

山梨県内のレジオネラ属菌の消毒が困難な 浴用水におけるモノクロラミンの消毒効果

柳本恵太 高村知成 植松香星

Antiseptic Effect of Monochloramine Treatment on *Legionella* in Hot Water
Used for Baths and Difficult to be Disinfected

Keita YANAGIMOTO, Chisei TAKAMURA and Kosei UEMATSU

キーワード：モノクロラミン、レジオネラ、温泉、アルカリ性

レジオネラ属菌は河川や土壌など自然界に広く分布するグラム陰性桿菌である。本菌を含むエアロゾルを吸入すると四類感染症に指定されているレジオネラ症が引き起こされることがある。全国のレジオネラ症の報告数は10年間で7～8倍¹⁾に増加しており、山梨県内においても同様であることから早急な対策が必要となっている。レジオネラ症の主な感染源は公衆浴場であることから、公衆浴場では次亜塩素酸ナトリウム（塩素）を用いた消毒を行い、感染防止対策を行っている。しかし、特に温泉水を利用している施設では浴用水のpHが高い場合やアンモニウムイオンなどの成分が含まれている場合があり、このような施設では塩素消毒の効果が低下することが知られているため、効果的な消毒方法が求められている。

このような状況の中で、結合残留塩素の一種であるモノクロラミン（MC）による浴用水の消毒効果が検討されている。MCは比較的高いpHにおいても消毒効果を発揮し、消毒副生成物が少なく、いわゆる塩素臭を発しないという特徴があるため、塩素消毒が適さない浴用水に有用である可能性が報告されている²⁻⁵⁾。一方、山梨県内の公衆浴場ではpH10を超える温泉が複数存在しているが、このような泉質においてMCが十分な消毒効果を示すことを確認した報告はない。そこで本研究では山梨県内の塩素消毒が困難と思われる浴用水を用いて、MCによるレジオネラ属菌の消毒効果、消費量および安定性に関する検討を行った。

材料および方法

1 浴用水

山梨県内の公衆浴場のうち過去にレジオネラ属菌の行政検査歴がある、遊離残留塩素が十分に検出されているにも関わらずレジオネラ陽性になったことがある、塩素消毒が困難と思われる泉質であるという3点を考慮し、県内全域から10施設（No. 1～10）の浴用水を選定した。また、コントロールとして浴用水に水道水を用いている1施設（No. 11）を選定した。浴用水は塩素処理がされていない源泉タンクおよびその周辺から採取した。

2 使用菌株

消毒効果の判定には浴槽水由来 *Legionella pneumophila* SG1（菌株番号 10-6-Leg）を用いた。

3 MCの調整

MCの調整方法は杉山ら³⁾の方法に準じて行った。すなわちNaOHを用いて超純水をpH8.4に調整し、その12.5 mLに5%次亜塩素酸ナトリウム溶液を300 μ L添加し、次いで10%塩化アンモニウム溶液312.5 μ Lを添加、攪拌後の溶液を1200 mg/L MC溶液として使用した。

4 MC濃度測定

杉山ら³⁾の濃度測定方法に準じ、MCの濃度は全残留塩素で測定した。なお、MC溶液から遊離残留塩素は検出されなかった。

5 MCの消毒効果

菌株をBCYE α 寒天培地で35℃、3～4日間培養後、各浴用水に10⁶ CFU / mLとなるよう菌株を懸濁した。MCを3 mg/Lに調整した各浴用水を40℃でインキュベートし、1、5、10、30分後にチオ硫酸ナトリウム溶液で中和後、各浴用水を希釈、BCYE α 寒天培地に塗布し、35℃で4日間培養した。得られたコロニーをカウントし、希釈倍率が

ら生菌数を測定した。測定は2回行い平均値を採用した。同様の操作を0.4 mg/Lの塩素についても行った。消毒効果の評価はヨーロッパ標準殺菌効力試験法の改良型⁶⁾

(EN法: 生菌数が 10^5 以下に減少で有効と判定)により行った。

6 薬剤消費量の測定

各浴用水にMCまたは塩素を添加し、投与量から測定値を引いた値を消費量とした。測定は3回行い、平均値をMC消費量または塩素消費量とした。

7 浴用水中での安定性

MCは3 mg/L、塩素は0.4 mg/L程度に調整した各浴用水を容器内で密封せず40℃の恒温槽で30、60、90、120分後にMCまたは塩素濃度を測定した。測定は2回行い、平均値を採用した。

