

京都府内の掛け流し式温泉施設におけるレジオネラ等の実態調査

田口 寛 江崎 久雄 藤原 恵子

A Survey of the Legionella pollution in Public bathes using hot springs under the flow-through system in Kyoto Prefecture

Hiroshi TAGUCHI, Hisao ESAKI and Keiko FUJIWARA

キーワード：レジオネラ属菌、掛け流し式、温泉、清掃、LAMP法

key words : *Legionella*, flow-through system, hot spring baths, washing, LAMP method

はじめに

レジオネラ症の発生増加が懸念され、(財)ビル管理教育センターによりレジオネラ症防止指針⁹⁾が示されたにもかかわらず、循環式浴槽によるレジオネラ属菌の集団感染²⁻⁷⁾が多発し、また、種々の浴槽水からレジオネラ属菌の検出報告が続いている。このような事態に対応するため、厚生労働省は循環式浴槽の衛生管理に関するマニュアル⁸⁾を作成し、さらに各都道府県に、公衆浴場等の安全性に係る条例にレジオネラ症防止対策を盛り込むための指針^{3, 10)}を提示した。これを受け、京都府においても、平成16年10月に塩素消毒を基本的な衛生管理とする「京都府レジオネラ症発生予防のための入浴施設の衛生管理に関する条例」を公布した。

一方、多くの温泉利用者からは、塩素臭のない天然の温泉が求められており、衛生上の安全性が確保できていれば、塩素等の消毒剤は注入されない方が利用者の声に応じることになる。循環式温泉ではろ過方式を採用しているため、塩素消毒を行うことが不可欠であるが、掛け流し式温泉の場合、衛生管理を十分に行えば、塩素消毒剤を注入しないことも可能と考えられる。ただし、掛け流し式温泉においては、レジオネラ属菌をはじめとする微生物の汚染状況や維持管理方法等の実態が不明であり、また、泉質によっては塩素消毒が適用できない場合もあるため、安全性を確保するためには、これらの不確定要素を解明しておくことが必要である。

そこで、京都府における掛け流し式温泉の現況を把握するとともに、近年、その迅速性と簡便性により利用されてきているLAMP(loop-mediated isothermal amplification)法によるレジオネラ属菌検出の有効性について検討を行ったので報告する。

方法

1. 細菌検査

1.1 レジオネラ属菌

検水500mLをメンブランフィルター(ポリカーボネート製、径47mm、0.45 μ mメッシュ)でろ過し、そのフィルターから5mL滅菌水に菌を分離した。その中から2mLをとり酸処理後、0.1mLと0.2mLをGVPC(Glycine Vancomycin Polymyxin Cycloheximide)寒天培地に接種し、レジオネラ様コロニーをシステン含有と非含有BCYE α 培地(Buffered Charcoal Yeast Extract agar supplement with α -ketoglutarate)で確認後、検出されたレジオネラ属菌をデンカ生研(株)のレジオネラ免疫血清を用い同定を行った。

1.2 抗酸菌

1.1の濃縮液をアルカリ処理後、2%小川培地36°Cで培養し、コロニーからMiddlebrook7H10寒天培地に接種し5%CO₂孵卵器培養、更にMiddlebrook7H9プロスで増菌した。チールネルゼン染色にて抗酸菌であることを確認し、極東製薬工業(株)製DDH(DNA(Deoxyribonucleic Acid)-DNA Hybridization)で同定した。

1.3 大腸菌、大腸菌群

飛鳥純薬(株)製のコリラート培地を用い、3本法のMPN(Most Probable Number)法で定量を行った。

1.4 緑膿菌

食品衛生法の緑膿菌検査法¹¹⁾に準じ、推定試験をアスパラギンブイオン培地を用い、推定試験陽性液の1白金耳をポアメディアNAC(Nalidixic Acid Cetrinide)培地(栄研化学(株))に画線塗抹し、35°C48時間培養後、オキシダーゼ試験陽性、グラム無芽胞桿菌を確定して陽性とし、MPN法で菌数を計算した。

1.5 黄色ブドウ球菌

トリソイブイオンに試料10ml、1ml、0.1mlの3通りの容量で各3本接種し、35°Cで24~48時間培養後、その中から1白金耳を卵黄加マンニット食塩寒天培地(栄研化学(株))に接種し、35°Cで48時間培養した。卵黄反応陽性、

