レジオネラ検査では、前処理、選択培地への接種から、手技にかかわらず一定数の菌数が減少するため、これらの影響を受けない場合の菌数を見る目的で、上記の研究班が指定する方法を追加した。一方、FAPAS に指示された方法は、「前処理なし、非選択培地」、その他の手順は各機関の SOP 通りで行う。研究班が指定する方法として、環境水の標準的な方法である「前処理あり、選択培地」を追加した。地衛研から収集したデータと、UKHSA および FAPAS から提供を受けたデータを合わせて解析や課題の抽出を行った。

## 2) 国内から参加可能な外部精度管理の情報収集

本研究班では、外部精度管理の選択肢を示すことを目指し、日本国内から参加可能な外部精度管理の情報収集を行っている。これらについては昨年度の報告書などにまとめているが<sup>2,3)</sup>、昨年度からの変更点を確認し、情報をアップデートした。

## 3) 外部精度管理に関する国外での現状

検査精度に関連する国外の現状について、WHO や ESGLI (ESCMID Study Group for Legionella Infections) が策定したガイドライン等の情報を収集した。

### C. 結果及び考察

#### 1) 外部精度管理参加結果

##### 1. UKHSA

G136 の全参加者数は 258 名であった。Z

スコアは、参加者個別にレポートに記載されて返却される。配布試料 2 サンプルの G136-A と G136-B の参加者の菌数分布について、図 1 に示す。G136-A は 200/244 名(82%)、G136-B は 239/242 名(99%)が検出と回答している(回答なし・試験未実施は除く)。

UKHSA では、報告期限後に参加者宛に Intended results が送付される(図 2)。UKHSA の Intended results は、いわゆる正解値で、配付試料に含まれるレジオネラ菌数および菌種、レジオネラ以外の菌種が記載されている。この Intended results は、UKHSA の研究所で試験された 6 つの配布試料サンプルの中央値に基づいており、6 つのうち 3 つは発送前に UKHSA の研究所内で試験され、残りの 3 つは別の研究所から試験的に輸送され、輸送後にテストされたものである(UKHSA 提供情報)。参加者は、Intended results の値を使って、各自で回収率を算出することができる。今回の配布試料にはレジオネラ以外の細菌として、*Microbacterium* sp.、*Citrobacter braakii* および *Pseudomonas fluorescens* が含まれていた。これらは GVPC ではコロニーを形成しないことがレポートに記載されている。

地衛研から G136 に 55 名が参加し、参加者すべてが検査結果を報告した。UKHSA では、Z スコアの絶対値 2 以内および参加者中央値 $\pm 0.75\text{Log}$  以内が良好範囲内とされる。今回、Z スコアが算出された参加者のうち良好範囲内であったのは、G136-A は 32/38 名(84.2%)、G136-B は 46/54 名(85.2%)であった。UKHSA では、Z スコアは各参加者へ個別に返却され、参加者全体の表示はない。そのため、地衛研参加者デー

タについて UKHSA から提供を受け、Z スコアのグラフを作成した (図 3)。

今回、地衛研参加者は、UKHSA の指示書通りである各施設の SOP 通り (通常は、「前処理あり、選択培地」) に行う方法に加えて、「前処理なし、非選択培地」を用いる方法を並行して行った。G136-A は、38 名 (69.0%) が検出と回答していたが、これには「前処理なし、非選択培地」の菌数を報告している参加者も含まれていた。通常、環境水試料を対象とした検査では、「前処理あり、選択培地」で行うため、この方法での結果を集計すると、検出は 28 名 (50.9%)、不検出は 27 名 (49.1%) で、検出と不検出がほぼ同数であった。Intended results より、G136-A の菌数は  $9.3 \times 10^2$  CFU/L、環境水の標準的な方法である 100 倍濃縮法で行った場合<sup>4)</sup>、培地 1 枚当たりの検出菌数は 9 CFU となる。レジオネラ検査の場合、試料水の濃縮、夾雑菌抑制の前処理、選択培地への接種の工程から、菌数が減少することを考慮すると、検出限界 (1CFU/plate) 付近の菌数設定であったため、参加者の半数程度が不検出となったと考えられる。

今回、G136-A が不検出であった複数の施設 (民間検査機関を含む) から、結果の見方や検査方法の見直し方について問合せがあった。上述の通り、G136-A は菌数設定が検出限界付近の難しいサンプルであったことから、G136-B の結果と合わせて、検査手法の課題を抽出して各施設で改善していくように助言した。

G136-A が不検出であった 27 名の G136-B の Z スコアは、22 名が良好範囲内であった。G136-A、G136-B いずれも Z スコア良好範囲外 (又は不検出) であったのは 6 名

で、これら参加者は十分な検査手順の見直しや改善が必須である。

WHO の外部精度管理の概説には、外部精度管理は懲罰的であってはならないこと、教育的なものにとらえ、検査室の改善努力を方向づけるためのツールとして使用すべきとの記載がある<sup>5)</sup>。外部精度管理の結果を活用して、検査技術向上に繋げることが重要である。

良好範囲外であった参加者のデータを確認したところ、入力ミスや計算の単位間違いと思われるものがあつた。そのため、参加者への注意点として、正しい計算と入力時の確認を十分に行うように、代理店を通じて周知することとした。

## 2. FAPAS

LG0124 の全参加者数は、71 名であった。配布試料 2 サンプルのうち、LG0124-A はブランク試料で、70 名が不検出と回答している。

LG0124-B の報告結果と Z スコアの分布を表 1 および図 4 に示す。全参加者 71 名のうち、レジオネラを検出したのは 69 名、Z スコアが算出された 67 名のうち、良好範囲内であったのは 62 名 (93%) であった。FAPAS の報告書に示された Intended results は Z スコア 0 の値であり、 $1.4 \times 10^5$  ( $5.15 \text{ Log}_{10}$ ) CFU/L であった。

地衛研から FAPAS の LG0124 に参加した 55 名のうち、LG0124-A は全 55 名が不検出と回答した。LG0124-B の結果を報告したのは 54 名、このうち Z スコアが算出されたのは 53 名で、絶対値 2 以内の良好範囲内が 52 名 (98.1%)、良好範囲外は 1 名 (1.9%) であった。Z スコアが算出されな

かった1名は、定量上限より多いと回答した。

FAPASの検査手順は次の通りである。配付試料にレジオネラ以外の細菌は含まれないため、前処理(酸または熱処理)は行わず、培地は選択培地の代わりに非選択培地を用いる。その他は各機関のSOP通りに行う。今回、地衛研参加者は、今回、地衛研参加者は、FAPAS指定の方法に加えて、標準的な環境水の検査法(前処理あり、選択培地)を用いた方法を並行して行った。各方法における検出菌数について表2に示す。FAPAS指定の方法(前処理なし、非選択培地)と比べて、標準的な方法(前処理あり、選択培地)での菌数の平均値は、酸処理、熱処理、いずれも一桁程度減少した。

### 3. UKHSA と FAPAS について

英国2種の外部精度管理は、いずれも25年以上の歴史があり、英国だけではなく全世界を対象としている。

この2種の相違点は、UKHSAの配付試料にレジオネラ以外の細菌も含まれているのに対し、FAPASにレジオネラ以外の夾雑菌が含まれない点である。そのため、FAPASでは前処理(酸または熱処理)を行わず、培地は非選択培地を用いて検査を行うが、操作自体は、各施設のSOPに沿って行う。そのため、UKHSAはより実際的な試験結果としての回収率を各自で算出することが可能である。

実際の環境水試料には夾雑菌が多く含まれていることから、配付試料にレジオネラ以外の細菌が含まれているUKHSAの方が環境水試料に似た非常に実践的な内容であると言える。しかしながら、UKHSA、FAPAS

いずれもISO 17043の認定を受けた外部精度管理提供者であり、信頼性が保証された世界標準に沿った内容になっている。それぞれの内容をよく確認し、各参加者の希望で選択されたい。これら外部精度管理の概要について後述(表4)で示した。

なお、これら2種いずれもIntended resultsが示されるが、UKHSAは配付試料に添加した菌数であるのに対し、FAPASはZスコア0の値であり、FAPASは配布試料の添加菌数を公開していない。

### 2) 地衛研へのアンケート

地衛研のレジオネラ外部精度管理に関する現状を把握するため、外部精度管理に参加した地衛研にアンケート調査を行った。設問①次年度以降も、リファレンスセンターが募集する外部精度管理に参加を希望されますか？

設問②リファレンスセンターから外部精度管理の募集がない場合、所属で参加費を負担して、いずれかの外部精度管理に参加されますか？

アンケート集計結果を表3に示す。アンケート回答数は、2024年は55機関、2023年は54機関であった。設問①に対し、2024年、2023年共に参加希望は50機関を超えており、参加しないは0機関であった。設問②に対し、参加すると回答したのは10機関程度、参加したいが予算がないと回答したのは、2024年は32機関(58.2%)、2023年は27機関(50.0%)であった。半数以上の地衛研で外部精度管理に参加したい意向はあるものの、予算化が難しいことが明らかになった。

### 3) 外部精度管理の情報収集

日本国内から参加可能なレジオネラ検査外部精度管理について、表4に示す。

昨年からの大きな変更点は、UKHSAの国内代理店として、アイデックスラボラトリーズを通じた参加が可能となった。日本語での申込が可能となったことから事務的負担が大きく軽減された。操作手順についても日本語のサポートがある。

島津ダイアグノスティクスのサーベイは検査法が指定されており、各施設のSOPに沿った方法で参加ができないことから(参考)と記載した。本サーベイは、工程の一部、濃縮と培地接種操作などの手技の精度確認に主眼を置いた内部精度管理に近い内容となっていることに留意する。

ISO 17043の認定の有無について追記した。

### 4) UKHSAの参加者数の推移

UKHSAより提供された直近6年間の参加者数のデータを表5に示す。示された数値は、その年度に参加した検査機関の数(複数回参加した場合は1と計算)である。UKHSAは年に4回実施されており(2020/2021はCOVID-19の影響により3回実施)、2019年以降の5年間は、1年間に全世界で243-283機関、日本からは12-14機関の参加があった。国内代理店の申し込みが始まった2024年の日本からの参加機関は117であった。そのうち2024年以前からUKHSAに参加している日本の検査機関は十数、2024年に本研究班の支援で参加した地衛研は55であるため、残り約50機関が本研究班の支援とは関係なく新規でUKHSAに参加した計算になる。新規の約

50機関の内訳は、民間検査機関、都道府県や市の保健所や検査センターなどの行政機関であった(アイデックスラボラトリーズ提供情報)。本研究班では、外部精度管理の周知を行うと共に、参加することの重要性を示してきたところで、その波及効果が感じられた。今後も外部精度管理への参加者が増加し、レジオネラ検査技術の向上に繋がるように、引き続き本課題の継続に努める予定である。

### 4) 外部精度管理に関する国外での現状

#### 1. 検査精度に関連する欧米の現状

ESGLI (ESCMID Study Group for *Legionella* Infections)が策定したガイドライン<sup>6)</sup>には、水試料のレジオネラの検査は、認定範囲にレジオネラの培養検査を含み、外部精度管理で評価を受けているISO 17025の認定検査機関に依頼するべきであると記述がある。また、CDCの*Legionella* Control Toolkit<sup>7)</sup>にはレジオネラ検査を検査機関に依頼する際に考慮すべきこととして、ISO 17025のような認定を受けていることを挙げている。このように欧米では検査機関がISO 17025のような認定をレジオネラの培養検査で受けていることが重視されている。

#### 2. ISO 17025の認定

ISO 17025とは、試験所や校正機関が正確な測定/校正結果を生み出す能力があるかどうかを、第三者認定機関が認定する規格で、試験所認定と呼ばれている。ISO 17025の認定を取得するためには、ISO 17025の要求事項に沿ったマネジメントシステムの構築と技術的要求事項への対応が

必要となる。技術的要求事項としては、検査工程の不確かさの算出や手法等の妥当性の確認等が求められ、内部精度管理の実施や外部精度管理への参加も必須となる。参加する外部精度管理は、ISO 17043 の認定を受けていることが望ましいとされている。現在、日本国内で ISO 17025 の認定をレジオネラの培養検査で受けている検査機関は少ないが、今後広がることが期待される。

#### D. まとめ

本研究は、レジオネラ検査における外部精度管理の整備と検討を進めてきた。今現在、ISO 17043 の認定を受けている英国 2 種の外部精度管理に日本国内から問題なく参加可能となった。外部精度管理に参加することの重要性を示すとともに、引き続き、外部精度管理の課題の抽出を行い改善に努める。

