

令和2年度厚生労働科学研究(健康安全・危機管理対策総合研究事業)
公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究

研究代表者 前川 純子(国立感染症研究所 細菌第一部)

分担研究報告書

省力化配管洗浄法の開発と営業施設における実地試験

研究分担者	泉山 信司	国立感染症研究所 寄生動物部
研究分担者	長岡 宏美	静岡県環境衛生科学研究所 微生物部
研究協力者	柳本 恵太	山梨県衛生環境研究所 微生物部
研究協力者	森 康則	三重県保健環境研究所 衛生研究課
研究協力者	永井 佑樹	三重県保健環境研究所 微生物研究課
研究協力者	枝川亜希子	地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所
研究協力者	山本 哲司	花王株式会社 ハウスホールド研究所
研究協力者	細川 賢人	花王株式会社 ハウスホールド研究所
研究協力者	田中 孝典	花王株式会社 ハウスホールド研究所
研究協力者	杉山 寛治	株式会社マルマ 研究開発部
研究協力者	田中 慶郎	株式会社マルマ PC 営業部
研究協力者	市村 祐二	ケイ・アイ化成株式会社 機能性薬品部
研究協力者	茶山 忠久	ケイ・アイ化成株式会社 機能性薬品部
研究協力者	藤井 明	株式会社ヘルスビューティー
研究協力者	斎藤 利明	株式会社ヤマト 温浴事業部
研究協力者	小坂 浩司	国立保健医療科学院 生活環境研究部

研究要旨

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌の汚染を低減するには、消毒だけでなく、定期的な洗浄が必要になる。ろ過器や配管はブラシを使った物理的な洗浄ができず、過酸化水素や過炭酸ナトリウムを使用した化学的な洗浄を行っている。しかし、これらの物質は劇物や危険物であり、多量の薬剤を使つての頻回な洗浄は容易ではなかった。本研究では使用する薬剤量の低減を目的として、過炭酸ナトリウムに助剤を併用する新規の洗浄方法に着目した。バイオフィーム中の金属によるフェントン反応により、従来より少ない薬剤量でも効率よくバイオフィームの除去が可能になると期待された。最初にステンレス製試験片上に生成したバイオフィームを効率よく除去できる洗浄条件を検討し、次に営業4施設の協力を得て、最適条件による新規の洗浄方法を試行した。薬剤の使用量が重量にして従来の3割と低減したにも関わらず、9割以上の微生物が除去される洗浄効

果が得られた。洗浄後のすすぎの回数も多くなく、従来より少ない労力で洗浄することが可能となった。本洗浄方法の活用により、洗浄頻度の向上、浴場施設の衛生の向上が期待される。

A. 研究目的

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌の汚染に対応するため、次亜塩素酸ナトリウムやモノクロラミンといった塩素剤による消毒が行われている¹⁾。しかし、循環式浴槽のろ過器や複雑な配管においては、消毒剤だけでレジオネラ属菌とバイオフィルムを抑制し続けることは困難である。遊離塩素消毒では、低濃度のレジオネラ属菌が検出され、消毒が不足していることがある。レジオネラ属菌に対して効果が高いとされるモノクロラミン消毒にしても、連続使用に際して浴槽水の従属栄養細菌数の増加が報告され、洗浄の徹底が課題となっている²⁾。当然のことではあるが、消毒だけではなく、定期的な配管洗浄が必要とされる。

ところが、浴場施設の構造は、洗浄のしやすさの観点から抜け落ちている³⁾。ろ過器や配管にブラシを使うといった物理的な洗浄が不可能であることから、洗浄剤を使った化学的な洗浄方法に頼ることになる³⁻⁶⁾。現在の化学的な洗浄には、主に過酸化水素や過炭酸ナトリウムが用いられているが、前者は劇物であることから専門業者への委託が主となり、浴場施設にとっての金銭的な負担が大きい。薬剤の使用量も多く、原液 30～35%濃度を終濃度 3～3.5%の 10 倍希釈で使用する場合、例えば 10m³の浴槽水に対して 1m³もの原液を使用する計算になる。実際の洗浄作業には水位を可能な限り下げて、濃度をもっと薄くするとしても、洗浄範囲と洗浄効果を保つには減らすにも限度がある。