(平成19年8月31日受理)

グラム陽性、カタラーゼ陽性、コアグラゼ陽性菌を黄色ブドウ球菌とし、MPN法により菌数を求めた。

1.6 一般細菌数

標準寒天培地の塗抹法で、35℃48時間培養後、菌数を求めた。

1.7 従属栄養細菌数

R2A寒天培地の塗抹法で、25℃および42℃で7日間培養し、菌数を求めた。

1.8 アメーバの検査

遠藤らの方法¹²⁾に基づき、試料及び50倍濃縮した試料を大腸菌を塗布した寒天培地に1mL流し入れ、乾燥後40℃で培養し、精製したプラークを顕微鏡で観察し、アメーバ数を計測した。NaegleriaについてはPCR (Polymerase Chain Reaction) で種を同定した。

2. 理化学試験

水温、pH、残留塩素、水道水質基準検査方法告示¹³⁾に基づき、過マンガン酸カリウム消費量とTOC (全有機炭素Total Organic Carbon) の検査を行った。TOC計は、島津製作所製TOC-VCPHを用いた。

3. ATP (Adenosine Tri Phosphate) 試験

2施設の浴槽において、通常清掃後、更にブラシ等での清掃後の浴槽のふき取り試料について、ATP簡易測定器 (キッコーマン製ルミテスター PD-10D) を用い、ATP試験を行った。

4. LAMP試験

浴槽水と一部のふき取り試料についてLAMP試験を栄研化学製リアルタイム濁度測定装置を用い、機器付属のマニュアルどおりに行った。

5. 採水時期等

実態調査を平成17年10月3、4日、12月5日と18年8月29日、

10月16、17日に実施した。ふき取り調査は平成18年11月21日、12月14日と19年2月6日に行った。

結果と考察

1. 実態調査

1.1 施設状況及び理化学試験

京都府域に存在する掛け流し式温泉施設の中から7施設を対象とした。2施設は同じ温泉を使用し、1施設は2種類の温泉を混合して使用していた。これらのうち、2施設は平成17年と18年の2回調査を行った。表1に調査施設状況、表2に実態調査結果を示した。

対象施設の温泉は、6施設がアルカリ性単純温泉、1施設が単純弱放射能泉に属していた。泉質によるレジオネラ属菌の生息状況の違いは見いだせないという報告¹⁴⁾もあるが、最近の報告^{15、16)}ではアルカリ性単純泉や単純泉でのレジオネラ属菌の検出率が高いとされており、今回調査対象となった温泉では6施設がレジオネラ属菌に汚染されやすいと考えられる。

表1 調査施設状況

施設記号	温泉種類	泉温℃	貯湯槽	加温	塩消毒	浴槽材質	配管清掃
A	アルカリ性単純泉	27.1	あり	あり	あり	R C	なし
B	低張性弱アルカリ性単純泉	51.2 32	混合タ ク	なし	あり	タイル 石	あり (定期)
C	低張性アルカリ性単純泉	36.1	なし	なし	なし	タイル	なし
D	低張性弱アルカリ性単純泉	39.0	なし (注1)	あり	なし	タイル	なし
E	低張性弱アルカリ性単純泉	39.0	なし (注1)	あり	なし	タイル	なし
F	単純放射能泉	30.5	なし (注1)	なし (注2)	あり	石とタ イル	なし
G	アルカリ性単純泉	48.7	なし (注1)	あり	なし	タイル 石	なし