#### E. 引用文献

- 1) 佐伯歩、前川純子ら、レジオネラ・レファレンスセンターの活動、IASR、45、125-126、2024
- 2) 枝川亜希子ら、外部精度管理の選択肢整備へ向けた検討と英国 UKHSA の EQA Legionella isolation scheme への参加、厚生労働科学研究費補助金（公衆浴場の衛生管理の推進のための研究）令和 5 年度分担研究報告、研究代表者：泉山信司、158-166、2023
- 3) 枝川亜希子ら、レジオネラ外部精度管理の現状、IASR、45、120-122、2024
- 4) 館田一博ら、第 5 版レジオネラ症防止指針、公益財団法人日本建築衛生管理教育センター、2024

5) WHO : Overview of External Quality Assessment (EQA), 2009

<https://www.who.int/publications/m/item/overview-of-external-quality-assessment-eqa>

6) ESGLI : European Technical Guidelines for the Prevention, Control and Investigation, of Infections Caused by *Legionella* species, 2017

7) CDC : Toolkit for Controlling *Legionella* in Common Sources of Exposure (*Legionella* Control Toolkit), 2021

#### F. 研究発表

- 1) 枝川亜希子、地方衛生研究所全国協議会 レジオネラ・レファレンスセンター会議、「レジオネラ属菌検査精度管理について」、2024 年 6 月 26 日、オンライン会議

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

#### H. 謝辞

UKHSA はアイデックスラボラトリーズ、FAPAS はセントラル科学貿易を通じて、地衛研参加者のデータ等の提供を受けた。

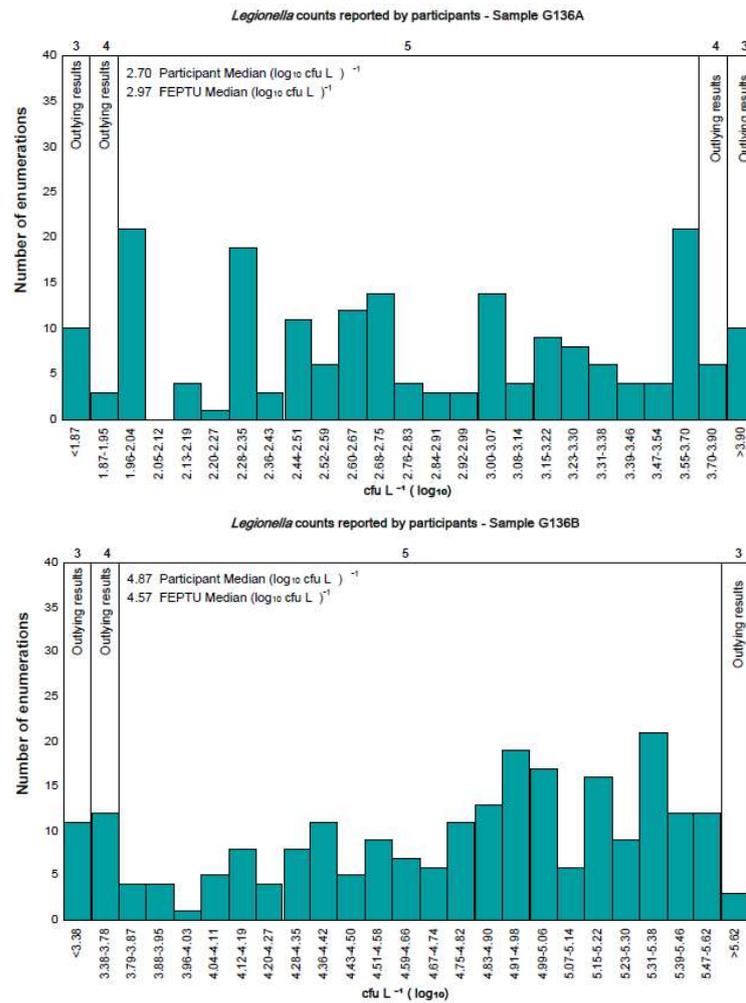


図 1. UKHSA G136 参加者から報告されたレジオネラ菌数 (G136-A、G136-B)

**UK Health Security Agency**

**Legionella Isolation Scheme  
Preliminary Intended Results Notification**

These results are provided for guidance and are determined from the examinations undertaken during quality control testing of the samples. The enumeration results may show minor variations from the final results, which are calculated from the participants' consensus results, and included in the distribution report.

Distribution: **G136**      Samples: **G136A and G136B**

**Intended results:**

	<b>G136A</b>	<b>G136B</b>
*cfu L <sup>-1</sup>	9.3x10 <sup>2</sup>	3.8x10 <sup>4</sup>
Species	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Serogroup	1	6

\* colony forming units per litre

**Sample contents:**

G136A	<i>L. pneumophila</i> and <i>Microbacterium</i> sp.
G136B	<i>L. pneumophila</i> , <i>Citrobacter braakii</i> and <i>Pseudomonas fluorescens</i>

図 2. UKHSA G136 の Intended results

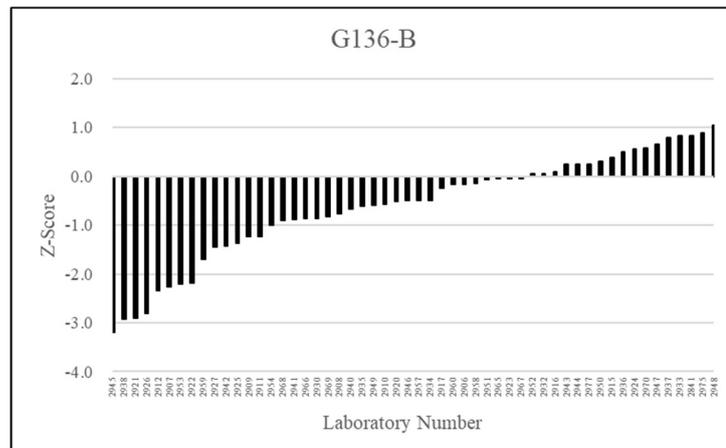
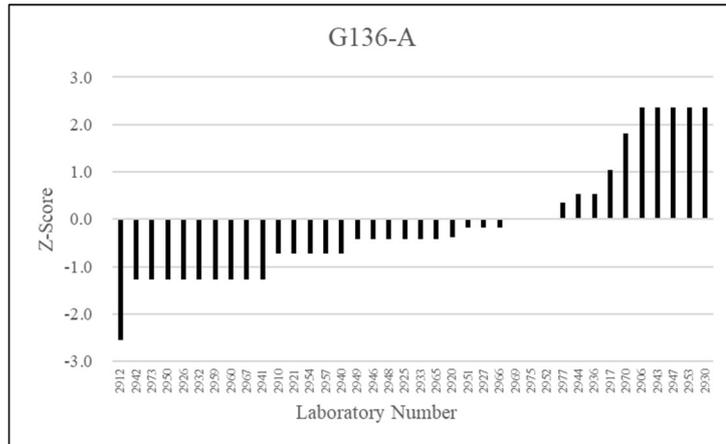


図 3. UKHSA G136-A 地衛研参加者の Z スコア (G136-A、G136-B)

表 1. FAPAS LG0124-B の結果 \*  
(Fapas -Water and Environmental Proficiency Test Report より)

Test Material B				
test	intended results / assigned value, x <sub>a</sub>	number of satisfactory results	total number of results	% satisfactory
<i>Legionella</i> spp.	detected	69	71	97
<i>Legionella</i> spp. (Identification, species)	<i>L. pneumophila</i>	64	64	100
<i>Legionella</i> spp. (Identification, serogroup)	serogroup 1	65	65	100
<i>Legionella</i> spp. (Quantitative)	5.15 log <sub>10</sub> cfu/l	62	67	93

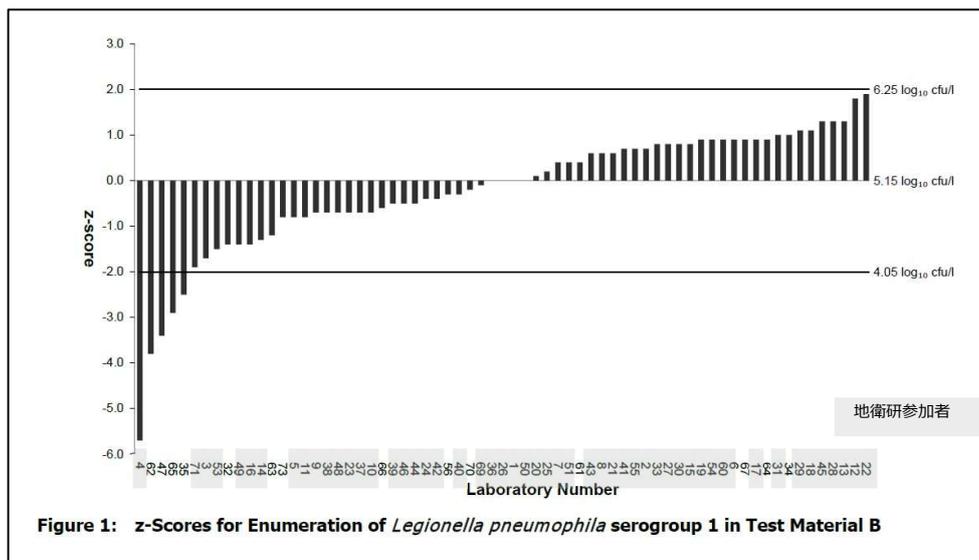


図 4. FAPAS LG0124-B 全参加者の Z スコアと分布  
(Fapas-Water and Environmental Proficiency Test Report より)

表 2. FAPAS の方法「前処理なし、非選択培地」と環境水の標準的検査法「前処理あり、  
選択培地」のレジオネラ検出結果 G0124-B

	FAPAS指定の方法 前処理なし 非選択培地	前処理あり（酸処理） 選択培地	前処理あり（熱処理） 選択培地
報告数	53	47	37
最大値 (CFU/L)	$1.5 \times 10^6$	$2.4 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$
最小値 (CFU/L)	100	< 100	< 100
平均値 (CFU/L)	$2.8 \times 10^5$	$3.5 \times 10^4$	$3.5 \times 10^4$

表 3. 地衛研アンケート（回答数：2024 年 55 機関、2023 年 54 機関）

設問①	年度	希望する	希望しない	わからない
次年度以降も、リファレンスセンターが募集する外部精度管理に参加を希望されますか？	2024	52	0	3
	2023	50	0	4

設問②	年度	参加する	参加しない	参加したいが 予算がない	わからない
リファレンスセンターから外部精度管理の募集がない場合、所属で参加費を負担して、いずれかの外部精度管理に参加されますか？	2024	9	2	32	12
	2023	11	0	27	16

表4. 日本国内から参加可能なレジオネラ検査外部精度管理\*

名称	EQA	FAPAS	(参考) レジオネラ属菌検査精度管理 サーベイ
実施者	UKHSA (UK Health Security Agency) 英国健康安全保障庁	Fera (The Food and Environment Research Agency) 独立行政法人英国食料環境研究 庁(英国環境食料農村地域省傘下)	島津ダイアグノスティクス
国	英国	英国	日本
日本からの参加実績	あり	あり	あり
参加費 (1回あたり)	60,500円(消費税込) (年4回参加の場合は、1回あ たり55,000円(消費税込み))	56,000円(消費税込)	45,100円(消費税込)
年間実施回数	4	4	1
参加者数	100~250程度(1回あたり)	20程度(1回あたり)	100程度
国内代理店の有無	あり (2024年度からアイデックスラ ボラトリーズ)	あり (セントラル科学貿易)	—
日本語サポート	あり	あり	—
配付試料の輸送	常温	常温	冷凍
検査実施までの保管	冷凍	冷蔵	冷凍
1回あたりの 配付試料数	2	2	1
配布試料中のレジオネ ラ以外の細菌の混合	あり	なし	なし
いずれかの配布試料中 にレジオネラが含まれ ない可能性	あり	あり	なし
配布試料中に含まれる レジオネラの菌種	複数種	複数種	<i>Legionella pneumophila</i> のみ
配布試料中に含まれる レジオネラの菌種数	1~2種	1~2種	1種
配布試料の形状	Lenticule Disc ゼラチン状のディスク	Lyophilized sample フリーズドライ様	BioBall フリーズドライ
検査方法	各施設の方法	各施設の方法 非選択培地を用いる (選択培地で参加も可)	指定法
検査結果の報告	菌数 菌種(血清群)	菌数 菌種(血清群)	菌数
解析方法	Zスコア	Zスコア	回収率、Zスコア
ISO 17043の認定	あり	あり	なし