後者の過炭酸ナトリウムであっても、例えば

10m³の浴槽水に対して、1%の 100kg を使用し、固体であっても少なくない。つまり、いずれの方法を使うにしても、頻繁な洗浄とはならず、洗浄不足になりえる。洗浄頻度は、管理しやすく薬剤量の少ない洗浄方法があれば、向上が期待できる。

ちなみに、過炭酸ナトリウムは、危険物第 1 類(酸化性固体)の炭酸ナトリウム過酸化水素付加物(あるいは炭酸ナトリウム過酸化水素化物、 $2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}_2$)に炭酸ナトリウム(Na_2CO_3)等を(例えば 7:3 の割合で)混合して形状も工夫することで、爆発や燃焼を抑制し、非危険物として販売されている¹⁵⁻¹⁷⁾。本来、酸素を出して周囲の物質を燃焼させたり爆発したりする性質であり、ガス抜きのできる専用容器の使用を含め、注意を要する。洗浄剤の名目で販売中の過炭酸ナトリウムは安全性に配慮されているはずだが、純品の炭酸ナトリウム過酸化水素付加物は危険性の高いものであり、製造上の誤りや洗浄効果を目的に混合比率が高まっていたり、炭酸ナトリウム過酸化水素付加物と過炭酸ナトリウムの通称が混同・販売されるといった恐れが全く無いとは言えないので、大容量やバルク製品の購入には、燃焼試験や落球式打撃感度試験等で危険性の無いことが確認された製品を選択することが望ましい。

洗浄後のすすぎにかかる労力も、問題になる。過酸化水素や過炭酸ナトリウムを用いた洗浄の後に、すすぎを徹底する必要がある³⁾。すすぎが不足すると消毒の塩素濃度が維持できず、洗い残したレジオネラ属菌の遊離が懸念

される。すすぎの徹底には、多量の水を複数回入れ替える作業が生じて、それだけ費用と労力と時間を要するので、なおさら洗浄に消極的になる恐れがある。もし洗浄剤の使用量が少なければ、すすぎにかかる水量と回数を減らせる可能性がある。

本研究では薬剤量の低減を目的として、過炭酸ナトリウムに助剤を併用する新規の洗浄方法に着目した⁷⁾。水が循環する環境のバイオフィームには、鉄などの金属が蓄積している。このバイオフィーム中の金属を触媒として利用するフェントン反応により、薬剤が除去目標のバイオフィーム中で特異的に働く。結果として、少ない薬剤量でバイオフィームを除去できることが、新規洗浄方法の特長とされる。過酸化水素によるバイオフィーム処理は口腔衛生にも使われており、フェントン反応によって生じるヒドロキシラジカルが殺菌に有効と考えられている⁸⁾。この原理を循環式浴槽の配管洗浄に応用し、実際の営業施設において洗浄効果を検討した。

B. 研究方法

B1. 試験管内での洗浄条件の検討

循環水中の水流の再現装置によるバイオフィーム形成方法を参考にして、バイオフィームの形成と、洗浄後の残存バイオフィーム量の測定を行った^{9, 10)}。すなわち、連続培養システム(アート科学社製)の中に 15mm×20mm (厚さ 1.5mm)のステンレス製の試験片を設置し、(後述の施設 A から D とは異なる)とある施設から採取した浴槽水を 40°Cで 14 日間循環させることで、試験片上にバイオフィームを発生させた(図 1)。試験片を 6 ウェルプレートに移し、洗浄剤 5mL に浸漬した。プレートをバイオシェーカーに移して 40°C、60rpm で回転さ

せることで、試験片を洗浄した。試験片から洗浄剤を除いて蒸留水 3mL で 2 回すすいだ後に、0.1%クリスタルバイオレット 3mL を加えて、30 分間バイオフィームを染色した。染色液を除いて蒸留水 5mL で 2 回すすいだ後に、1mL のエタノールを加えてバイオシェーカーで 1 分間攪拌し、バイオフィームからクリスタルバイオレットを溶出した。溶出液の吸光度(波長 570nm)を測定することで、クリスタルバイオレットの量、すなわち試験片上に残存したバイオフィーム量を測定した。

