

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 主任研究官

2019R1～2021R3 「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」

レジオネラ症とは

レジオネラ・ニューモフィラ

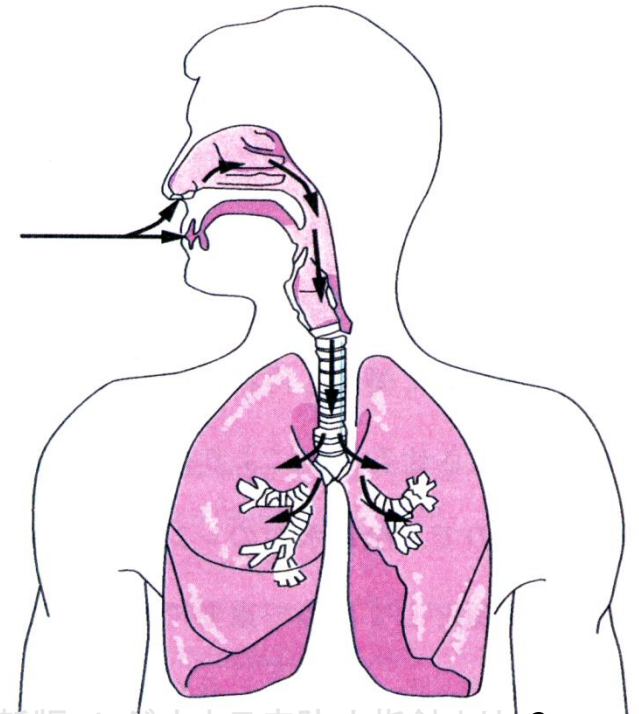
*Legionella pneumophila*を代表とするレジオネラ属菌による
呼吸器系の感染症

環境からエアロゾルの飛沫で感染し、ヒトヒト感染しない
(溺水でも感染、ワクチンがない)