\*) 昨年度<sup>2)</sup>からの変更点を確認し、情報をアップデートした。

表 5. UKHSA の参加機関数推移 (UKHSA より提供)

年	参加機関数	参加機関数 (日本国内)
2019/2020	283	12
2020/2021*	248	13
2021/2022	253	12
2022/2023	255	13
2023/2024	243	14
2024/2025	346	117

\*COVID-19 の流行のため年 3 回実施、他は年 4 回実施

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）

令和6年度研究報告書

「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

レジオネラ属菌の新規検査法の検討

研究分担者	淀谷 雄亮	川崎市健康安全研究所
研究協力者	工藤 剛	宮城県保健環境センター
研究協力者	中川 佳子	埼玉県衛生研究所
研究協力者	近 真理奈	埼玉県衛生研究所
研究協力者	武藤 千恵子	東京都健康安全研究センター
研究協力者	梅津 萌子	東京都健康安全研究センター
研究協力者	高久 靖弘	東京都健康安全研究センター
研究協力者	長埜 朗夫	千葉市環境保健研究所
研究協力者	本宮 恵子	千葉市環境保健研究所
研究協力者	小野田 早恵	静岡市環境保健研究所
研究協力者	鈴木 史恵	静岡市環境保健研究所
研究協力者	高橋 美穂	静岡市環境保健研究所
研究協力者	西里 恵美莉	川崎市健康安全研究所
研究協力者	湯澤 栄子	川崎市健康安全研究所

研究要旨

本研究ではレジオラート/QT法の有用性を確認するため、多施設における外部精度評価を実施し、平板培養法と同等の結果を得た。また、冷却塔水検体及び拭き取り検体に対しレジオラート/QT法を実施し、浴槽水だけでなくこれら検体におけるレジオラート/QT法の有用性を確認した。酸処理5分に加えて、熱処理50℃20分による前処理を実施した場合の検出率を比較検討したところ、本検討においては酸処理による結果が平板培養法との一致率が最も高かったが、感度は未処理が最も高かった。レジオネラ属菌をより高感度に検出したい場合には、レジオラート/QT法を平板培養法と併用する、または未処理と酸処理を並行して実施することでレジオネラ属菌をより高感度に検出でき、さらに、複数の血清群を分離するのに有用である可能性が示された。

A. 研究目的

レジオネラ属菌の検査においては平板培養法が広く用いられているが、検体の濃縮、分離培地の選択、加えてコロニーの鑑別な

どに熟練を要する等、検査手技の安定性が課題となっている。近年、欧米等の諸外国で水質管理に使用されているレジオラート/QT法は、専用の粉末培地であるレジオラ

ートを溶かした検体を専用トレイ Quanti-Tray/legiolert で培養することにより *Legionella pneumophila* を選択的に検出・定量できる検査法であり、濃縮手順がなく、確定試験が不要である等、操作が非常に簡易なキットである。本研究班では平成 31 年度からレジオラート/QT 法の感度・特異度及び定量性を確認するため、従来法である平板培養法と比較検討してきた。

今回、複数機関において外部精度評価を実施し、レジオラート/QT 法の有用性を確認した。また、拭き取り検体や冷却塔水検体にレジオラート/QT 法を適用できるか検討した。加えて、夾雑菌による影響を防ぐ目的で、前処理として酸処理及び熱処理を加えたプロトコールにおける有効性を確認するため、実検体を使用して比較検討した。

## B. 研究方法

### B-1. 外部精度評価

検査機関 5 施設において、UK Health Security Agency (UKHSA)の実施するレジオネラ精度管理プログラムに同一のロットで参加し、sample A 及び sample B の 2 検体についてレジオラート/QT 法及び平板培養法にて各検査機関間の検出菌量を比較した。レジオラート/QT 法は添付された説明書の飲料水用 10 mL プロトコールに従い n=2 で実施し、検体 10 mL あたり 10-22726 MPN/100mL までの結果が得られる専用の最確数表を用いて most probable number (MPN)値を求め、定量した。平板培養法は「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法 (薬生衛発 0919 第 1 号)」に準じた各施設の方法で行った。

### B-2. 冷却塔水及び拭き取り検体の検討

各検査機関に搬入された冷却塔水計 62 検体、拭き取り検体計 36 検体を対象とした。レジオラート/QT 法 (未処理) は添付された説明書の飲料水用 10 mL プロトコールに従い実施し、専用の最確数表を用いて most probable number (MPN)値を求め、定量した。

上記プロトコールに追加する酸処理の工程として、検体 10 mL に対し、あらかじめ滅菌水 10 mL で溶解した×20 前処理剤 (IDEXX Pre-treatment reagent) を 0.5 mL 加え前処理を 5 分実施した後、15 % KOH を 0.3 mL 加え、中和処理した。レジオラートの粉末を 90 mL の滅菌水で溶解し、検体全量を加えよく攪拌した後、Quanti-Tray/legiolert に封入し 37°C で 7 日間培養した。

同時に平板培養法にてレジオネラ属菌の分離を実施した。平板培養法は「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法 (薬生衛発 0919 第 1 号)」に準じた各検査施設の方法で実施し、ろ過濃縮法にてレジオネラ属菌の分離を行い、システイン要求性又は免疫血清により検出菌の同定及び検出菌量を算出し、10 CFU/100mL 以上を陽性とした。また、一部検体について LAMP 法又はリアルタイム PCR 法により遺伝子検査を行い、検体中のレジオネラ属菌の遺伝子の有無を確認した。

### B-3. 前処理の検討

各検査機関に搬入された公衆浴場等の温泉水、浴槽水、プール水等計 63 検体を対象とした。検体の残留塩素濃度は採水時に DPD 法にて測定した。レジオラート/QT 法 (未処理) 及び酸処理の工程は上記と同様

の方法で実施した。また、熱処理の工程として、検体 10 mL を 50 °C で 20 分熱処理を実施した後、レジオラートの粉末を 90 mL の滅菌水で溶解し、検体全量を加えよく攪拌した後、Quanti-Tray/legiolert に封入し 37°C で 7 日間培養した。

同時に平板培養法を上記と同様の方法でレジオネラ属菌の分離を実施し、10 CFU/100mL 以上を陽性とした。また、一部検体について LAMP 法又はリアルタイム PCR 法により遺伝子検査を行い、検体中のレジオネラ属菌の遺伝子の有無を確認した。

#### B-4. 濃縮検体の検討

レジオネラ属菌の検出率向上のため、浴槽水等 16 検体をろ過濃縮し、得られた 100 倍濃縮液 1 mL を用いてレジオラート/QT 法を実施し、平板培養法及び 10 mL の検体を用いるレジオラート/QT 法と検出率及び検出菌量を比較した。また、14 検体についてはレジオラート/QT 法（熱処理）を濃縮液 1 mL と検体 10 mL を用いる両法について実施した。LAMP 法又はリアルタイム PCR 法により遺伝子検査を行い、検体中のレジオネラ属菌の遺伝子の有無を確認した。

#### B-5. レジオラート培養液からのレジオネラ属菌の分離と菌種の同定

前述の B-2 から B-4 の各種レジオラート/QT 法で陽性となったウェルの培養液を GVPC $\alpha$ 寒天培地等の培地に塗布し、36°C で培養し、レジオネラ属菌の分離を試みた。優位に発育した菌種の同定を 16S rDNA 又は MALDI TOF/MS にて実施した。また、分離菌株を滅菌水 100 mL に 1 ループ程度加え、

レジオラートを溶かし、39°C で 7 日間培養し、培地の変色を確認した。

### C. 結果

#### C-1. 外部精度評価

A から E の 5 施設において、sample A 及び sample B の 2 検体を用いてレジオラート/QT 法及び平板培養法で実施したところ、5 施設すべてで両法ともにレジオネラ属菌が検出された(図 1-1 及び図 1-2)。Sample A は UKHSA が示した菌量は 93 CFU/100mL であり、レジオラート/QT 法で検出された菌量は平均 20.9 MPN/100mL、中央値 22 MPN/100mL であり、C 及び E の 2 施設でそれぞれ 1 試料について不検出となった。平板培養法で検出された菌量は平均 126 CFU/100mL、中央値 50 CFU/100mL であり、1 施設で 500 CFU/100mL と他 4 施設と比較し高い値であった。Sample B は UKHSA が示した菌量は 3800 CFU/100mL であり、レジオラート/QT 法で検出された菌量はすべてのウェルが変色し、>22726 MPN/100 mL と判定された 3 試料を除くと平均 18700 MPN/100mL、中央値 17178 MPN/100mL であった。2 施設でそれぞれ 1 試料、2 試料についてすべてのウェルが陽性となった。平板培養法で検出された菌量は平均 8570 CFU/100mL、中央値 10000 CFU/100mL であった。

#### C-2. 冷却塔水及び拭き取り検体の検討

冷却塔水計 62 検体について各法で比較検討した。まず、レジオラート/QT 法（未処理）と平板培養法を比較したところ、ともに陽性であったものが 18 検体、ともに陰性であったものが 24 検体であった(表 1-1)。平

平板培養法と比較したレジオラート/QT法の感度は94.7%、特異度は55.8%であり、結果一致率は67.7%であった。レジオラート/QT法陰性、平板培養法陽性であった1検体は平板培養法の検出菌量が10 CFU/100 mLと検出限界値に近い菌量であった。一方、レジオラート/QT法(未処理)陽性、平板培養法不検出であった19検体のうち、遺伝子検査法を実施した10検体中7検体で遺伝子検査法陽性であった。

次に、レジオラート/QT法(酸処理)と平板培養法を比較したところ、ともに陽性であったものが12検体、ともに陰性であったものが39検体であった(表1-2)。平板培養法と比較したレジオラート/QT法の感度は63.2%、特異度は90.7%であり、結果一致率は82.3%であった。レジオラート/QT法(酸処理)が陽性であった16検体はすべてレジオラート/QT法(未処理)が陽性であった。

拭き取り検体36検体について各法で比較検討した。まず、レジオラート/QT法(未処理)と平板培養法を比較したところ、ともに陽性であったものが5検体、ともに陰性であったものが28検体であった(表2-1)。平板培養法と比較したレジオラート/QT法の感度は100%、特異度は90.3%であり、結果一致率は91.7%であった。レジオラート/QT法陽性、平板培養法陰性であった3検体は遺伝子検査では1検体が陽性、2検体は陰性であった。

次に、レジオラート/QT法(酸処理)と平板培養法を比較したところ、ともに陽性であったものが5検体、ともに陰性であったものが29検体であった(表2-2)。平板培養法と比較したレジオラート/QT法の感度は

100%、特異度は93.5%であり、結果一致率は94.4%であった。レジオラート/QT法(酸処理)が陽性であった7検体はすべてレジオラート/QT法(未処理)が陽性であった。

### C-3. 前処理の検討

浴槽水等計63検体について、レジオラート/QT法(未処理)と平板培養法を比較したところ、ともに陽性であったものが8検体、ともに陰性であったものが43検体であった(表3-1)。平板培養法と比較したレジオラート/QT法(未処理)の感度は57.1%、特異度は87.6%であり、結果一致率は81.0%であった。レジオラート/QT法(未処理)陰性、平板培養法陽性であった6検体中2検体は平板培養法の検出菌種が*L. pneumophila*ではないレジオネラ属菌であり、4検体の検出菌量はそれぞれ10, 10, 10, 20 CFU/100 mLと検出限界値に近い菌量であった。上記のほか、平板培養法で検出菌量がそれぞれ、10, 10, 20 CFU/100 mLであった3検体はレジオラート/QT法においてもレジオネラ属菌が検出され、検出菌量はそれぞれ10, 11, 35 MPN/100 mLであった。また、レジオラート/QT法(未処理)陽性、平板培養法不検出であった6検体のうち、1検体でレジオラート培養液から*L. pneumophila*が検出され、この1検体を含む3検体が遺伝子検査法陽性であった。

次に、レジオラート/QT法(酸処理)と平板培養法を実施した55検体の結果を比較したところ、ともに陽性であったものが5検体、ともに陰性であったものが43検体であった(表3-2)。平板培養法と比較したレジオラート/QT法(酸処理)の感度は41.7%、特異度は100%であり、結果一致率は87.3%