蒸留水による洗浄を対照コントロールとして用い、これを基準として、他の洗浄条件によるバイオフィームの除去率を評価した。洗浄剤は先行報告に従い、過炭酸ナトリウム、アスコルビン酸、酒石酸を混合して用い、量比による洗浄効果の違いを検討した(表 1)。比較対象として、従来から用いられてきた過炭酸ナトリウムの単独³⁻⁶⁾、および過炭酸ナトリウムとクエン酸を有効成分とする市販品(本報告では現状の販売に配慮して、具体的な製品名を表示しない)を用いた。

B2. 実地の浴場施設における洗浄

施設 A~D の 4 つの入浴施設の協力を得て、洗浄試験を実施した(表 2)。いずれも循環式浴槽を備えており、定期的な洗浄が必要だが、洗浄の頻度や消毒の状況は様々であった。施設 A~C においては新規の洗浄方法を行い、施設 D においては 2 浴槽を用いて新規方法と従来方法の洗浄を並行して実施した。

新規の洗浄方法として、浴槽水 1m³あたり過炭酸ナトリウム 1kg(終濃度 0.1%)にアスコルビン酸 1kg と酒石酸 1kg を助剤として用いて、過酸化水素による洗浄効果を発揮させた。浴槽水の量を循環可能な最低限に減らした後、上

記の 3 化合物を同時に浴槽水に添加し、浴槽水を循環した。60 分後に、1m³ あたり炭酸ナトリウム 0.5kg 程を用いて排水可能な pH に調整し、すすぎの工程に移行した。

従来の洗浄方法として、浴槽水 1 m³あたり過炭酸ナトリウム 6kg およびクエン酸 4kg からなる市販の洗浄剤を用いた。新規の方法と同様に、浴槽の水量を循環可能な最低限に減らした後、先にクエン酸を浴槽水に添加して 30 分間循環、次に過炭酸ナトリウムを添加して 90 分間循環した。1m³あたり亜硫酸ナトリウム 1.2kg によって過炭酸ナトリウムを中和し、すすぎの工程に移行した。

洗浄後の浴槽から洗浄剤を除去するため、すすぎを行った。浴槽水を排水したら、循環可能な水量まで給水し、一定時間循環後、排水を繰り返した。循環する時間は、系全体での 1 循環に要する時間を目安とし、すすぎ時点の浴槽の水量 (m³) をポンプ能力 (m³/hr) で除して求めた。すすぎは、次亜塩素酸ナトリウムまたはモノクロラミンとの反応性が消失して、消毒剤の濃度が維持できるまで、数回を繰り返した。具体的には、すすぎ水 10mL に、1,000 mg/L 程度に調整した次亜塩素酸ナトリウムまたはモノクロラミンを 10μL 添加し、DPD 法によって対照コントロールの精製水と同じ塩素濃度を示すまで、すすぎを繰り返した。各塩素剤の調製法は下記の通り。

次亜塩素酸ナトリウム:6% 次亜塩素酸ナトリウム溶液を精製水で 0.1% に希釈した。

モノクロラミン:0.3% 次亜塩素酸ナトリウム溶液 (6% 溶液を精製水で希釈して調整) と 0.4% 塩化アンモニウム溶液を 1:2 の割合で混合した。

洗浄前後に、ヘアキャッチャー近傍の配管 2 か所 (5cm×5cm) を拭き取り、ATP 検査および細菌検査を行った。施設 A においてはろ過器内部からも拭き取り検査を実施した。ATP 検査には、UltraSnap (Hygiena) を添付文書の方法に従い使用した。細菌検査には、ふきふきチェック II (栄研化学) を用い、スワブは Voltex ミキサーを用いて付属の 10mL リン酸緩衝液に懸濁した。培養法では 10mL 懸濁液から、一般細菌数、従属栄養細菌数、大腸菌、レジオネラ属菌の検査を実施した。培養の詳細は以下の通り。