注1：源泉施設にあり 注2：源泉施設で実施

表2 実態調査結果

施設名	採取日	採水場所	現地検査		微生物学的検査													理化学的検査		
			湯温 (℃)	pH	残留塩素濃度 (mg/L)	レジオネラ属菌			宿主アメーバ (PFU/100mL)	一般細菌数 (CFU/mL)	従属栄養細菌 (42℃) (CFU/mL)	従属栄養細菌 (25℃) (CFU/mL)	大腸菌 (MPN/100mL)	大腸菌群 (MPN/100mL)	抗酸菌 (CFU/100mL)	緑膿菌 (MPN/100mL)	黄色ブドウ球菌 (MPN/100mL)	TOC (mg/L)	KMnO4 conc. (mg/L)	
						菌数 (CFU/100mL)	種	L.p 血清型												
A	2005/10/3	注湯口	39.0	8.6	1.0	0			0	8000	93%	560	0	0	0	0	0	0	<0.5	1.1
		内湯	38.3	8.2	0.4	0			0	32000	0	2200	0	0	10	0	0	0	0.6	2.0
B	2005/10/4	注湯口	41.7	7.1	0.0	0			0	420	32	30	0	0	0	0	0	0	<0.5	-
		内湯	41.2	7.2	0.0	0			0	32000	16000	200000	0	0	0	3	0	0	<0.5	-
C	2005/10/4	露天	37.1	7.2	0.0	20	※		0	8400	16000	3200	0	0	0	9	43	0	<0.5	-
		注湯口	34.3	7.8	0.0	0			0	4000	20	50	0	0	0	0	0	0	<0.5	1.3
D	2005/12/5	内湯	33.3	7.9	0.0	0			0	4800	40	260	0	0	0	0	4	0	-	4.3
		注湯口	45.0	8.5	0.0	0			0	1000	120	1600	0	0	0	0	0	0	<0.5	1.0
E	2005/12/5	内湯	37.0	8.6	0.0	0			0	140000	800000	1600000	0	0	0	3	0	0	<0.5	1.6
		注湯口	42.0	8.2	0.0	0			0	150	700	550	0	0	0	0	0	0	<0.5	1.0
F	2006/8/29	内湯	37.1	8.1	0.0	0			0	64000	1200000	2000000	0	0	0	>=2400	1100	0	0.6	1.5
		注湯口	41.8	8.4	0.1	5	pneum.	5	0	0	7	13	0	0	0	0	0	0	<0.5	0.9
G	2006/10/16	内湯	39.0	8.4	0.0	5	pneum.	6	60	200	270	370	0	0	10	0	0	0	<0.5	1.4
		注湯口	54.0	8.5	0.0	0			0	0	2000	0	0	0	0	0	0	0	0.6	1.8
C	2006/10/16	内湯	38.8	8.7	0.0	30	pneum.	5	0	130	80000	20000	0	0	0	0	0	0	0.5	1.5
		露天	36.9	8.7	0.0	50	pneum.	5	6	50	10000	3000	0	0	0	0	0	0	0.5	1.7
B	2006/10/17	注湯口	36.0	7.5	0.0	5	pneum.	13	0	0	300	0	0	0	0	0	0	0	<0.5	1.3
		内湯	34.4	7.3	0.0	0			0	24000	16000	24000	0	0	0	0	0	0	<0.5	1.6
B	2006/10/17	注湯口	43.5	6.8	0.0	40	pneum.	1	0	10	80	180	0	0	0	0	0	0	<0.5	1.5
		内湯	43.0	7.2	0.0	20	pneum.	1	2	700	4000	3200	0	0	10	0	9	0	<0.5	1.5
		露天	39.0	7.0	0.0	250	pneum.	1	120	3200	12000	10000	0	0	20	460	39	0	<0.5	1.4

※: dumoffiと不明

湯温が低いため加温している施設が4つあった。施設内では貯湯タンク及び、湯温の異なる温泉を混合するためのタンクをそれぞれ1施設で設置していた。また、注湯水や浴槽等の消毒に塩素を使用している施設が3施設あったが、浴槽水に残留塩素が検出されたのは1施設のみであった。塩素注入の管理が十分でないことが窺われた。

また、配管類の清掃が定期的に行われていた施設は1施設のみであった。レジオネラ属菌が検出された場合、効果的な対策は、配管・ろ過器の洗浄¹⁹⁾であるとされていることから、配管の洗浄についての指導が必要と思われる。

一方、浴槽の清掃方法は、ブラシがけのみが2施設、洗剤とブラシがけが5施設あった。頻度は施設の利用者状況により異なるが、入浴終了後に清掃が実施されていた。

温泉水のpHはすべて7~9の範囲にあった。pHが3以下の温泉ではレジオネラ属菌の汚染は少なく、中性付近ではpHの違いによる差がなく検出されることが報告されており¹⁹⁾、今回の施設でもレジオネラ属菌の検出の可能性はある。