であった。レジオラート/QT法（酸処理）が陽性であった5検体はすべてレジオラート/QT法（未処理）が陽性であった。

続いて、レジオラート/QT法（熱処理）と平板培養法を実施した43検体の結果を比較したところ、ともに陽性であったものが4検体、ともに陰性であったものが25検体であった（表3-3）。平板培養法と比較したレジオラート/QT法（熱処理）の感度は40.0%、特異度は75.8%であり、結果一致率は67.4%であった。レジオラート/QT法（熱処理）が陽性であった12検体中10検体はレジオラート/QT法（未処理）が陽性であった。

#### C-4. 濃縮検体の検討

浴槽水等16検体について濃縮検体を用いてレジオラート/QT法（未処理）を実施したところ、6検体が陽性となった。陽性となった6検体中5検体でレジオラート/QT法（10 mL/未処理）も陽性であった（表4）。また、平板培養法では16検体中4検体が陽性であり、うち、3検体が濃縮検体を用いたレジオラート/QT法（未処理）で陽性であった。濃縮検体を用いたレジオラート/QT法（未処理）、レジオラート/QT法（10 mL/未処理）、平板培養法の結果を比較すると、平板培養法のみ陽性であった1検体の検出菌量は10 CFU/100 mLであった。1検体は濃縮検体のみで陽性となったが、レジオラート培養液からはレジオネラ属菌は分離できず、*Proteus mirabilis* が分離された。

レジオラート/QT法（熱処理）では濃縮検体及び10 mLともに同一の7検体が陽性となった（表4）。このうち1検体は平板培養法では不検出であったが、濃縮検体のレジ

オラート培養液から *L. pneumophila* SG3 が分離された。

レジオラート/QT法（未処理）及びレジオラート/QT法（熱処理）で陽性となった検体において、No.2の熱処理の1事例を除いた12事例で濃縮によりレジオラート/QT法の検出菌数の増加が確認された。このうち、No.12のレジオラート/QT法（未処理）の1事例は10 mLでは不検出であったが、濃縮により110 MPN/100 mLの検出が確認された。

#### C-5. レジオラート培養液からのレジオネラ属菌の分離と菌種の同定

レジオネラ属菌の分離を試みた浴槽水検体22検体中14検体で *L. pneumophila* が検出され、このうち11件は平板培養法と同一の血清群が分離された。3検体は平板培養法ではレジオネラ属菌が検出されず、レジオラート培養液のみから *L. pneumophila* が検出された。また、陽性ウェルから分離された血清群が前処理によって異なる事例が3事例あった。それぞれレジオラート/QT法（未処理）の培養液から *L. pneumophila* SG5, SG5, SG1 及び SG5 が検出されたのに対し、レジオラート/QT法（酸処理）の培養液からは SG6, SG6 が検出され、1検体はレジオラート陰性であり、レジオラート/QT法（熱処理）の培養液からは SG6, SG6, SG3 が検出された。さらに、浴槽水1事例ではレジオラート/QT法（未処理）の培養液からは *L. pneumophila* が検出されず、レジオラート/QT法（酸処理）の培養液から *L. pneumophila* SG5, 6 が検出された。

レジオネラ属菌の分離を試みた冷却塔水

検体 11 検体中 3 検体で *L. pneumophila* が検出され、このうち 2 件は、未処理及び酸処理陽性ウェル両方から平板培養法と同一の血清群が分離された。1 検体は平板培養法ではレジオネラ属菌が検出されず、レジオラート培養液のみから *L. pneumophila* が検出された。

また、レジオネラ属菌以外の菌種が確認された検体について、単離した各分離菌を接種し、レジオラート/QT 法を実施したところ、レジオラートで培養液が変色することが確認された (表 5)。

#### D. 考察

レジオラート/QT 法について外部精度評価に参加したところ、参加した 5 機関すべてで平板培養法においても 2 sample でレジオネラ属菌が検出され良好な結果を得られた。Sample A については平板培養法で 1 施設が 500 CFU/100mL と他の 4 施設の 10-50 CFU/100mL に比べ高い値となったが、レジオラート/QT 法は 5 施設 10 試料とも 10-52 MPN/100mL であった。比較的多い菌数の含まれる sample B については 3 試料ですべてのウェルが変色し、MPN 値が算出できなかった。5 施設の比較ではあるものの、レジオラート/QT 法は平板培養法と比較しばらつきの少ない結果を得ることができた。試料の作業工程が複雑な平板培養法と比較し、処理が比較的簡単なレジオラート/QT 法は作業による検査結果への影響が少なくなり、精度の管理が容易になる可能性があると考えられた。なお、検査上の制約として、平板培養法における CFU とレジオラート/QT 法における MPN では測定単位が異なるため同一とみなし比較することは困難で

ある。

冷却塔水における検討では、レジオラート/QT 法 (未処理) は平板培養法と比較した感度は高かったものの特異度は低い結果となった。レジオラート/QT 法 (酸処理) では特異度は上昇したものの、感度の低下が見られた。冷却塔水は夾雑菌も多く、平板培養法においても夾雑菌の影響でレジオネラ属菌の分離が困難なことが多い。これらの夾雑菌によってレジオラート/QT 法が偽陽性を示した可能性は否定できない。また、冷却塔水には殺菌、スケールやスライム形成、腐食を防止する目的で水処理剤が使用されている。本検討に用いた冷却塔水 62 検体について、各種水処理剤の使用の有無が確認できた 32 検体中 30 検体で各種水処理剤を使用しており、2 検体は使用なしであった。本検討におけるレジオラート/QT 法では 10 mL の検体を使用したため、培養中にこれら水処理剤の影響を受け、*L. pneumophila* の発育を阻害された可能性がある。拭き取り検体における検討では検体数は少ないものの、レジオラート/QT 法は平板培養法と比較した感度・特異度ともに高い結果となり、平板培養法と同等の結果が得られることが明らかとなった。

レジオラート/QT 法の前処理法の検討では、未処理、酸処理、熱処理について平板培養法と感度・特異度を比較すると、本検討においては酸処理による結果が平板培養法との一致率が最も高かったが、感度は未処理が最も高かった。本検討においては、レジオラート/QT 法では原理的に検出できない、*L. pneumophila* 以外のレジオネラ属菌のみが検出された検体が 2 検体あったこと、平板培養法で 10-20 CFU/100mL の検体が陽性 14

検体中 7 検体と多かったことから、平板培養法と比較した感度が以前の報告と比較し、低下したものと考えられる。本検討の結果からはレジオラート/QT 法を実施する場合には結果一致率は酸処理が最も高かったが、感度は未処理の方が高い結果となった。また、濃縮によりレジオラート/QT 法の検出菌数の増加が確認されたことから、濃縮検体を用いることでさらなる感度向上及びレジオネラ属菌の分離に有効である可能性が示された。1 検体ではあるものの、平板培養法から分離されなかった血清群の *L. pneumophila* を濃縮検体のレジオラート培養液から分離できた事例が確認された。本検討では実施検体数が 16 検体と少ないものの、これらはレジオラート/QT 法が液体培養であることや培地組成が平板培養法とは異なることに起因する可能性が考えられた。レジオラート培養液からのレジオネラ属菌の分離を実施すると、陽性ウェルから分離された *L. pneumophila* の血清群がレジオラート/QT 法の処理によって異なる事例が 3 事例あった。また、未処理では陽性ウェルから *L. pneumophila* が分離されず、酸処理からのみ分離された事例も確認され、複数の処理を行うことで検体中に含まれる複数の血清群の *L. pneumophila* を分離できる可能性が示された。本検討によりレジオラート培養液から分離されたレジオネラ属菌以外の菌種の一部がレジオラートと反応し、培地を変色させることが明らかとなった。レジオラート培養液から分離された複数菌種でレジオラートを変色することが確認され、これら菌種が含まれる検体ではレジオラートを変色させ、偽陽性を引き起こす可能性が示された。浴槽水等において

は、偽陽性を起こしたと思われる、これらの菌種が分離された浴槽水は残留塩素濃度が低い傾向にあり、消毒が不十分な検体については偽陽性を起こしやすいことが示唆された。本検討では 3 検体のみであるが、3 検体ともにレジオラート/QT 法 (酸処理) ではすべて陰性となったことから、残留塩素濃度が低い等、夾雑菌が多いことが予想される検体においては、前処理を活用することでより正確な結果を得ることができる可能性があると考えられる。冷却塔水においては検討数が少ないものの、未処理では夾雑菌が複数確認されたこと、酸処理によりこれら夾雑菌が抑制されることが確認されたことから、レジオラート培養液からレジオネラ属菌を分離する場合には酸処理が効率的である可能性が示された。

本検討結果より、レジオネラ属菌をより高感度に検出したい場合には、レジオラート/QT 法を平板培養法と併用する、または未処理と酸処理を並行して実施することでレジオネラ属菌をより高感度に、複数の血清群を分離するのに有用である可能性が示された。

#### E. 総括

レジオラート/QT 法は外部精度評価においても平板培養法と同等の結果を得られ、検査室間においても十分な成績を得られた。冷却塔水及び拭き取り検体においてレジオラート/QT 法で一定の精度で *L. pneumophila* を検出できた。レジオラート/QT 法の前処理法として熱処理は本検討においては酸処理と比較し感度及び特異度が低下した。

#### F. 健康危険情報

なし

G. 学会発表

淀谷雄亮, 西里恵美莉, 小嶋由香, 佐々木麻里, 蔡国喜, 井原基, 田栗利紹, 柳本恵太, 緒方喜久代, 武藤千恵子, 梅津萌子, 高久靖弘, 山口友美, 前川純子. 浴槽水等のレジオネラ属菌検査におけるレジオラート/QT 法

と平板培養法の比較検討. 日本防菌防黴学会誌. 2025 Vol 53, No.1, pp3-8

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

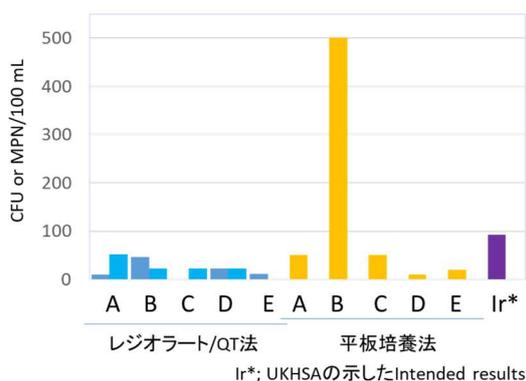


図 1-1 sample A における 5 施設の各方法における検出菌量

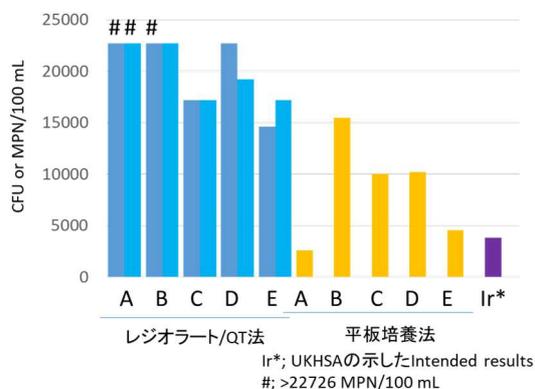


図 1-2 sample B における 5 施設の各方法における検出菌量

表 1-1 冷却塔水におけるレジオラート/QT 法（未処理）

と平板培養法のレジオネラ属菌検出検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート/QT法 (未処理)	陽性	18	19	37
	陰性	1	24	25
	計	19	43	62

表 1-2 冷却塔水におけるレジオラート/QT 法（酸処理）  
と平板培養法のレジオネラ属菌検出検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート /QT法 (酸処理)	陽性	12	4	16
	陰性	7	39	46
	計	19	43	62

表 2-1 拭き取り検体におけるレジオラート/QT 法（未処理）  
と平板培養法のレジオネラ属菌検出検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート /QT法 (未処理)	陽性	5	3	8
	陰性	0	28	28
	計	5	31	36

表 2-2 拭き取り検体におけるレジオラート/QT 法（酸処理）  
と平板培養法のレジオネラ属菌検出検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート /QT法 (酸処理)	陽性	5	2	7
	陰性	0	29	29
	計	5	31	36

表 3-1 浴槽水等におけるレジオラート/QT 法（未処理）  
と平板培養法のレジオネラ属菌検出検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート /QT法 (未処理)	陽性	8	6	14
	陰性	6	43	49
	計	14	49	63

表 3-2 浴槽水等におけるレジオラート/QT 法（酸処理）  
と平板培養法のレジオネラ属菌検出検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート /QT法 (酸処理)	陽性	5	0	5
	陰性	7	43	50
	計	12	43	55