一般細菌数: 懸濁液を段階希釈後、100μL を標準寒天培地にコンラージ棒で塗抹した。培養温度は、浴槽水の培養で生育が良好だった条件を参考とし、37°C で 48 時間培養した後で、形成されたコロニー数を、適切な希釈段階で計数した^{11, 12)}。原液 100μL を塗布したので、検出下限は 100 cfu/25cm² であった。

従属栄養細菌数: 懸濁液を段階希釈後、100μL を R2A 寒天培地にコンラージ棒で塗抹した。30°C で 7 日間培養した後、形成されたコロニー数を、適切な希釈段階で計数した¹²⁾。検出下限は一般細菌数と同様に 100 cfu/25cm² であった。

大腸菌数: ペトリフィルム EC プレート (3M) を用いて、説明書に記載の方法によって測定した¹³⁾。原液 1mL を接種したため、検出下限は 10 cfu/25cm² であった。

レジオネラ属菌数: 懸濁液 4mL を等量のレジオネラ酸処理液 (関東化学) と混合し、室温で

20 分反応させた後、段階希釈後の 1mL を GVPC 寒天培地に塗布し、37°Cで 7 日培養した¹⁴⁾。出現したコロニーは羊血液寒天培地 M58 および BCYE α 寒天培地に転培し、37°Cで 5 日間培養した。羊血液寒天培地 M58 で陰性、かつ BCYE α 寒天培地で陽性のコロニーをレジオネラ属菌として計数した。検出下限は 50 cfu/25cm²であった。

C. 結果および考察

C1. 試験管内での洗浄条件の検討

過炭酸ナトリウム、アスコルビン酸、酒石酸の量比を変えた場合(6 通り)に、過炭酸ナトリウム単独の場合と市販の洗浄剤を使った条件を加えた計 8 通りで、バイオフィルムの試験片を洗浄した(表 1)。

従来の洗浄方法である過炭酸ナトリウムの単独あるいは市販品を使用した場合(洗浄条件 7, 8)、いずれもバイオフィルムの除去率は 60%程度であった。市販品は説明書に従って 90 分間と洗浄時間を長くしたが、除去率の向上はほぼなかった。

過炭酸ナトリウムにアスコルビン酸と酒石酸を混合した新規の洗浄方法では、それぞれ 0.1%以上の等量で用いることで、除去率は 80 ないし 90%程度と従来法を上回ることができた(洗浄条件 3~5)。すなわち、薬剤の重量が従来の 3 割でも、従来以上の洗浄効果が得られた(洗浄条件 3)。薬剤量を 3 倍から 5 倍に増やすことで除去率は向上したが、1 ないし 2 割の範囲に留まった。一時の薬剤量を増やすよりも(洗浄条件 4, 5)、少ない量で 3 回、5 回と洗浄回数を増やすことが、衛生状態の維持や改善に好ましいと考えられた。

新規の洗浄方法に使用したアスコルビン酸を減らすと、除去率が低下した(洗浄条件 1,

2)。結果には示していないが、酒石酸を減らしても除去率が低下する恐れがあった。一方、助剤だけでは洗浄効果がなく、洗浄には過炭酸ナトリウムが必要であることを確認した(洗浄方法 6)。すなわち、バイオフィルム中の金属イオンがアスコルビン酸の還元剤の存在下で触媒として働き、フェントン様反応が生じて過炭酸ナトリウムによるバイオフィルムの除去・殺菌が効率よく働いたと考えられた⁷⁾。

以上の結果を受けて、洗浄条件 3 の方法を最善と判断し、この方法で実地の洗浄試験を進めた。

C2. 実地の浴場施設における洗浄

施設 A の試験では、新規の洗浄方法を実施中に、浴槽水の白濁する様子が見られたが、従来の方法にあった激しい発泡は認めなかった(図 2)。配管内部およびろ過器内部のふき取りにおいて、ATP 値の減少が確認された(表 3)。一般細菌数、従属栄養細菌数ともに減少が見られ、高い洗浄効果を示した(表 3)。すすぎは 2 回で完了した。