TOCは注湯水、浴槽水ともすべて0.6mg/L以下であったが、過マンガン酸カリウム消費量の平均値は、注湯水の場合が1.2mg/L、すべての浴槽水の場合、1.8mg/Lであり、浴槽水の方が高くなっていた。この理由は、入浴者からの有機物汚染によるものと推測されるが、水質改善が希釈による以外にない掛け流し式温泉においては、加える注湯量が大量でなければ有機物の汚染が増加していくことが考えられた。

1.2 細菌検査

細菌検査の結果を表2に示した。

レジオネラ属菌は、17年度の検査では1施設の露天風呂のみから検出されただけで、その分離された4株のうち、2株が *Legionella dumoffi* で、残りの2株は同定不能株であった。同じ施設での18年度調査では、注湯水と内湯、露天の浴槽水から検出され、いずれも *Legionella pneumophila* の血清型1であった。血清型1は集団感染事例において最も頻繁に分離されているタイプである^{2, 18~20)}。循環式浴槽での調査では血清型1の検出割合が増加してきており^{14, 21)}、その原因として不十分な塩素消毒との関連性²²⁾が指摘されている。循環式と異なっているが、この施設でも塩素消毒が実施されているものの、浴槽水等には残留塩素が検出されておらず、この指摘と一致していた。

G施設の浴槽水から30~50CFU/100mL検出され、*L. pneumophila* の血清型5が分離された。他府県での温泉水の調査でも、この血清型の検出割合が高いことが報告されている^{23~25)}。その他2施設の試料水から低量であったがレジオネラ属菌が検出された。

レジオネラ属菌の宿主アメーバについては、レジオネラ属菌が検出された1施設と検出されなかった1施設から検出され、前者では小型のアメーバ、後者は、*Naegleria lovaniensis* が分離された。レジオネラ属菌が増殖する前

に、アメーバ類が増殖することが報告されていることから²⁶⁾、アメーバ類が検出されたことにより、これらの生息環境としての生物膜が存在する可能性が示された。

一般細菌数の平均値は、注湯水では1600CFU/mL、浴槽水で29000CFU/mL、42°C及び25°Cで培養された従属栄養細菌の平均値は、注湯水では、400CFU/mL、360CFU/mL、浴槽水で140000CFU/mL、360000CFU/mLとなり、いずれも浴槽水で大きく増加していた。この結果は有機物汚染指標の過マンガン酸カリウム消費量の結果と一致しており、毎日換水していても、入浴者からの汚染が生じていると考えられた。

大腸菌及び大腸菌群はいずれの試料からも検出されなかった。旅館等の浴槽水の管理基準では、「大腸菌が不検出であること」とされているが、いずれの施設もこの基準に適合していた。しかし、浴槽水から大腸菌が検出されたという報告¹⁶⁾も多くあり、今回の調査でも過マンガン酸カリウム消費量や一般細菌数の増加が見られていることから、人為的な汚染には注意していく必要がある。

抗酸菌については、3施設の浴槽水から10~20CFU/100mL検出された。分離された株は、*Mycobacterium avium*、*M. gordonae*、*M. triplex*、*M. szulgai*、*M. scrofiaceum*と同定された。結核菌群に属する種類は分離されなかったが、非定型抗酸菌症の病原性を持つ *M. avium* と *M. scrofiaceum*³⁰⁾が分離された。*Mycobacterium* はレジオネラ属菌と同じく、細胞内増殖細菌³¹⁾であり、アメーバ類に寄生して増殖するため、生物膜が形成されている場合は注意を要する。

緑膿菌及び黄色ブドウ球菌は注湯水からは検出されなかった。浴槽水からそれぞれ4施設で検出され、そのうち3施設は同じ施設であった。緑膿菌の最高が2400CFU/100mL以上で、黄色ブドウ球菌の最高が1100MPN/100mlであった。検出された両菌はいずれも薬剤耐性菌ではなかった。緑膿菌はWHOの管理基準³²⁾として10CFU/100mL、黄色ブドウ球菌は目標値として30CFU/100mLが示されており、それを超える施設があったことは、注意を要することである。

2. ふき取り検査 (ATP試験)