表 3-3 浴槽水等におけるレジオラート/QT 法（熱処理）  
と平板培養法のレジオネラ属菌検出検体数

		平板培養法		
		検出	不検出	計
レジオラート /QT法 (熱処理)	陽性	4	8	12
	陰性	6	25	31
	計	10	33	43

表 4 浴槽水等 16 検体における濃縮検体によるレジオラート/QT 法と平板培養法を含めた  
各検査結果

No.	レジオラート/QT法結果(MPN/100mL)				平板培養法 結果 (CFU/100mL)	遺伝子検査 結果	残留塩素 (mg/L)
	未処理		熱処理				
	10 mL	濃縮	10 mL	濃縮			
1	0	0	0	0	<10	陰性	NT
2	264	470	1644	390	<10	陽性	NT
3	0	0	NT	NT	<10	陰性	NT
4	0	0	NT	NT	<10	陽性	NT
5	0	0	0	0	<10	陰性	NT
6	0	0	0	0	<10	陽性	NT
7	0	0	0	0	<10	陰性	NT
8	361	11980	217	4040	160	陽性	NT
9	0	0	0	0	10	陰性	1.5
10	723	227260	989	116290	1520	陽性	1.0
11	0	0	10	200	<10	陽性	0.2
12	0	110	11	110	<10	陽性	<0.05
13	1964	4670	168	590	40	陽性	0.05
14	0	0	0	0	<10	ND	0.8
15	0	0	0	0	<10	ND	0.1
16	155	9210	59	2230	<10	陽性	0.1

表 5 レジオラートを変色することが確認された菌種の由来と各検査結果

検体 No.	由来	レジオラート /QT法結果 (未処理) (MPN/100mL)	レジオラート /QT法結果 (酸処理) (MPN/100mL)	検出菌種	平板培養法結果 (CFU/100mL)	遺伝子検査	残留塩素 (mg/L)
1	浴槽水	22726	0	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	不検出	陰性	0
2	浴槽水	1964	0	<i>Asticcacaulis</i> sp.	40	陽性	0.05
				<i>Morganella morganii</i>			
				<i>Ceballeronia zhejiangensis</i>			
3	浴槽水	155	0	<i>Burkholderia multivorans</i>	不検出	陽性	0.1
				<i>Dyella</i> sp.			
4	冷却塔水	4223	0	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	不検出	陰性	NT
5	冷却塔水	8417	0	<i>Providencia rettgeri</i>	不検出	陰性	NT
6	冷却塔水	19226	0	<i>Pseudomonas mosselii</i>	不検出	陽性	NT
7	冷却塔水	11097	10	<i>Pseudomonas mosselii</i>	不検出	陽性	NT
				<i>Pseudomonas peradeniyensis</i>			
8	冷却塔水	659	0	<i>Providencia manganoxydans</i>	不検出	陽性	NT
9	冷却塔水	659	11	<i>Serratia marcescens</i>	不検出	陽性	NT
10	冷却塔水	223	0	<i>Stenotrophomonas pavanii</i>	1200	陽性	NT
11	冷却塔水	> 22726	0	<i>Elizabethkingia anophelis</i>	不検出	陰性	NT
12	冷却塔水	10	0	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	不検出	陽性	NT

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）

公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

研究代表者 泉山信司 国立感染症研究所 寄生動物部

### 分担研究報告書

#### *Legionella pneumophila* ST23 臨床分離株の分子疫学解析

研究分担者 前川純子 国立感染症研究所 細菌第一部  
研究協力者 佐伯 歩 国立感染症研究所 細菌第一部

#### 研究要旨：

レジオネラ国内臨床分離株の全ゲノムデータの蓄積と解析手法の確立を目的として、国内外で臨床から高頻度に分離される Sequence Type (ST) の一つである、*Legionella pneumophila* ST23 の78株の全ゲノム解析を行なった。

解析は、ゲノムシーケンサーでショートリードを読み取り、クラスタリングパイプラインである *Legionella* Clustering (LegioCluster) pipeline を用いた。検出された各分離株の一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism ; SNP) ならびに mutation events (ME ; SNP+insertion+deletion イベント) を検証した。

*L. pneumophila* ST23 の78株の2株間SNPは0~15,443、MEは0~15,690の範囲であった。2つの集団感染事例におけるそれぞれの分離株の2株間SNPは0~4、MEは0~14と分子疫学的に近縁であることが示された。3つ目の集団感染事例の分離株間では、2株間SNPは2~40、MEは5~55と数値が幅広く、環境分離株の1つが遠く離れていたことから、汚染の場所による違いを識別できたと考えられた。また、同一都道府県内での散発事例においても、2株間SNP (0~4) ならびにME (0~14) の小さい菌株が存在した。その他の互いに関連のない散発事例の分離株間ではそれらの数値が大きかった (SNP, 5~15443; ME, 7~15690)。

以上のことから、全ゲノム解析により、従来の Sequence-based typing (SBT) 法による型別では区別できない ST23 型を高解像に識別できた。

#### A. 研究目的

レジオネラ症の主要な起因菌である *L. pneumophila* は、土壌、浴槽水など環境中に広く生息している。レジオネラ症患者の感染源を特定するには、患者から菌株を分離し、感染源が疑われる入浴施設などからの環境分離株をスクリーニングし、血清群が一致した菌株について、遺伝子解析を行い、その同一性を確認する。

Sequence-based typing (SBT) 法による遺伝子型別において、高頻度に分離される遺伝子型(ST) では、感染源特定の判断が困難となるため、他

の分子疫学解析手法と合わせて調査する必要がある。Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) は、このような ST の菌株の識別に用いられてきたが、近年、次世代シーケンサーが普及し、全ゲノム解析は、より高い解像度を持つ識別性の高い手法であることが示されている<sup>1,2)</sup>。

ST23 は、国内外で臨床から高頻度に分離される ST の一つである<sup>3,4)</sup>。散発事例や集団感染事例を引き起こし、国内では2000年、2002年、2015年に発生した公衆浴場集団感染事例の起因菌でもあった。さらに、冷却塔水を感染源とした事例も存在するが、散発事例での感染源は

不明なことが多い<sup>3,5)</sup>。

本研究では、*L. pneumophila*国内臨床分離株の全ゲノムデータの蓄積と解析手法の確立を目的として、ST23の菌株の全ゲノム解析を行い、菌株間の相関を検証した。

## B. 研究方法

### 1. 菌株

2000年から2023年までに日本国内で分離された*L. pneumophila* ST23の78株（臨床分離株61株ならびに環境分離株17株）を用いた。これらには、3事例の公衆浴場集団感染事例の分離株（9株（2000年）、9株（2002年）、4株（2015年））が含まれる。

### 2. ゲノム解析

#### (1) リードデータ取得

菌株のDNAは、MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit（Thermo Fisher Scientific）ならびにKingFisher Duo Prime（Thermo Fisher Scientific）を用いて抽出した。QIAseq FX DNA Library kit（QIAGEN）を用いてDNAライブラリを調製後、MiSeq（Illumina）あるいはNovaSeq（Illumina）を用いてリードデータを取得した。

#### (2) LegioCluster pipeline

系統解析には、クラスタリングパイプラインである*Legionella* Clustering (LegioCluster) pipeline<sup>6)</sup>を用いた。LegioCluster software (version 1.0.0)はGitHub (<https://github.com/WHaasNY/LegioCluster>)より入手した。

本パイプラインでは、各分離株のリファレンスは、多数の候補ゲノムから自動的に選択される。識別力を高めるために、SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 検出に加えて、短い挿入/欠失であるindelイベントが考慮されたME (mutation events; SNP+insertion+deletion イベント) が検出される。1~100塩基の挿入または欠失が単一のindelイベントとして定義される。

本パイプラインを用いて以下のことを半自動的に行なった。すなわち Trimmomatic version 0.38<sup>7)</sup>を用いて、各菌株のリードから、アダプ

ターと低品質の配列を除去した。Mash version 1.1<sup>8)</sup>を用いて代表的な生物種のゲノムと比較し、誤った生物種の割り当てや全体のコンタミネーションを検出した。SPAdes version 3.12.0<sup>9)</sup>を用いて de novo アセンブリを行い、リードからコンティグを作成した。

Minikraken version 1.1<sup>10)</sup>を用いてコンティグ内のコンタミネーションを検出した。Mashを再び用いて、コンティグと複数の*L. pneumophila*株を比較し、最適ナリファレンスゲノムを選択した。BWA version 0.7.17ならびにSAMtools version 1.9を用いて、リードをMashスコアが最も高いリファレンスゲノムにマッピングした<sup>11-13)</sup>。FreeBayes version 1.0.2<sup>14)</sup>、vcflib version 1.0.0\_rc1<sup>15)</sup>、BCFtools mpileup version 1.9<sup>16,17)</sup>を用いて、マッピング結果からSNPならびにindelイベントをコールし、これらを合わせてME (SNP+indel イベント) とした。すべての分離株のSNPとMEをペアワイズ比較した表 (SNPマトリックスならびにMEマトリックス) から、Primのアルゴリズム<sup>18)</sup>に従い、Minimum Spanning Tree (MST)図を作成した。

各分離株の2株間SNPならびにMEを詳細に検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は、国立感染症研究所の病原体取扱管理規定にしたがった。開示すべき企業からの経済的利益は受けていない。

## C. 研究結果

本解析に使用したリードの品質や量 (カバレッジ) に、特段の問題はなかった。

リファレンスには、*L. pneumophila* strain ST23のゲノム配列 (GenBank accession. No. LT632615) がパイプラインにより選択された。

*L. pneumophila* ST23の78株の2株間SNPは0~15,443、MEは0~15,690の範囲であった。

3事例の集団感染事例分離株のSNPに基づくMSTを図1に、MEに基づくMSTを図2に示す。互いに関連のない菌株間では、SNP: 5~

15,443、ME：7～15,690であったのに対し、2000年と2002年の各集団感染事例内（図1、2中の赤枠）では、2株間SNPが0～4、MEが0～14であった。また、2015年公衆浴場集団感染事例の菌株（図1、2中の桃色枠）では、SNP：2～40、ME：5～55であった。さらに、同一都道府県内での散発事例においても、2株間SNP（0～4）ならびにME（0～14）の小さい菌株が存在した（図1、2中の青枠）。

#### D. 考察

*L. pneumophila* のゲノムは組み換えが頻繁に起こりやすく<sup>6,19)</sup>、全ゲノム解析においては、SNPのみではなく、indelや組換え領域も解析することで、菌株識別性の改善に役立つ可能性が示されている<sup>6,20)</sup>。

本研究では、*L. pneumophila* ST23 について LegioCluster pipeline を用い、各分離株の2株間SNPならびにME（SNP+indel イベント）を検証した。2000年と2002年の各集団感染事例内では、2株間SNPが0～4、MEが0～14と、互いに関連のない菌株間に比べて小さい値を示した。従来の SBT 法では区別できなかった菌株を区別しており、全ゲノム解析は ST23 の菌株の識別に有用であった。

2015年の公衆浴場集団感染事例の分離株間においては、2株間SNPならびにMEが大きい菌株と小さい菌株が存在した。2株間SNPとMEが大きい2つの環境分離株の関係については、汚染の場所（浴槽水とシャワー、あるいは男女別浴室）による違いを識別することができたと考えられた。2株間SNPとMEが小さい臨床分離株と環境分離株の関係については、感染源がシャワーであった可能性が解釈の一つとして考えられた。しかしながら、浴槽水ならびにシャワー由来の分離株がそれぞれ1株のみで、分離株間の関係性をより正確に判断するためには、環境中のレジオネラ属菌の多様性を考慮すると、複数の環境分離株があることが望ましいと考えられた。本研究班の金谷らによると、浴槽水由来株について、すべての variants を得るためには少なくとも7株解析する必要

があるとの報告がある<sup>21)</sup>。

一方、同一都道府県内での散発事例においても、SNPならびにMEの小さい菌株が存在した。これらの多くは感染源不明とされていたが、同一感染源が存在した可能性、あるいは近縁のレジオネラが地域に定着していた可能性も考えられた。このような解析事例を蓄積することで、感染源の解明に役立てられることが期待される。