施設 B の試験では、新規方法による洗浄中に、バイオフィルム由来と思われる汚れが確認された(図 3)。ATP 値の減少、一般細菌数、従属栄養細菌数ともに検出限界未満まで減少する、高い洗浄効果が確認された(表 4)。すすぎは 3 回で完了した。

施設 C の試験では、新規方法による洗浄中に、浴槽水の濃褐色への変化が確認された(図 4)。洗浄前の ATP 値が低値であり評価不能であったものの、一般細菌数および従属栄養細菌数が検出下限未満まで減少した(表 5)。すすぎは 1 回で完了した。

施設 D の試験では、2 浴槽を用いて新規の洗浄方法と従来方法を並行して行った。新規

方法による洗浄では、浴槽水の褐色への変化が確認された(図 5B)。ATP 値の減少、一般細菌数、従属栄養細菌数ともに減少が見られ、高い洗浄効果が確認された(表 6)。すすぎは 2 回で完了した(表 7)。従来の洗浄法を実施した別の浴槽では、激しい発泡と共に浴槽水の褐色への変化が確認された(図 5D)。ATP 値と細菌数は、残念ながら洗浄前の測定値が低く、洗浄効果については評価不能であった(表 8)。すすぎは 5 回を要し、本研究内で最も回数が多かった(表 7)。

本報告では浴場施設の洗浄不足の解消を目的として、薬剤量の低減が可能となる、過炭酸ナトリウムに助剤を併用する新規の洗浄方法に着目した⁷⁾。浴槽水 1 m³あたり 6kg ないし 10kg の過炭酸ナトリウムが使われていた従来の方法に比べて³⁻⁶⁾、新規の洗浄方法では 1kg と量が大きく減少した。

従来の方法では発泡して過炭酸ナトリウムが消費されていくのに対して、新規の方法ではほとんど発泡をせず、有効な過炭酸ナトリウムの残留が長いこと、直接的にバイオフィームに作用できることが、減量できた理由と考えられた。助剤を含めて計算すると、10kg から 3kg へと 7 割の重量が削減され、新規の洗浄剤は従来に比べて取り扱いが相当に有利と考えられた。

営業施設での洗浄試験では、A~D のいずれにおいても洗浄効果が目視および細菌検査により確認された。一部の配管の拭き取りから検出限界付近のレジオネラの残存が見られたものの、この僅かな菌数から浴槽水への汚染の可能性は極めて低いものと考えられたため、繰り返しの洗浄には至らなかった。結果に示していないが、実際に、いずれの施設にお

いても洗浄後の浴槽水は、レジオネラ属菌が不検出であった。

例数は 1 回にとどまるが、新旧の作業負荷を施設 D において比較できた。薬剤量が減少することで、肉体的な作業負荷は明らかに低減した。すすぎ回数も削減できた(表 7)。施設 D のすすぎ工程は 1 回につき 60~90 分間を要し、3 回のすすぎ工程の削減は、4 時間以上の短縮を実現した。営業施設における洗浄は、休館日や営業終了後~翌日営業開始前の夜間などの空き時間に行われ、短時間に完了することが求められる。本来は洗浄時間を十分に取ることが望ましいが、24 時間営業や休業日のほとんど無いこともあり、洗浄時間の短縮は洗浄頻度と衛生の向上に有効と期待できた。

洗浄効果に施設間で若干の差が認められ、多くの測定結果は洗浄の前後で 99%以上の減少であったが、施設 A 配管部①においては 90%弱の減少にとどまった。元の菌数が大きいほど効果的な結果になりえるが、施設 C は、(施設 A と同様に)洗浄前の菌数が高くなっても洗浄効果が得られていた。施設 A に限って、バイオフィームの性質、水質、配管材質や表面の状態といった違いが考えられた。一方、試験管内実験の 70%を十分に超えた洗浄効果が得られており、90%にとどまることにこだわる必要はなさそうである。薬剤量を更に減少させるといった改良につながる可能性があり、詳細を検討する価値があるかもしれない。

D. 結論

バイオフィーム中のフェントン反応による新規の洗浄方法に着目し、最適な洗浄の条件を求めた。営業 4 施設の協力を得て、新規の洗浄方法を実施した。薬剤の使用量が重量にして従来の 3 割と低減したにも関わらず、9 割以