結果と考察

1 MCの消毒効果

EN法による評価により、消毒時間30分においてMCはNo.1~10 (pH7.5~10.3)の浴用水全てで有効と判定された。一方、同条件で塩素は7浴用水が無効と判定された。MCが有効で塩素が無効であった浴用水はpHが9を超えているか、アンモニウムイオンが高い施設であった。特に、pHが10を超えるNo.1~3の3施設の浴用水ではMCは塩素と比較し10、30分の生菌数が 10^4 CFU/mL程度低かった。MCはpHが高い浴用水ほど効果が低い傾向にあったが、例外として、 H_2S を0.2 mg/kg含む硫黄泉であるpH9.2のNo.5の消毒効果はpH10を超えるNo.1、2や、pH10で H_2S を含まない単純硫黄泉であるNo.3よりもわずかに低かった。また、No.5での消毒効果はpH9.2のNo.9よりも明らかに低かった(表)。これらの結果より、MCは H_2S による消毒阻害作用を受ける可能性が高いことが確認された。

倉ら⁷⁾は、pH8.8の緩衝液において3 mg/LのMCによる15分間の処理で、遠藤ら⁸⁾は9分以内に 10^6 CFU/mLのレジオネラが非検出となったと報告している。今回の結果においてもpH9未満の浴用水は5分以内に検出下限値未満となっており、これらの結果とほぼ同様の傾向であることが確認された。

これらのことからMCは特定の成分を含む場合を除き、pH10を超える浴用水においても塩素より安定的に消毒効果が得られることが示唆された。

2 薬剤消費量の測定

MC消費量と塩素消費量を比較すると、0.1 mg/L以上の差が出た浴用水は7施設あり、全てでMC消費量の方が低かった。特に、硫黄泉であるNo.3や5、または過マンガン酸カリウム消費量が高いNo.8では両薬剤消費量が大きく、差についても大きかった(図1)。これらの結果から、浴用水中においてMCは塩素と比較し消費される物質がより少ないことが考えられた。

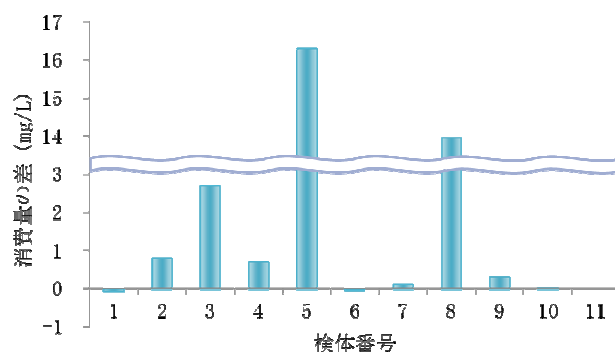


図1 塩素とMCの消費量の差 (塩素消費量-MC消費量)

3 浴用水中での安定性

MC濃度は H_2S を含む硫黄泉であるNo.5については30分後から大きく減少し、120分後には検出下限値未満となった。この結果はNo.5のMC消毒効果が低いという結果と密接に関連していると考えられた。No.5以外の全ての浴用水は120分後の濃度が添加直後の濃度と比較し、

表 MC 3 mg/L、塩素 0.4 mg/L での経時的生菌数変化 (対数値) (黄色部はEN法で有効と判定された条件)

検体番号	pH (40℃)	NH ₄ (mg/kg)	過マンガン酸 カリウム消費量 (mg/kg)	MC				塩素			
				1	5	10	30	1	5	10	30 (分)
1	10.1	-	<5	-0.7	-3.4	<-5	<-5	-0.6	-0.7	-1.1	-2.1
2	10.3	-	<5	-0.9	-2.7	<-5	<-5	-0.3	-0.5	-1.0	-1.7
3	10.0	-	<5	0.1	-1.3	<-5	<-5	0.0	-0.2	-0.5	-1.2
4	8.4	<5	<10	-0.5	<-5	<-5	<-5	<-5	<-5	<-5	<-5
5	9.2	<1	<10	-0.3	-1.6	-2.6	<-5	-0.1	-0.5	-2.3	-4.4
6	7.5	<50	<5	-0.7	<-5	<-5	<-5	-1.9	-2.2	-2.4	-3.1
7	9.6	-	<5	-0.4	-2.5	<-5	<-5	0.3	0.2	-1.7	-1.8
8	8.3	<1	<100	0.3	<-5	<-5	<-5	-0.9	<-5	<-5	<-5
9	9.2	<1	<5	-0.3	-3.4	<-5	<-5	-0.8	-1.9	-3.4	<-5
10	9.4	-	<5	-2.5	<-5	<-5	<-5	-0.7	-0.9	-2.4	-2.8
11	8.0	-	-	<-5	<-5	<-5	<-5	-4.9	<-5	<-5	<-5