2.1 F施設

この施設の浴槽は、岩とタイルからなっており、岩と岩あるいは岩とタイルの目地のくぼみがコンクリート等の補修により浅くなっていた。

8月29日の実態調査採水時において、浴槽等に水垢等による汚染が見られたことや、微量であったがレジオネラ属菌が検出されたことから、11月21日にATPふき取り検査を行った。通常の塩素系洗剤とブラシ清掃後に行った結果は図1のようになり、石の接合部においても最高618RLU (Relative Light unit) 程度であった。非常に低い汚染レベルであり、見た目にも採水時の様相と異なっており、ふき取り検査に入る前に徹底的に清掃されていたことが窺われた。また、表3に示したように、注湯

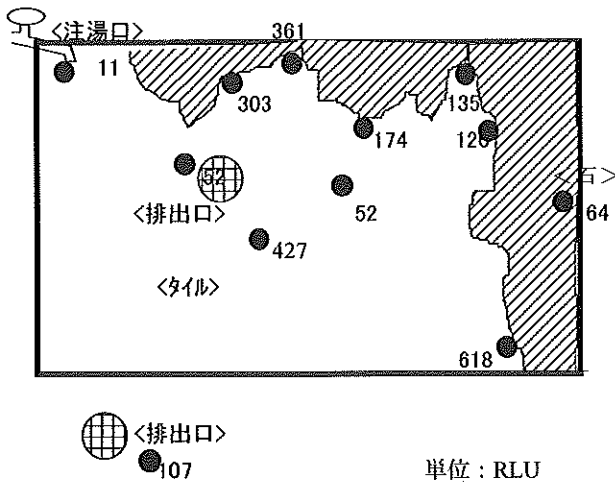


図1 F施設浴槽ふき取り検査結果: ATP試験

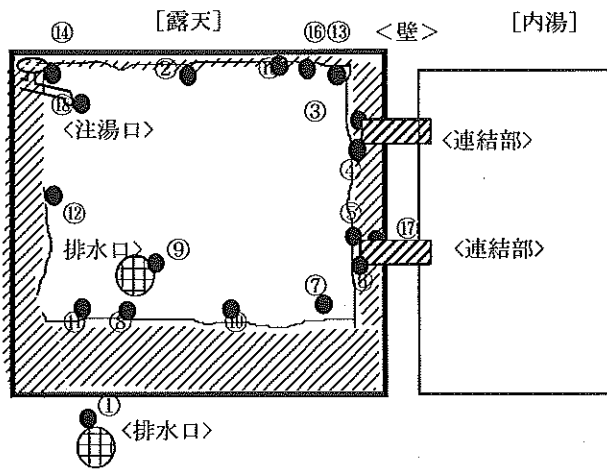


図2 G施設浴槽ふき取り検査箇所: 露天風呂

後の浴槽水のレジオネラ検査でもレジオネラ属菌は検出されなかった。

2.2 G施設

この施設は図2のように、内湯と露天が直径約10cmの2つの穴で繋がっているが、両方の穴とも通常は蓋をしたままで湯の繋がりはない。内風呂はタイル造り、露天風呂は岩風呂であった。

実態調査では、注湯水からレジオネラ属菌が検出されず、内風呂の浴槽水と露天風呂水からレジオネラ属菌が

表3 ふき取り調査後浴槽水等試験結果

施設名	採取日	採水場所	現地検査			微生物学的検査					理化学的
			湯温 (°C)	pH	残留塩素濃度 (mg/L)	レジオネラ属菌		宿主アメラバ	従属栄養細菌	TOC	
						菌数 (CFU/100mL)	種	Lp血清型	(PFU/100mL)	(CFU/mL)	(mg/L)
F再	2006/11/21	注湯口	41.1	8.4	0.2	5	pneum.	3	0	14	<0.5
		内湯	34.0	8.5	0.0	0			0	260	<0.5
G再	2006/12/14	注湯口	53.5	8.8	0.0	0			0	380	<0.5
		内湯	39.6	9.0	0.0	10	pneum.	10	2	240	<0.5
		露天	40.2	9.1	0.0	40	pneum.	10	0	280	<0.5
G再再	2007/2/6	注湯口			0.0	0			0	48	<0.5
		露天			0.0	10	pneum.	5	0	36	<0.5