上の微生物除去の洗浄効果が得られて、洗浄後のすすぎの回数が減り、少ない労力で洗浄することができた。洗浄頻度の向上、浴場施設の衛生の向上が期待できた。

E. 参考文献

1. 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生課長、「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」の改正について、薬生衛発 1217 第 1 号
2. 泉山信司、長岡宏美、他「モノクロラミン消毒を導入した循環式浴槽を洗浄する必要性」、厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究(研究代表者、前川純子)」より、令和元年度分担研究報告書
3. 今関久和、過炭酸ナトリウムを用いた洗浄と施設設備の衛生上の問題及びその解決策、厚生労働省生活衛生課平成 30 年度生活衛生関係技術担当者研修会より、平成 31 年 2 月 (<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/0/000483756.pdf>, 2021/2/16 現在)
4. 縣 邦雄、配管洗浄の方法、厚生労働省生活衛生課平成 28 年度生活衛生関係技術担当者研修会より、平成 29 年 2 月 (<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujuhou-10900000-Kenkoukyoku/0000194934.pdf>, 2021/2/16 現在)
5. 林 宏美,源田 健,吉田裕行、塩素管理の改善に奏功した過炭酸ソーダによる配管洗浄事例、生活と環境 62(1), 43-45, 2017
6. 藤井明、河合自立、松田和也、杉山寛治、大畑克彦、鈴木光彰、加藤宏一、循環ろ過式モデル浴槽系内におけるバイオフィーム形成とその洗浄・殺菌について、生活と環境 51(2), 67-73, 2006
7. 特願 2020-186228
8. Hasegawa H, Tomiyama K, Kumada H, Kawata A, Higashi K, Takahashi O, Hamada N, Mukai Y. Antimicrobial effects of carbamide peroxide against a polymicrobial biofilm model. *Am J Dent.* 2015 Feb;28(1):57-60.
9. Garmy, K., Horn, H. & Neu, T.R. Interaction between biofilm development, structure and detachment in rotating annular reactors. *Bioprocess Biosyst Eng* 31, 619–629 (2008).
10. Wunder DB, Bosscher VA, Cok RC, Hozalski RM. Sorption of antibiotics to biofilm. *Water Res.* 2011 Mar;45(6):2270-80.
11. 一般細菌 別表第一に定める方法、水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法(平成 15 年厚生労働省告示第 261 号)より
12. 保坂三継、眞木俊夫、水の従属栄養細菌試験における培地並びに培養条件の検討、東京都立衛生研究所研究年報、2001、52、245-249
13. Feng P, Weagant SD, Grant MA, Burkhardt W, BAM Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria, in FDA, Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. (<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-esc>)

[herichia-coli-and-coliform-bacteria](#),

2021/2/19 現在)

14. 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(薬生衛発0919 第1号、令和元年9月19日)
15. 内閣、危険物の規制に関する政令の一部を改正する政令、(政令第405号、平成23年12月21日)
16. 草加八潮消防組合、「消防法上に新たな「危険物」が追加されます」(<https://soka-yashio119.jp/information/kikenbutsu.html>、2021/2/25 現在)
17. 林純薬工業(株)、安全データシート(MSDS、過炭酸ナトリウム)(<http://www.hpc-j.co.jp/pdf/msds/F2-16.pdf>、2021/2/26 現在)

F. 研究発表

誌上発表

1. Mori Y, Yanagimoto K, Yamamoto T, Nagai Y, Yoshimura H, Akachi S, Yamagami T, Uematsu K, Hisada Y, Nishio M, Yagi J, Izumiyama S, Initial Trials of Monochloramine Disinfection of Circulating Bathtub Water at Public Hot Spring Facilities and Determining its Efficacy. *Journal of Hot Spring Sciences*, 2020, 70, 50-60.
2. 森 康則, 赤地重宏, 永井佑樹, 吉村英基, 泉山信司. 温泉付随ガス分離設備におけるレジオネラ属菌の実態調査と対策. *温泉科学*, 69, 192-201 (2020)
3. 大河内由美子, 泉山信司, 前川純子, 紙上ミニシンポジウムI~水の衛生管理~