#### E. 結論

全ゲノム解析により、従来の SBT 法による型別では区別できない ST23 型を高解像に識別できた。

#### F. 参考文献

- 1) David S, Mentasti M, Tewolde R, Aslett M, Harris SR, Afshar B, Underwood A, Fry NK, Parkhill J, Harrison TG. Evaluation of an Optimal Epidemiological Typing Scheme for *Legionella pneumophila* with Whole-Genome Sequence Data Using Validation Guidelines. *J Clin Microbiol* 54: 2135-2148, 2016.
- 2) Raphael BH, Baker DJ, Nazarian E, Lapierre P, Bopp D, Kozak-Muiznieks NA, Morrison SS, Lucas CE, Mercante JW, Musser KA, Winchell JM. Genomic Resolution of Outbreak-Associated *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Isolates from New York State. *Appl Environ Microbiol* 82: 3582-3590, 2016.
- 3) Amemura-Maekawa J, Kura F, Chida K, Ohya H, Kanatani J, Isobe J, Tanaka S, Nakajima H, Hiratsuka T, Yoshino S, Sakata M, Murai M, Ohnishi M. *Legionella pneumophila* and Other *Legionella* species Isolated From Legionellosis Patients in Japan between 2008 and 2016. *Appl Environ Microbiol* 84: e00721-18, 2018.
- 4) 佐伯歩、前川純子、明田幸宏. *L. pneumophila* の分子疫学解析. *IASR* 45:124-125, 2024.
- 5) 病院内冷却塔からのレジオネラ感染疑い

- 事例—福岡市. 松田正法、重村久美子、徳島智子、吉田英弘、佐藤正雄. 廣瀬みよ子 門司慶子. 石津尚美. 竹中章、前川純子. IASR 36:13- 14, 2015.
- 6) Haas W, Lapierre P, Musser KA. A Bioinformatic Pipeline for Improved Genome Analysis and Clustering of Isolates during Outbreaks of Legionnaires' Disease. *J Clin Microbiol* 59(2) :e00967-20, 2021.
  - 7) Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114–2120, 2014.
  - 8) Ondov BD, Treangen TJ, Melsted P, Mallonee AB, Bergman NH, Koren S, Phillippy AM. Mash: fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. *Genome Biol* 17: 132. doi: 10.1186/s13059-016-0997-x, 2016.
  - 9) Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, Lesin VM, Nikolenko SI, Pham S, Prjibelski AD, Pyshkin AV, Sirotkin AV, Vyahhi N, Tesler G, Alekseyev MA, Pevzner PA. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol* 19 :455–477, 2012.
  - 10) Wood DE, Salzberg SL. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biol* 15: R46. doi: 10.1186/gb-2014-15-3-r46, 2014.
  - 11) Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 25: 1754–1760, 2009.
  - 12) Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R; 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25: 2078–2079, 2009.
  - 13) Li H, Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 26: 589–595, 2010.
  - 14) Garrison E, Marth G. Haplotype-based variant detection from short-read sequencing. arXiv 1207.3907, 2012.
  - 15) Garrison E, Kronenberg ZN, Dawson ET, Pedersen BS, Prins P. A spectrum of free software tools for processing the VCF variant call format: vcflib, bio-vcf, cyvcf2, hts-nim and slivar. *PLoS Comput Biol* 18(5): e1009123, 2022.
  - 16) Li H. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics*. 27(21):2987–2993, 2011.
  - 17) Danecek P, Bonfield JK, Liddle J, Marshall J, Ohan V, Pollard MO, Whitwham A, Keane T, McCarthy SA, Davies RM, Li H. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience* 10(2): giab008, 2021.
  - 18) Prim RC. Shortest connection networks and some generalizations. *Bell Syst Tech J* 36: 1389–1401, 1957.
  - 19) Qin T, Zhang W, Liu W, Zhou H, Ren H, Shao Z, Lan R, Xu J. Population structure and minimum core genome typing of *Legionella pneumophila*. *Sci Rep* 6: 21356, 2016.
  - 20) David S, Afshar B, Mentasti M, Ginevra C, Podglajen I, Harris SR, Chalker VJ, Jarraud S, Harrison TG, Parkhill J. Seeding and Establishment of *Legionella pneumophila* in Hospitals: Implications for Genomic Investigations of Nosocomial Legionnaires' Disease. *Clin Infect Dis* 64: 1251-1259, 2017.
  - 21) 金谷潤一、磯部順子. レジオネラ症の感染源調査のための迅速・簡便な検査法の開発. 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「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」令和5年度総括・分担研究報告書 研究代表者：泉山信司:116-127, 2024.

#### G. 研究発表

## 1. 紙上発表

- 1) 前川純子、佐伯歩、森田昌知、明田幸宏、中植竜大、村井美代、森中りえか. マルチプレックス PCR による *Legionella pneumophila* 血清型別法について. IASR 45: 123-124, 2024.
- 2) 佐伯歩、前川純子、明田幸宏. *Legionella pneumophila* の分子疫学解析. IASR 45: 124-125, 2024.
- 3) 佐伯歩、前川純子、大森恵梨子、陳内理生、金谷潤一、中西典子、平塚貴大、岡部祐未. レジオネラ・レファレンスセンターの活動. IASR 45: 125-126, 2024.
- 4) 柳本恵太、森康則、田栗利紹、長岡宏美、杉山寛治、縣邦雄、市村祐二、藤井明、山本哲司、小坂浩司、前川純子、泉山信司. 浴槽水のモノクロラミン消毒, 2024 年時点. IASR 45: 120, 2024.
- 5) 枝川亜希子、小池真生子、井上浩章、縣邦雄、杉山順一、安齋博文、前川純子、泉山信司. レジオネラ外部精度管理の現状. IASR 45: 120-122, 2024.
- 6) 金谷潤一、山口友美、武藤千恵子、淀谷雄

亮、飯高順子、佐々木麻里、田栗利紹、蔡国喜、川野みどり、前川純子、泉山信司、倉文明. 環境水における遺伝子検査の活用について. IASR 45: 122-123, 2024.

- 7) 前川純子. レジオネラ症の疫学調査(菌株の型別法). ビルと環境, 187, 27-33, 2024.

## 2. 学会発表

- 1) 前川純子. レジオネラ症の発生状況と環境要因. 第 73 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 71 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 シンポジウム. 2024 年 10 月. 東京.

## 3. 研修会

- 1) 前川純子: レジオネラ対策. 専門課程 I 保健福祉行政管理分野分割前期・専門課程 III 地域保健福祉専攻科. 2024 年 5 月. Web 対応.
- 2) 前川純子: レジオネラ属菌の検査と対策. 令和 6 年度 短期研修 環境衛生監視指導研修. 2024 年 11 月. Web 対応.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



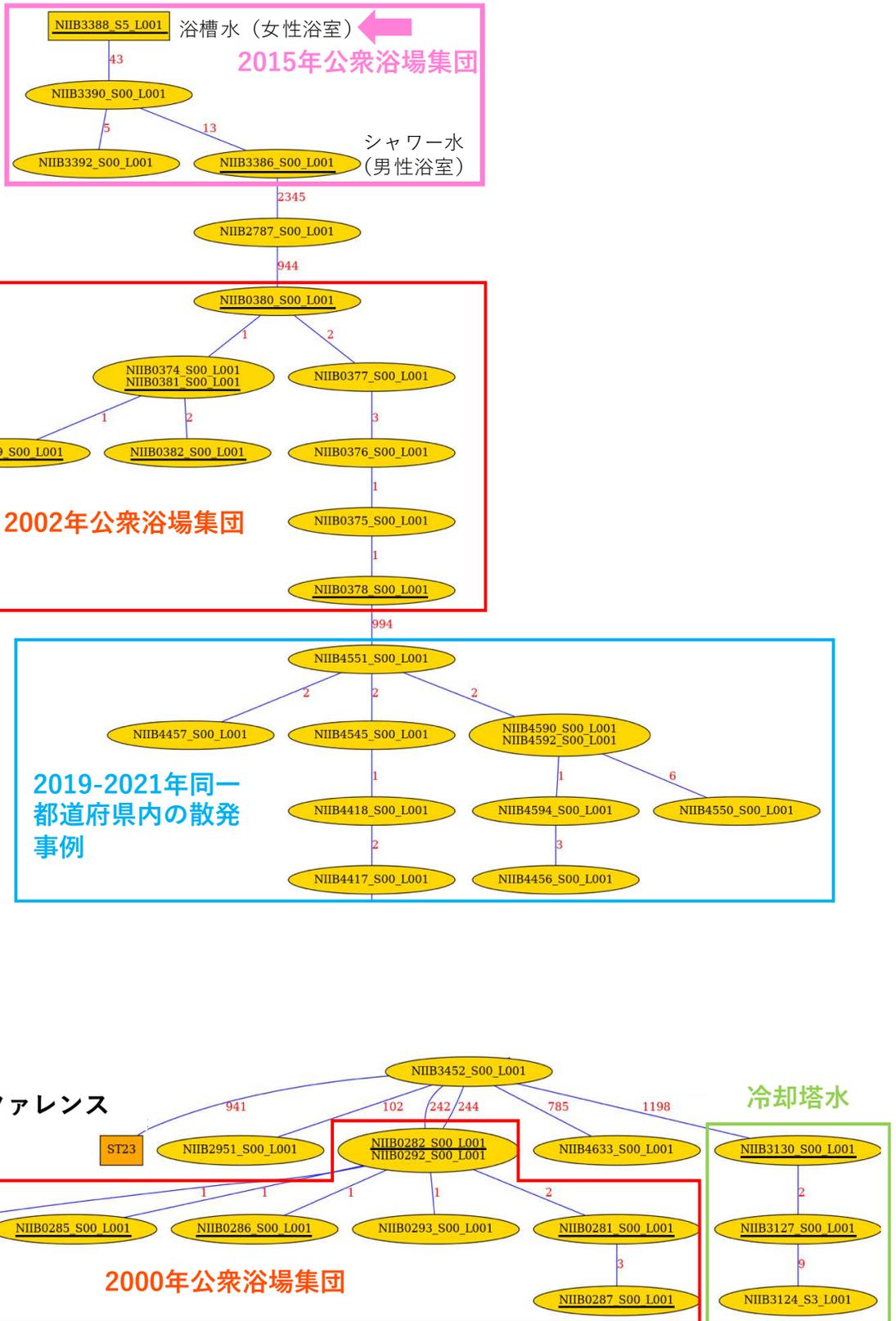


図2. *Legionella pneumophila* ST23を起因菌とした事例の全ゲノム解析 (MEに基づくMST図、集団感染事例を含む部分を全体図から抜粋)。見方は図1と同様である。

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）

公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

令和6年度分担研究報告書

分子疫学解析法の活用と環境水におけるNGSを用いた網羅的解析

研究分担者	中西典子	神戸市健康科学研究所	感染症部
研究協力者	野本竜平	神戸市健康科学研究所	感染症部
研究協力者	小松頌子	神戸市健康科学研究所	感染症部
研究協力者	藤永千波	神戸市健康科学研究所	感染症部
研究協力者	平塚貴大	広島県立総合技術研究所保健環境センター	

研究要旨：本研究では、NGS解析による全ゲノム配列を用いた系統解析を取り入れ、従来法で型別された遺伝系統の妥当性や集団事例での評価や汚染源調査での経時的な網羅的菌叢解析を行い、解析手法の確立と基礎データの蓄積を目指す。

今年度も引き続き、大規模な集団事例と散发例で検出された *L. pneumophila* SG2 遺伝子型 ST354 について、分子疫学手法（PFGE, MLVA, SBT）による型別と全ゲノム配列を用いた系統を比較した。その結果、集団事例における全ゲノム系統解析の系統的位置は PFGE, MLVA, SBT による型別を反映していることが明らかとなった。さらに、2 遺伝子違いの異なる遺伝子型（ST）間でも、SNVs 数が約 30 個程度と非常に近縁な遺伝系統であることが明らかとなった。ST354 では、Gubbins による組換え領域を除去するか、除去しないかで SNV 数が大幅に変化したことから、状況に応じて判断し、各遺伝系統の多様度を評価していく必要があると考えられた。以上のことから、引き続き、集団事例や国内で検出される遺伝子型を中心にゲノム解析を進め、遺伝系統の特徴を把握する必要があると考えられた。

#### A. 研究目的

感染源の特定には、レジオネラ症患者からの分離株と、推定感染源とされる環境分離株の遺伝子型の一致を確認する必要がある。これまでパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）や世界的に普及した塩基配列の多型解析（Sequence based typing, SBT）法が主流の方法として用いられてきた。しかしこれら従来法は、多検体処理の煩雑さに加え、時間や費用が課題となっ

いたことから、我々は *L. pneumophila* においてより簡便な手順で実施可能な反復配列多型解析法（MLVA）を導入し、これまで評価してきた。また、primer 部分のミスマッチにより増幅されない MLVA 領域について、新たな primer を用いた Multiplex PCR の系を構築し、レジオネラの汎用性の高い分子疫学的手法として MLVA 法を普及させてきた。