検出された。そこで、露天風呂について、通常のブラシ清掃後に1回目のATP試験を実施した。結果を表4に示した。

岩の目地のところでは、1585~60056RLU、内風呂との連結部で、2074~34418RLUであった。多くのところで10000RLU以上の結果となり、目地の清掃が不十分であることがわかった。また、注湯後の浴槽水 (表3中G再)では *L. pneumophila* の血清型10が検出された。ふき取り検査後のATP値が高値を示した⑥、⑧、⑬を培養したところ、*L. pneumophila* の血清型5と10が検出され、ふき取り検査後を含め2回の浴槽水検査で検出された血清型と同じ菌株が分離された。浴槽水の汚染が清掃不十分などから生じていることが明らかとなった。

連結部と岩の目地の深い部分の清掃が不十分であった旨を施設に説明し、2ヶ月後に再度ATPふき取り検査を行った。

施設が通常行っている洗剤とブラシ清掃後の結果では、前回高値を示した岩の目地部分が3051RLUと前回より1桁低かった。また、連結部でも969~3069RLUと前回より1桁低くなり、より丁寧に清掃が行われていたことが窺われた。しかし、前回に気がつかなかった連結部の奥に手が入りづらい箇所があることがわかり、43020RLUと高い値を示した。

それらをブラシで更に清掃した後は、岩の目地では373RLU、連結部ではそれぞれ4440RLU、703RLU、12550RLUとなった。更に、連結部等へ3%の塩素水を噴霧し3分放置後洗い流した後では、10255RLU、269RLU、10784RLUとなり、さらにブラシで強くこすった後では、584RLU、1888RLU、250RLUとなった。増加した場合は、目に見えない箇所ですべて同じ範囲のふき取りができなかったためか、ブラシでの洗浄が不十分であったためか不明であった。図示すると図3のようになり、ブ

表4 G施設のふき取り検査結果 (ATP試験結果: 単位RLU)

箇所	1回目ふき取り調査: 通常清掃後	2回目ふき取り調査			
		通常清掃後	ブラシ洗浄後	高濃度塩素噴霧後	ブラシ洗浄後
①排水口	5348	779			
②排水口	891				
③連結部	2074				
④連結部	17030	2079			
⑤連結部	13612	989	703	269	1888
⑥連結部	34418	3069	4440	10255	584
⑦目地	3536	779			
⑧目地	60056	3051	373		
⑨目地	1585				
⑩目地	21792	1065			
⑪目地	10491	809			
⑫目地	6206				
⑬目地	46056	1045	1852	385	
⑭目地	7190				
⑮目地	33339				
⑯目地	2180				
⑰連結部		43020	12550	10784	250
⑱パイプ		5335	3379		

ラシによる洗浄効果が大きいことが分かった。

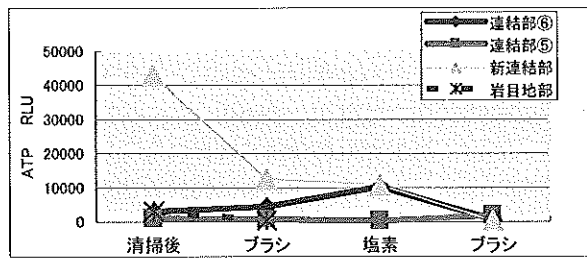


図3 清掃効果

また、温度を下げるための注湯水に塩ビパイプを繋いで使用する場合もあることが分かり、その部分の出口付近では、5335RLUの値を示した。パイプ内部の洗浄についても今後実施するよう指導した。

しかし、注湯後の浴槽水検査で、*L. pneumophila* の血清型5が10CFU/100mL検出された(表3中G再再)。まだ、清掃が不十分であったことがうかがわれた。