3.貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況, 日本防菌防黴学会誌, 2020, 48(8), 377-382

口頭発表

1. 藤井 明、松田宗大、小倉 徹、小倉諒太、植園健一、枝川亜希子、泉山信司、モノクロラミン管理下の循環浴槽におけるろ材付着バイオフィルムに対する各種消毒剤の効果、第47回建築物環境衛生管理全国大会、2020年1月、東京都

知的所有権の取得状況

特許申請・実用新案登録、その他

1. 特許出願中、配管の洗浄方法

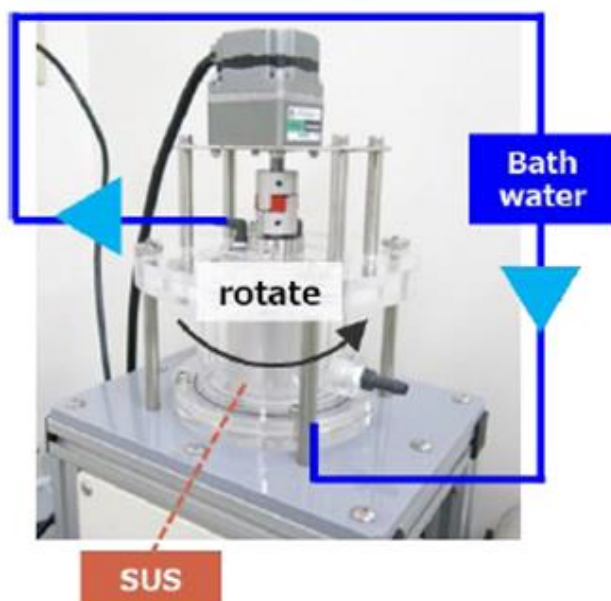


図1 バイオフィルムの生成

連続培養システム（アート科学社製）に 15mm×20mm（厚さ 1.5mm）のステンレス製の試験片(SUS)を設置し、とある施設から採取した浴槽水を 40°Cで 14 日間循環させることで、試験片上にバイオフィルムを発生させた。写真上の青字の線と矢印は浴槽水の循環、黒矢印は試験片の回転を表現している。

表1 試験管内での洗浄条件の検討

	洗浄条件 番号	1	2	3	4	5	6	7	8	
組成 (%)	過炭酸ナ トリウム	0.1	0.1	0.1	0.3	0.5	—	1	0.6	
	アスコル ビン酸	0.01	0.03	0.1	0.3	0.5	0.1	—	クエ ン酸	
	酒石酸	0.1	0.1	0.1	0.3	0.5	0.1	—	0.4* ¹	
pH		4.2	4.2	4.1	4.1	4.1	4.0	10.7	ND* ²	
洗浄時間 (分)		60							90	
バイオフィルム除 去率 (%)		37.7	53.8	77.1	91.2	90.0	10.0	60.5	63.0	

*1：市販の洗浄剤を使用し、アスコルビン酸と酒石酸は 0% *2：測定なし

表2 営業4施設の管理状況

施設、泉質	A、(井水)	B、アルカリ性単純泉	C、ナトリウム・カルシウム-塩化物泉	D、ナトリウム-塩化物泉
消毒方法	モノクロラミン	モノクロラミン	モノクロラミン	遊離塩素
配管洗浄頻度	1回/月	1回/年	数回/年(不定期)	1回/年
高濃度塩素消毒	1回/週	1回/週	1回/週	なし
浴槽(循環系)の大きさ	約7m ³	約20m ³	5.2m ³	D1: 8.3m ³ D2: 4.7m ³
実施した配管洗浄	新規方法	新規方法	新規方法	D1: 新規方法 D2: 従来の方法