一方で、次世代シーケンサー（NGS）の

普及に伴い、全ゲノム解析でより高い分解能で菌株の同一性を確認することや、網羅的な菌叢解析により汚染実態の把握にも利用できるようになってきた。

そこで本研究では、NGS解析による全ゲノム配列を用いた系統解析を取り入れ、従来法で型別された遺伝系統の妥当性や集団事例での評価や汚染源調査での経時的な網羅的菌叢解析を行い、解析手法の確立と基礎データの蓄積を目指す。

今年度も引き続き、国内で発生した散发例や過去の集団事例、環境由来株などの全ゲノム比較解析を行い、集団事例の評価および遺伝系統の特徴について解析を行った。

## B. 研究方法

①菌株：過去の集団事例に関しては、入浴施設で発生した一事例について検証した<sup>1)</sup>。患者 22 名から分離した 51 株と浴槽水や浴槽ふき取りから分離した環境株 43 株中、ゲノム解析には 32 株を用いた(表)。内訳は、*L. pneumophila* SG1 ST2398 株が 13 株(患者由来 10 株と環境由来 3 株)、ST2399 が 8 株(患者由来 6 株、環境由来 2 株)、環境由来である ST2401 が 1 株、ST601 が 2 株と *L. pneumophila* SG8 が 2 株、SG11 が 6 株である。

さらに、*L. pneumophila* SG2 ST354 の菌株を 23 株解析した。内訳は、2022 年 7 月に発生した散发例の patient1 の 1 株(KL2335)と、2022 年 11 月に発生した散发例の同一患者(patient2)から分離された 14 株(KL2436-00-KL2436-13)、事例

とは全く関係のない入浴施設 A と B で、それぞれ経年的に分離された 5 株(KL1194, KL1286, KL1653, KL1880, KL2643)と 3 株(KL1182, KL1399, KL1884)である。

②ゲノム解析：QIAseq FX DNA Library kit (QIAGEN)を用いて DNA ライブラリを調製し、Miseq reagent Kit v.3 を用いてリードデータを取得した。SNV (Single-nucleotide variant)解析は、既報に従い実施した<sup>2)</sup>。すなわち、BactSNP<sup>3)</sup>によりコールされた SNVs から、Snippy によるコア領域の推定、Gubbins<sup>4)</sup>による組換え領域の除去に加え、繰返し領域の除去を行った。Reference 配列として *L. pneumophila* str. Paris 株 (Accession no.; CR628336.1)のゲノム配列を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、臨床分離株の使用にあたっては、各々研究機関において倫理委員会で承諾のもと実施された。

## C. 研究結果

(1) 過去の集団事例におけるゲノム解析

本集団事例においては、PFGE、MLVA、SBT の型別は相関していることが確認されている<sup>1)</sup>。遺伝子型の代表 32 株を選別し、ゲノム系統解析を行った。その結果、大きく 2 つの系統に分類され、同じ ST を示した株は同一のグループに属した(図 1A)。SNV に基づくハプロタイプネットワーク解析の結果、ST2401 を含む ST2399

系統と ST2398 系統は2つのクレードに分かれた (図 1B)。ST2398 と ST2399 の株間の SNV は 30 (P09-1 と P09-2)~42 (P04-4 と P37-1)個であった。ST2398 と ST2399 のクレードに患者株と浴槽水等の環境由来株がそれぞれ含まれ、株間の SNV は数個であった。

#### (2) *L. pneumophila* SG2 ST354 の比較ゲノム解析

散発の 2 事例と事例とは全く関係のない 2 か所の入浴施設から分離された *L. pneumophila* SG2 ST354 について、Gubbins による組換え領域の除去をする場合としない場合で比較した (図 2)。Gubbins 解析なし (組換え領域を残したまま) の場合、コアゲノムサイズは 2,782,307 bp、ゲノムカバー率が 79.4%であったのに対し、Gubbins 解析あり (組換え領域を排除) の場合、コアゲノムサイズが 2,289,726bp、ゲノムカバー率は 65.4%と減少した。組換え領域の除去によってコアゲノム領域が 492,581bp も削られ、そこに含まれる 25,000 個あまりの SNVs が除外された。一方で、どちらの場合でも、疫学的に関連がないと考えられる患者由来株や環境株間で SNVs が数個になる場合があった。入浴施設由来株は施設毎にクラスターを形成し、経年的に分離した株間において SNV は数個であった。また、今回解析したサンプル群では大まかに 2 つのクラスターに分類されたが、組換え領域の除去の有無によってクラスター間の SNVs は大幅に増減した。

#### D. 考察

今年度は過去の集団事例と散発的に発生した *L. pneumophila* SG2 ST354 について、全ゲノム解析を行った。

集団事例における全ゲノム系統解析の系統的な位置は PFGE, MLVA, SBT による型別を反映していることが明らかとなった。患者由来株が含まれる ST2398 と ST2399 は 2 遺伝子違いであるが、ST2398 と ST2399 の株間の SNV は約 30 個であった。*L. pneumophila* SG1 ST138 の集団事例では、同一患者由来株間の SNV 数は 0~40 個と多様であったことが報告されている<sup>4)</sup>。従って、ST2398 と ST2399 は近縁な遺伝系統であることが示唆された。さらに、SNV に基づくハプロタイプネットワーク解析の結果、ST2401 を含む ST2399 系統と ST2398 系統は2つのクレードに分けられることが明らかになった。このことから、ST2398 クレードは、浴場施設の循環系で長期間培養される間に変異が蓄積し、ST2399 クレードから派生した可能性が示唆された。ST2398 および ST2399 クレードの患者株間の SNV 数はそれぞれ 2~13 個と 4~17 個であり多様であった。また、少なくとも 3 人の患者 (患者 04、09、14) には、ST2398 と ST2399 の両方に属する株が分離された。従って、患者は同時に ST2398 と ST2399 の複数の遺伝系統に暴露されたことを示唆した。

*L. pneumophila* SG2 ST354 にゲノム解析においては、疫学的に関連性がない散発例の患者株と施設 A 由来株において、

SNVsが5個以内となるケースも確認されたことから、感染事例が発生した際には疫学的背景を欠いた解釈は誤った結論につながり得るため、疫学情報との統合が不可欠である。また、組換え領域の除去の有無によってSNV数が大幅に変化する枝があり、遺伝系統間で大規模な組換え領域の存在が示唆された。従って、組換え領域の除去は、解析の目的や対象となる遺伝系統の特徴に応じて判断する必要があると考えられる。今後は、各遺伝系統の多様度を評価していく必要があると考えられた。以上のことから、引き続き、集団事例や国内で頻度の高い遺伝子型を中心にゲノム解析を進め、遺伝系統の特徴を把握する必要があると考えられた。

#### E. 結論

過去の集団事例における全ゲノム系統解析の系統的位相はPFGE, MLVA, SBTによる型別を反映していた。さらに、異なるST間でも、SNVs数が約30個程度と非常に近縁な遺伝系統であることが明らかとなった。ST354では、Gubbinsによる組換え領域を除去するか、除去しないかでSNV数が大幅に変化したことから、引き続き、国内で検出された各遺伝系統の多様度を評価していく必要があると考えられた。

#### F. 参考文献

1) 中西典子ら, MLVA法における*Legionella pneumophila*の遺伝学的特徴. 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」平成29年~30年度総合研究報告書, 研究代表者: 前川 純子, 55-65, 2019.

- 2) Lee K, Iguchi A, Uda K, Matsumura S, Miyairi I, Ishikura K, Ohnishi M, Seto J, Ishikawa K, Konishi N, Obata H, Furukawa I, Nagaoka H, Morinushi H, Hama N, Nomoto R, Nakajima H, Kariya H, Hamasaki M, Iyoda S. Whole-Genome Sequencing of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* OX18 from a Fatal Hemolytic Uremic Syndrome Case. *Emerg Infect Dis.* 2021 May;27(5):1509-1512. doi: 10.3201/eid2705.204162.
- 3) Yoshimura, D., Kajitani, R., Gotoh, Y., Katahira, K., Okuno, M., Ogura, Y., Hayashi, T., Itoh, T. Evaluation of SNP Calling Methods for Closely Related Bacterial Isolates and a Novel High-Accuracy Pipeline: BactSNP. *Microb. Genom.* 2019, 5, e000261.
- 4) Nakanishi N, Komatsu S, Tanaka S, Mukai K, Nomoto R. Investigation of a *Legionella pneumophila* Outbreak at a Bath Facility in Japan Using Whole-Genome Sequencing of Isolates from Clinical and Environmental Samples. *Microorganisms.* 2022. 22;11:28.doi:10.3390/microorganisms11010028.

## G. 研究発表

### 学会発表

- 1) 小松頌子、田中忍、小川恵子、森本洋、中西典子. レジオネラ症発生事例における *Legionella longbeachae* の細菌学的・遺伝的特徴. 日本防菌防黴学会 第 50 回年次大会. 2024 年 9 月.
- 2) 小松頌子、小川恵子、森本洋、中西典子. 本邦で稀なレジオネラ症起因菌 *Legionella longbeachae* の検査法と分離菌株の性状. 第 94 回日本感染症学会西日本地方会学術集会 第 72

回日本化学療法学会西日本支部総会  
合同学会. 2024 年 11 月.

### 論文発表

- 1) Shoko Komatsu, Chinami Fujinaga, Noriko Nakanishi. Detection of *Legionella* spp. in influent wastewater in Kobe City, Japan. *J Water Health*. 2024. 22 (11): 2054-2059 doi: 10.2166/wh.2024.167.

- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

表. 過去の集団事例についてゲノム解析を実施した32株

Serogroup	ST	Strain ID	
1	ST2399	P07-1	
		P14-3 *	
		P04-4 *	
		P05-1	
		P09-1*	
		P24-1	
		S01-4	
		W01-3	
		ST2401	S01-5
		ST2398	P04-1*
	P09-2*		
	P09-3		
	P14-1*		
	P14-2*		
	P22-1		
	P22-3		
	P37-1		
	P37-3		
	S01-2		
	S01-3		
	W01-2		
P02-1			
ST601	S01-7		
	S01-8		
8	ST1351	S03-3	
		S03-4	
11	<i>neuA</i> -	W03-7	
		W05-3	
		S01-6	
		W05-1	
		S05-2	
		W03-5	

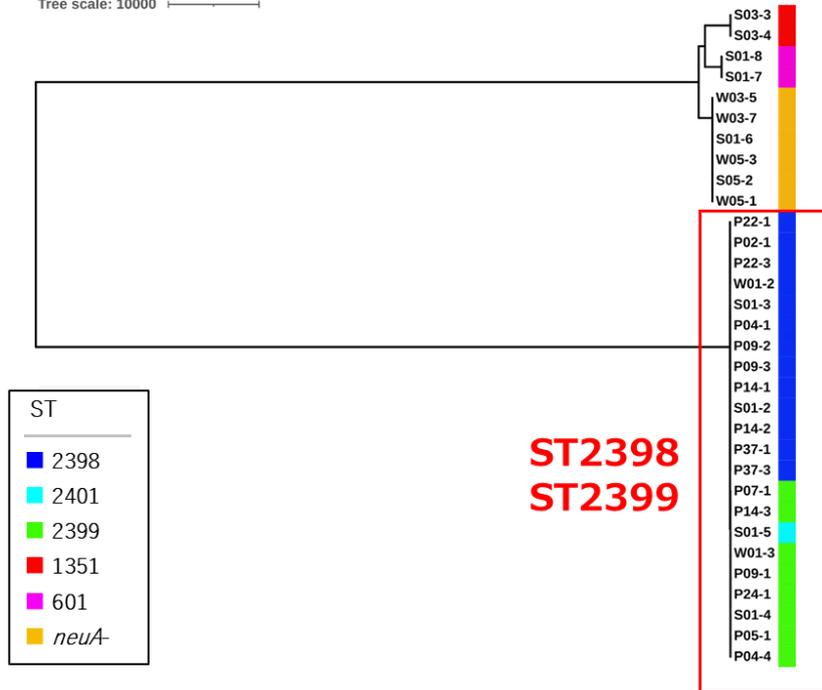
*neuA* -: *neuA* and *neuAh* not detected

P: patient, W: Bath water, S: swab

\*: At least three patients (Patients 04, 09, and 14) had isolated strains assigned to both ST2398 and ST2399.