洗にくい目地の奥や連絡管のように奥まったところでATP値が高く、清掃し難い箇所に生物膜が形成され、レジオネラ属菌の生息場所となっている可能性があると推測される。

今回行ったATP検査方法では、ふき取り面積を一定にすることは難しく、また、正確に同じ箇所をふき取ることができないことから、精度の面で問題が残るが、おおむね清掃が進むにつれて減少傾向を示した。すなわち、ATP検査は短時間でしかも簡単に微生物汚染が分かり、汚染状況の把握には有効と思われた。汚染の有無は1000~2000PLU付近で判断できるのではと思われるが、基準を1000RLU以上とする提言も報告されている¹⁵⁾。今回の調査の洗浄方法はブラシ使用と塩素剤の使用であったが、生物膜を直接除去できるブラシによる物理的な方法を行うことが有効である結果となった。施設ごとに異なる維持管理方法が必要とされている¹⁷⁾が、最も単純な清掃を徹底的に行うことが重要なことであり、浴槽についてはブラシの有効性を示す報告が他にもある¹⁶⁾。

3. LAMP試験

浴槽水等24試料を検査した結果をまとめると表5のようになり、陽性検体数が培養法の17検体、LAMP法15検体となり、両者とも陽性の場合が11検体であった。LAMP法では陽性で、培養法では陰性の4試料のうち、3つは同一箇所の50数度に加温している注湯水(採水日時が異なる)であり、加温前でのレジオネラ属菌の汚染が考えられた。逆のLAMP法が陰性で、培養法が検出された6例は10CFU/100mL付近の菌量が少ない場合で、うち2

例の再検査では陽性となったことから、LAMP法における熟練を要する濃縮操作での試料回収の損失によるものと考えられた。一方、培養法の20CFU/100mL以上ではすべてLAMP法で陽性であった。

今回の調査結果では、基準値とされている10CFU/100ml¹¹⁾付近での少ない菌量の場合には課題が残っているが、10CFU/100mL以上では100%LAMP法陽性という報告³³⁾もあり、ノロウイルス³⁴⁾やインフルエンザ³⁵⁾、サルモネラ³⁶⁾や腸管出血性大腸菌³⁷⁾等の検査に用いられてきているように、レジオネラ属菌の汚染度合が大きい場合には、LAMP法は簡易な迅速法として有用なことが確認できた。

また、G施設でのATP検査で高値となったふき取り試料の培養法では、1回目は陽性となったにもかかわらず、2回目は陰性となった。これについては、塩素系洗剤が用いられていたことがその原因と思われた。しかし、同じ試料でのLAMP法では両者とも陽性となった。

100mg/Lの高濃度塩素接触を10分程度行えばDNA本体が分解され、PCR法による検査で不検出となり³⁸⁾、遊離残留塩素10mg/Lでは30分間でPCRで不検出となる³⁹⁾ことが報告されており、このような場合には原因究明にPCR法は適用できないと考えられる。さらに、レジオネラ属菌は残留塩素0.4mg/Lで15分⁴⁰⁾、遊離残留塩素0.2mg/Lでは10分で増殖不能となり、PCR法では24時間後で不検出となったと報告³⁹⁾されている。レジオネラ属菌が培養できない低濃度の残留塩素下でも、汚染源から順次供給される場合にはLAMP法で検出できることがあると考えられ、LAMP法はレジオネラ属菌汚染を検出する有用な検査方法と考えられる。更に、LAMP法の迅速性は、現場での指導等にとっては有意義なことであり、大阪府においては、LAMP法とRT-PCR (Real Time-PCR) を含む迅速検査法が行政対応に利用されている⁴¹⁾。京都府においても積極的な利用を検討していきたい。

おわりに

本調査は、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」の中の事業として実施されたものである。

抗酸菌の同定に際し国立感染症研究所山崎和生先生、緑膿菌、黄色ブドウ球菌の薬剤耐性試験は静岡県環境衛生科学研究所杉山寛治先生、調査全般に保健所及び生活衛生室担当にお世話になり、ここに深謝いたします。

表5 培養法及びLAMP法による浴槽水試料の判定結果

試料番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
培養法による結果	0	0	10	5	5	0	30	50	5	0	40	20	250	5	0	0	10	40	10	5	15	180	0	10
LAMP法による結果	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+

まとめ

1. 掛け流し式温泉施設においてもレジオネラ属菌が検出される場合があった。浴槽の清掃等の管理が重要であり、今回の調査では、物理的なブラシ洗浄の効果が大きくあらわれた。
2. ATP試験を用いたふき取り検査は、現場での微生物汚染の判定のために利用できることが分かった。
3. レジオネラ属菌による汚染がある場合の迅速検査としてLAMP法は有用であることが分かった。