A) 洗浄前

B) 洗浄中



図2 施設Aの新規方法による洗浄前後

表3 施設A洗浄試験

施設A	配管部①		配管部②		濾過器内部	
	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後
ATP値	301	63	355	0	1723	57
一般細菌数	3.5 x 10 ⁴	5.0 x 10 ³	5.5 x 10 ⁶	3.5 x 10 ³	1.3 x 10 ⁵	2.5 x 10 ³
従属栄養細菌数	4.1 x 10 ⁴	2.5 x 10 ³	2.4 x 10 ⁶	2.0 x 10 ³	7.1 x 10 ⁴	5.0 x 10 ²
レジオネラ属菌数	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満

ATP値 (RLU/25cm²) 菌数 (cfu/ 25cm²)



図3 施設Bの洗浄中、循環給湯口から浴槽に汚れが入ってきた様子

表4 施設B 洗浄試験

施設B	配管部①		配管部②	
	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後
ATP 値	9237	362	3598	118
一般細菌数	2.7×10^6	検出限界未満	1.7×10^7	検出限界未満
従属栄養細菌数	1.9×10^6	検出限界未満	4.5×10^6	検出限界未満
大腸菌数	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満
レジオネラ属菌数	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満

ATP 値 (RLU/25cm²) 菌数 (cfu/ 25cm²)

A) 洗浄前



B) 洗浄中



図4 施設Cの洗浄の前後

表5 施設C 洗浄試験

施設C	配管部①		配管部②	
	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後
ATP 値	0	2	19	3
一般細菌数	2.2×10^3	検出限界未満	4.0×10^2	検出限界未満
従属栄養細菌数	3.8×10^3	検出限界未満	3.4×10^4	検出限界未満
大腸菌数	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満
レジオネラ属菌数	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満

ATP 値 (RLU/25cm²) 菌数 (cfu/ 25cm²)

A) 新規方法による洗浄前 (浴槽 D1)



B) 新規方法による洗浄中 (浴槽 D1)



C) 従来方法による洗浄前 (浴槽 D2)



D) 従来方法による洗浄中 (浴槽 D2)



図5 施設 D における新旧の洗浄方法による発泡の比較

写真では発泡の多少を比較している。B の新しい洗浄方法では、若干の発泡で細かなクリーム状の泡が浮いている。D の従来の洗浄方法では、激しい発泡により大きな泡が浮き、水中にも泡が多く、色調はあまり変わっていないにもかかわらず底面が見えていない。B で底面が見えないのは、泡が理由ではなく、汚れに由来する濃い褐色が妨げている。

表6 施設 D (浴槽 D1) の新規方法による洗浄試験

施設 D (浴槽 D1) 新規洗浄方法	配管部①		配管部②	
	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後
ATP 値	1856	46	1637	9
一般細菌数	2.4×10^7	3.0×10^2	1.1×10^7	1.0×10^2
従属栄養細菌数	2.2×10^7	4.4×10^4	1.2×10^7	1.1×10^5
レジオネラ属菌数	$>2.0 \times 10^4$	検出限界未満	$>2.0 \times 10^4$	140

ATP 値 (RLU/25cm²) 菌数 (cfu/ 25cm²)

表7 施設Dにおけるすすぎ回数の比較（残留塩素濃度の回復度）

すすぎ回数	塩素残留率（%）				
	1	2	3	4	5
新規洗浄方法 （浴槽 D1）	63.8*1	100	-*2	-	-
従来方法 （浴槽 D2）	0	12.5	71.3	91.3	100

*1：塩素の残留率は、100%になれば塩素消毒が消失せず、すすぎが完了したことを表し、0%は塩素消毒がすべて消費されてしまい、すすぎが全く足りていないことを表す。*2：測定なし。新規の洗浄方法では塩素濃度が2回のすすぎだけで維持できるようになり、3回目以降のすすぎを行っていない。

表8 施設D（浴槽 D2）における従来洗浄試験

施設D（浴槽 D2） 従来方法	配管部①		配管部②	
	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後
ATP 値	2	1	0	0
一般細菌数	検出限界未満	5.0 x 10 ²	検出限界未満	検出限界未満
従属栄養細菌数	検出限界未満	2.0 x 10 ²	2.0 x 10 ²	3.0 x 10 ²
レジオネラ属菌数	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満	検出限界未満

ATP 値（RLU/25cm²） 菌数（cfu/ 25cm²）