(A)

Tree scale: 10000



(B)

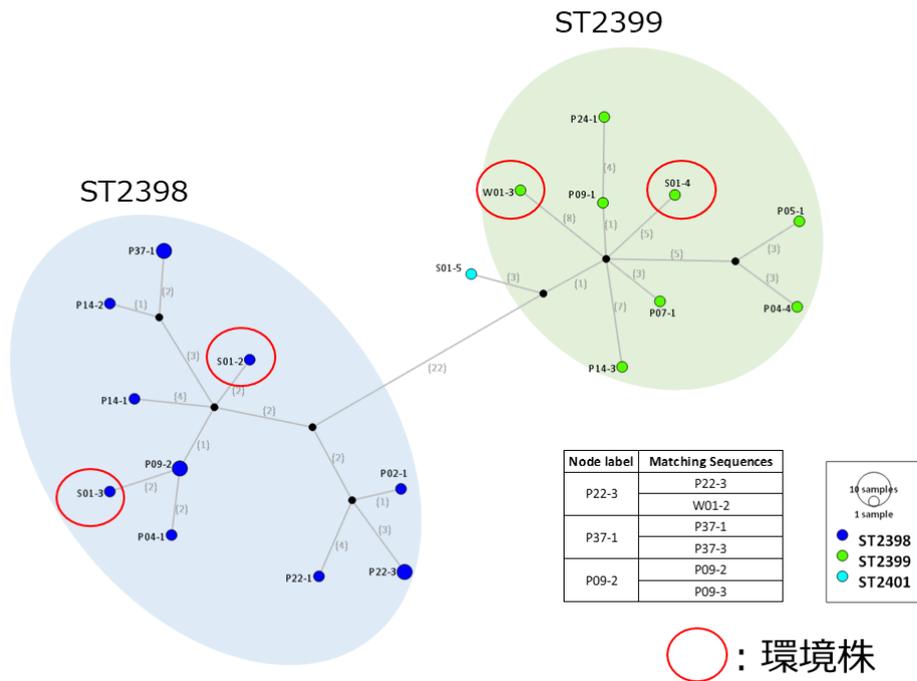


図 1. (A) 32 株の全ゲノム系統樹。 (B) ST2398, ST2399, ST2401 の菌株の全ゲノム配列を用いた SNVs 解析によるハプロタイプネットワーク。各 Node 間の数字は SNVs の数を表す。

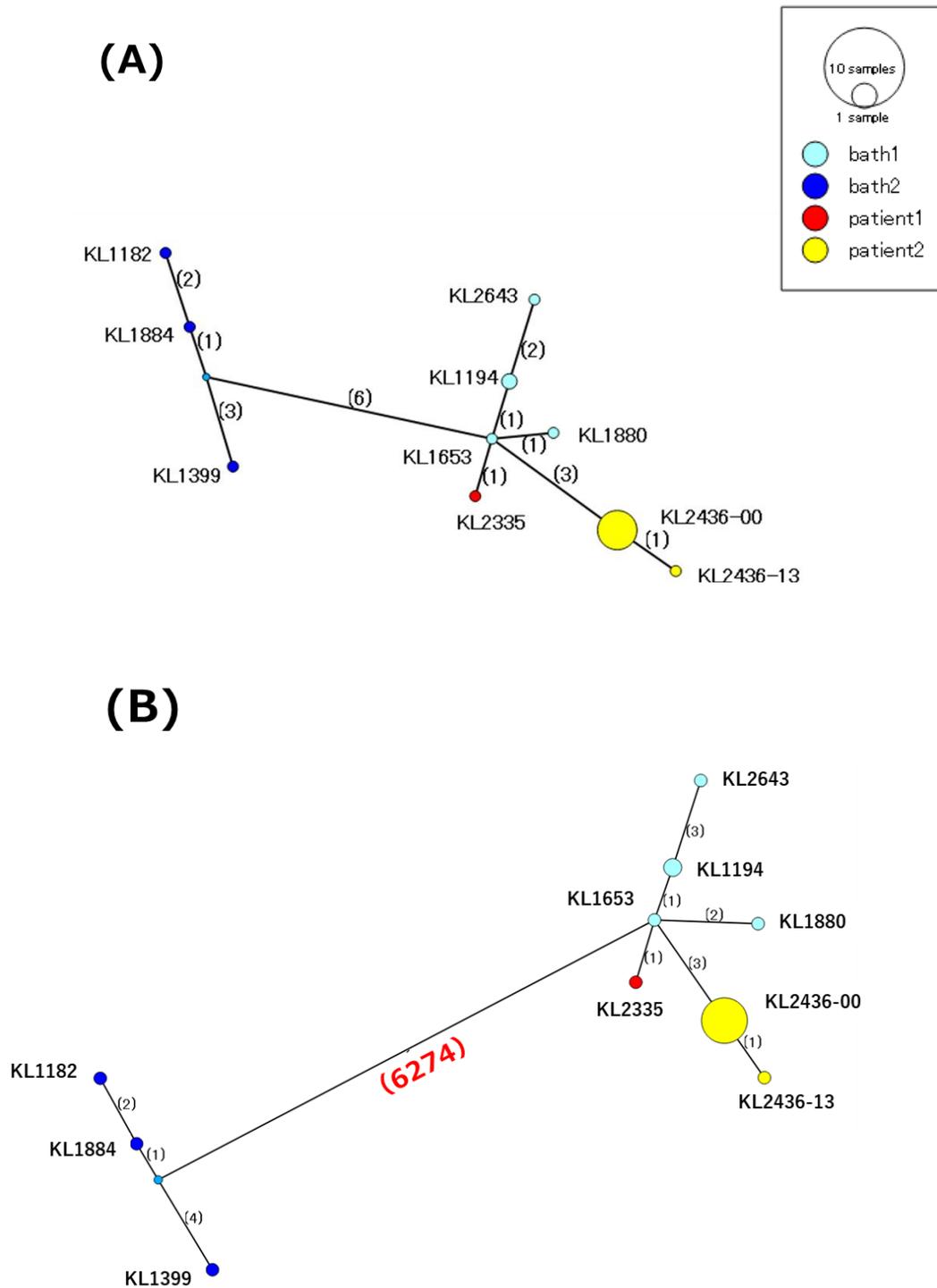


図 2. *L. pneumophila* SG2 ST354 の 23 株の全ゲノム配列を用いた SNVs 解析によるハプロタイプネットワーク。各 Node 間の数字は SNVs の数を表す。(A) Gubbins による組換え除去した場合。(B) Gubbins による組換え除去しない場合。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
赤井仁志、縣 邦雄、飯澤明子、井上浩章、枝川亜希子、金谷潤一、金城武士、小瀬博之、小宮幸作、寫田政治、関 雅文、館田一博、比嘉 太、古畑勝則、前川純子、宮下修行、柳 宇	「レジオネラ属菌の検査法」他	レジオネラ症防止指針編集委員会	第5版「レジオネラ症防止指針」	公益財団法人日本建築衛生管理教育センター	東京	2024	184

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kanatani J, Fujiyoshi S, Isobe J, Kimata K, Watahiki M, Maenishi E, Izumiyama S, Amemura-Maekawa J, Maruyama F, Oishi K.	Correlation between bacterial microbiome and <i>Legionella</i> species in water from public bath facilities by 16S rRNA gene amplicon sequencing	Microbiol Spectr.	12 (4)	ε034592 3	2024
Nakajima N, Jinnai M, Izumiyama S, Kuroki T.	Evaluating Fourier-transform infrared spectroscopy with IR Biotyper as a faster and simpler method for investigating the sources of an outbreak of legionellosis.	Eur J Clin Microbiol Infect Dis	43 (5)	991-997	2024
Komatsu S, Fujinaga C, Nakanishi N.	Detection of <i>Legionella</i> spp. in influent wastewater in Kobe City, Japan.	J Water Health	22 (11)	2054-2059	2024
小松頌子、武藤千恵子、佐々木麻里、梅津萌子、高久靖弘、大谷彩恵、田中和良、木下輝昭、猪又明子、藤永千波、田中忍、中西典子	浴槽水における大腸菌検査法の検討	日本防菌防黴学会誌	53 (3)	69-73	2025
森 康則、永井佑樹、佐藤大輝、谷本健吾、豊田真由美、亀山有貴、原 有紀、中野陽子、小林章人、吉村英基、泉山信司	高アルカリ温泉水中のモノクロミンと遊離塩素に対する <i>Legionella pneumophila</i> の消毒耐性の定量的評価	温泉科学	74	18-28	2024

淀谷雄亮, 西里恵美莉, 小嶋由香, 佐々木麻里, 蔡国喜, 井原基, 田栗利紹, 柳本恵太, 緒方喜久代, 武藤千恵子, 梅津萌子, 高久靖弘, 山口友美, 前川純子	浴槽水等のレジオネラ属菌検査におけるレジオラート/QT法と平板培養法の比較検討	日本防菌防黴学会誌	53 (1)	3-8	2025
前川純子, 佐伯歩, 森田昌知, 明田幸宏, 中植竜大, 村井美代, 森中りえか	マルチプレックスPCRによる <i>Legionella pneumophila</i> 血清型別法について	病原微生物検出情報 (IASR)	45	123-124	2024
佐伯歩, 前川純子, 明田幸宏	<i>Legionella pneumophila</i> の分子疫学解析	病原微生物検出情報 (IASR)	45	124-125	2024
佐伯歩, 前川純子, 大森恵梨子, 陳内理生, 金谷潤一, 中西典子, 平塚貴大, 岡部祐未	レジオネラ・レファレンスセンターの活動	病原微生物検出情報 (IASR)	45	125-126	2024
柳本恵太, 森康則, 田栗利紹, 長岡宏美, 杉山寛治, 縣邦雄, 市村祐二, 藤井明, 山本哲司, 小坂浩司, 前川純子, 泉山信司	浴槽水のモノクロラミン消毒	病原微生物検出情報 (IASR)	45	120	2024
枝川亜希子, 小池真生子, 井上浩章, 縣邦雄, 杉山順一, 安齋博文, 前川純子, 泉山信司	レジオネラ外部精度管理の現状	病原微生物検出情報 (IASR)	45	120-122	2024
金谷潤一, 山口友美, 武藤千恵子, 淀谷雄亮, 飯高順子, 佐々木麻里, 田栗利紹, 蔡国喜, 川野みどり, 前川純子, 泉山信司, 倉文明	環境水における遺伝子検査の活用について	病原微生物検出情報 (IASR)	45	122-123	2024
前川純子	レジオネラ症の疫学調査(菌株の型別法)	ビルと環境	187	27-33	2024
前川純子	レジオネラの基本情報	生活と環境	69 (5)	4-8	2024
泉山信司	公衆浴場のレジオネラ対策を目的とした衛生管理	生活と環境	69 (5)	26-31	2024

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 寄生動物部・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 泉山信司・イズミヤマシンジ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 地方独立行政法人  
大阪健康安全基盤研究所

所属研究機関長 職 名 理事長

氏 名 朝野 和典

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 衛生化学部生活環境課・主幹研究員

(氏名・フリガナ) 枝川亜希子・エダガワアキコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立保健医療科学院

所属研究機関長 職名 院長

氏名 曾根 智史

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 生活環境研究部・上席主任研究官

(氏名・フリガナ) 小坂 浩司・コサカ コウジ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業
2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 細菌第一部・主任研究官  
(氏名・フリガナ) 前川純子・マエカワジュンコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する口にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 山梨県衛生環境研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 岸本 里香

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 微生物部・主任研究員

(氏名・フリガナ) 柳本恵太 (ヤナギモトケイタ)

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 富山県衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 大石 和徳

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 細菌部 主任研究員

(氏名・フリガナ) 金谷 潤一 ・ カナタニ ジュンイチ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	富山県衛生研究所	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 岡山理科大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 平野 博之

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 獣医学部 教授

(氏名・フリガナ) 黒木 俊郎 (クロキ トシロウ)

#### 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

#### その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

#### 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

#### 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 長崎県環境保健研究センター

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 本多 雅幸

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 保健衛生研究部・専門研究員

(氏名・フリガナ) 田栗 利紹・タグリ トシツグ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 神戸市健康科学研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 岩本 朋忠

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 感染症部・副部長

(氏名・フリガナ) 中西典子・ナカニシノリコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 川崎市健康安全研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 三崎 貴子

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 呼吸器環境細菌担当・技術職員

(氏名・フリガナ) 淀谷 雄亮・ヨドタニユウスケ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

国立保健医療科学院長 殿

機関名 神奈川県衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 多屋 馨子

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 健康安全・危機管理対策総合研究事業

2. 研究課題名 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 微生物部細菌・環境生物グループ・主任研究員

(氏名・フリガナ) 陳内 理生・ジンナイ ミチオ

## 4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

## その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

## 5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

## 6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。