引用文献

- 1) 厚生省生活衛生局企画課監修 新版レジオネラ症防止指針：(2000)、(財)ビル管理教育センター
- 2) 病原微生物検出情報、24、27(2003)
- 3) 吉國謙一郎ほか：病原微生物検出情報、24、31(2003)
- 4) 鈴木泉ほか：第16回公衆衛生情報研究協議会研究会、20(2003)
- 5) 河野喜美子ほか：病原微生物検出情報、24、29(2003)
- 6) 大道正義ほか：平成14年度厚生労働科学研究費補助金(健康科学総合研究事業)「地域における地方衛生研究所の健康危機管理のあり方に関する研究 分担研究：健康危機管理のための地域での連携体制の構築に関する研究」、123(2003)
- 7) F.KURA et al: Epidemiol. Infect., 134、385(2006)
- 8) 厚生労働省健康局生活衛生課長通知”循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアルについて”平成13年9月11日、健衛発第95号(2001)
- 9) 厚生労働省健康局長通知”公衆浴場法第3条第2項並びに旅館業法第4条第2項及び同法施行例第1条に基づく条例等にレジオネラ症発生防止対策を追加する際の指針について”平成14年10月29日、健発第1029004号(2002)
- 10) 厚生労働省告示264号”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(2003)
- 11) 日本薬学会：衛生試験法注解2004、東京
- 12) 遠藤卓郎：平成14年度厚生労働科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)「温泉・公衆浴場、その他の温水環境におけるアメーバ性髄膜炎の病原体 *Naegleria fowleri* の疫学と病原性発現に関する研究 平成14年度総括・分担研究報告書」(2003)
- 13) 厚生労働省告示第261号”水道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7月22日(平成19年3月30日一部改正)(2004)
- 14) 古畑勝則ほか：感染症学雑誌、78、710(2004)
- 15) 倉文明：厚生労働科学研究費補助金地域健康危機管理研究事業「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」(2007)
- 16) 井上博雄：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」(2007)
- 17) 岩谷美枝ほか：水処理技術、45、77(2004)
- 18) Yousef Abu Hwaik et al: Appl. Environ. Microbiol., 64、3127(1998)
- 19) 病原微生物検出情報、21、166(2000)
- 20) 杉山寛治ほか：病原微生物検出情報、21、188(2000)
- 21) 遠藤卓郎：第5回全国レジオネラ対策会議資料、21(2007)
- 22) 岡田美香ほか：感染症学雑誌、79、365(2007)
- 23) 黒木俊郎ほか：感染症学雑誌、72、156(1998)
- 24) 藪内英子ほか：感染症学雑誌、68、549(1994)
- 25) 瓜生佳世ほか：福岡市保健環境研究所報、28、117(2003)
- 26) 藪内英子ほか：臨床と微生物、25、11(1998)
- 27) 楠くみ子ほか：東京衛研年報、53、14(2002)
- 28) 大畑克彦ほか：防菌防黴、32、593(2004)
- 29) 厚生省環境衛生局長通知”公衆浴場における水質等に関する基準”昭和38年10月23日、環発第477号(1963)
- 30) <http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/epid/2006/tbkj2702.html>、東京都感染症情報センター(アクセス平成19年6月15日)
- 31) Jadwiga et al: Res. Microbiol., 152、613(2001)
- 32) WHO: Guideline for safe recreational waters. Vol2(2006)
- 33) 井上浩章ほか：防菌防黴、32、481(2004)
- 34) Fukuda S. et al: Microbiol. Immunol., 51、547(2007)
- 35) Jayawardena S. et al: Emerg. Infect. Dis., 13、899(2007)
- 36) Hara-Kudo Y. et al: FEMS Microbiol. Lett., 253、155(2005)
- 37) Hara-Kudo Y. et al: J. Med. Microbiol., 56、398(2007)
- 38) A.K. Bei ほか：Appl. Environ. Microbiol., 57、597(1991)
- 39) 井上浩章ほか：防菌防黴、32、383(2004)
- 40) 藪内英子ほか：感染症学雑誌、69、151(1995)
- 41) 浅野陽子：第50回全国環境衛生大会要旨集、22(2006)