25～50 %程度の減少に留まった。一方、塩素では120 分後においても濃度減少が少ないもの、120 分後の濃度が40～70 %程度減少するもの、急激に濃度が減少し検出下限値未満またはその付近になるものなど浴用水により安定性が大きく異なった。MC と塩素を比較すると、No. 4, 7, 8, 9 では塩素は検出下限値未満またはその付近となった一方、MC は30～50 %程度の減少であった。また、No. 5 においては塩素は60 %程度の減少に留まった。全体的にはMC の安定性の方が高い傾向にあった (図2)。浴槽水におけるMC の消毒濃度はWHO のバックグラウンドキュメント等を参考に3 mg/L で運用されている³⁾一方、塩素消毒濃度は通常0.2～0.4 mg/L で運用されている。MC は約10 倍の濃度管理が必要であるが、使用する浴用水での消費量と安定性によっては塩素よりも少ない薬剤量で運用することができると考えられた。

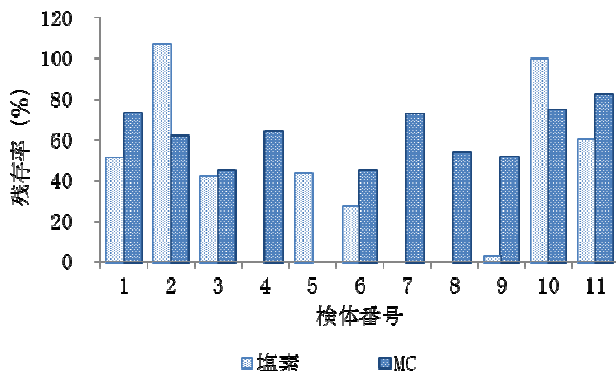


図2 添加直後の濃度と比較した120 分後のMC、塩素の残存率

まとめ

今回の検討の結果、塩素と比較しMCは対象としたpH10を超える浴用水を含む全ての浴用水において高い消毒効果を示した。また、塩素と比較しほとんどの浴用水で薬剤消費量が抑えられ、浴用水中での安定性も高いなど、濃度調節が比較的容易であることが示唆された。これらの結果は、塩素消毒が適さない公衆浴場においてMCは有用な消毒剤である可能性が高いことを示している。ただし、 H_2S を含む浴用水ではMCの濃度減少が著しく、消毒阻害作用が確認されたことから運用は困難であると考えられた。また、公衆浴場におけるレジオネラはバイオフィームなどの保護下にあるため、今回と同様の結果が得られるとは限らないことから、消毒に過度に依存せず、清掃による衛生管理についても重要であると考えられた。

謝 辞

浴用水の採水にご協力いただいた山梨県中北保健所、中北保健所峡北支所、峡東保健所、峡南保健所、富士・

東部保健所の衛生課の皆様、および各浴用水管理施設の皆様に感謝いたします。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所：発生動向調査年別報告数一覧（全数把握 四類），<http://www.niid.go.jp/niid/ja/survei/2085-idwr/ydata/5672-report-ja2014-20.html>（最終検索日：2016年6月6日）
- 2) 田栗利紹ら：モノクロラミン消毒による入浴施設の衛生管理（長崎県の実施例），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23年度総括・分担研究報告書，47-52（2012）
- 3) 杉山寛治ら：モノクロラミン消毒による浴槽レジオネラ属菌の衛生対策，保健医療科学，**59**，109-115（2010）
- 4) 佐原啓二ら：モノクロラミンによる循環式浴槽の消毒効果について—営業施設における検証試験—，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，27-38（2013）
- 5) 神野透人ら：消毒副生成物の暴露評価，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，49-58（2013）
- 6) 秋山茂，坂上吉一：レジオネラ属菌に対する殺菌・消毒剤の効果判定方法の検討，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の消毒方法に関する研究」平成21年度総括・分担研究報告書，93-99（2010）
- 7) 倉文明ら：浴槽水から分離されるレジオネラ属菌に対するモノクロラミンの殺菌作用，厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）「公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究」平成21年度総括・分担研究報告書，17-21（2010）
- 8) 遠藤卓郎，倉文明，泉山信司：モノクロラミンのレジオネラに対する殺菌作用，厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）「公衆浴場におけるレジオネラの消毒方法に関する研究」平成20年度総括・分担研究報告書，15-24（2009）