重症 レジオネラ肺炎

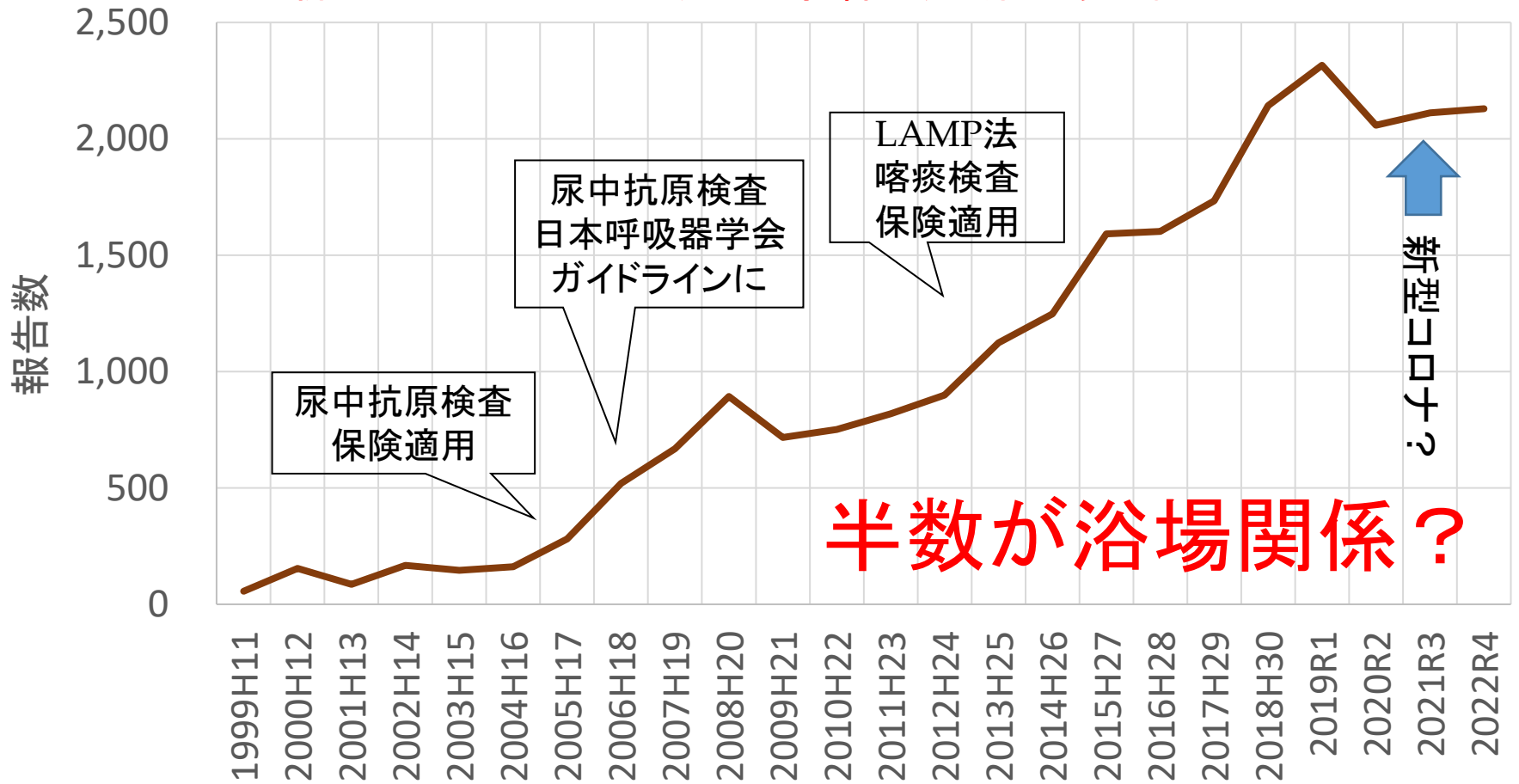
軽症 ポンティアック熱

インフルエンザに似た熱性疾患



レジオネラ症の届出(4類全数)

ここ3年の様子を見るに、輸入ではなく国内の感染だろう
マスクで感染が防げない場面、風呂や家庭環境？
新型コロナウイルスの流行の影響で、公衆浴場の衛生悪化？



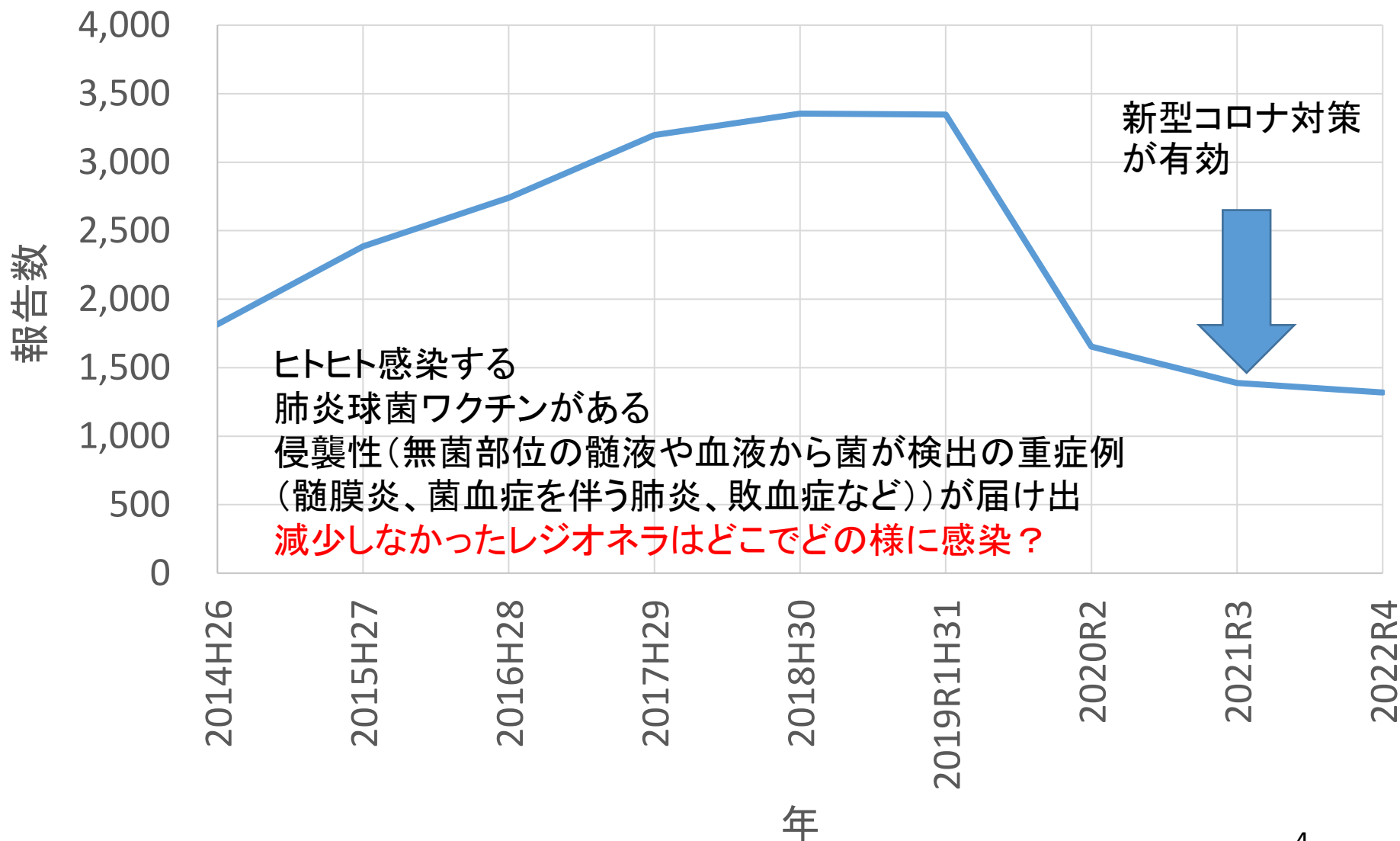
半数が浴場関係？

死亡は例年50人程度

年

<https://www.niid.go.jp/niid/images/idwr/sokuhou/idwr-2022/202252/2022-52-zensu.csv> 他

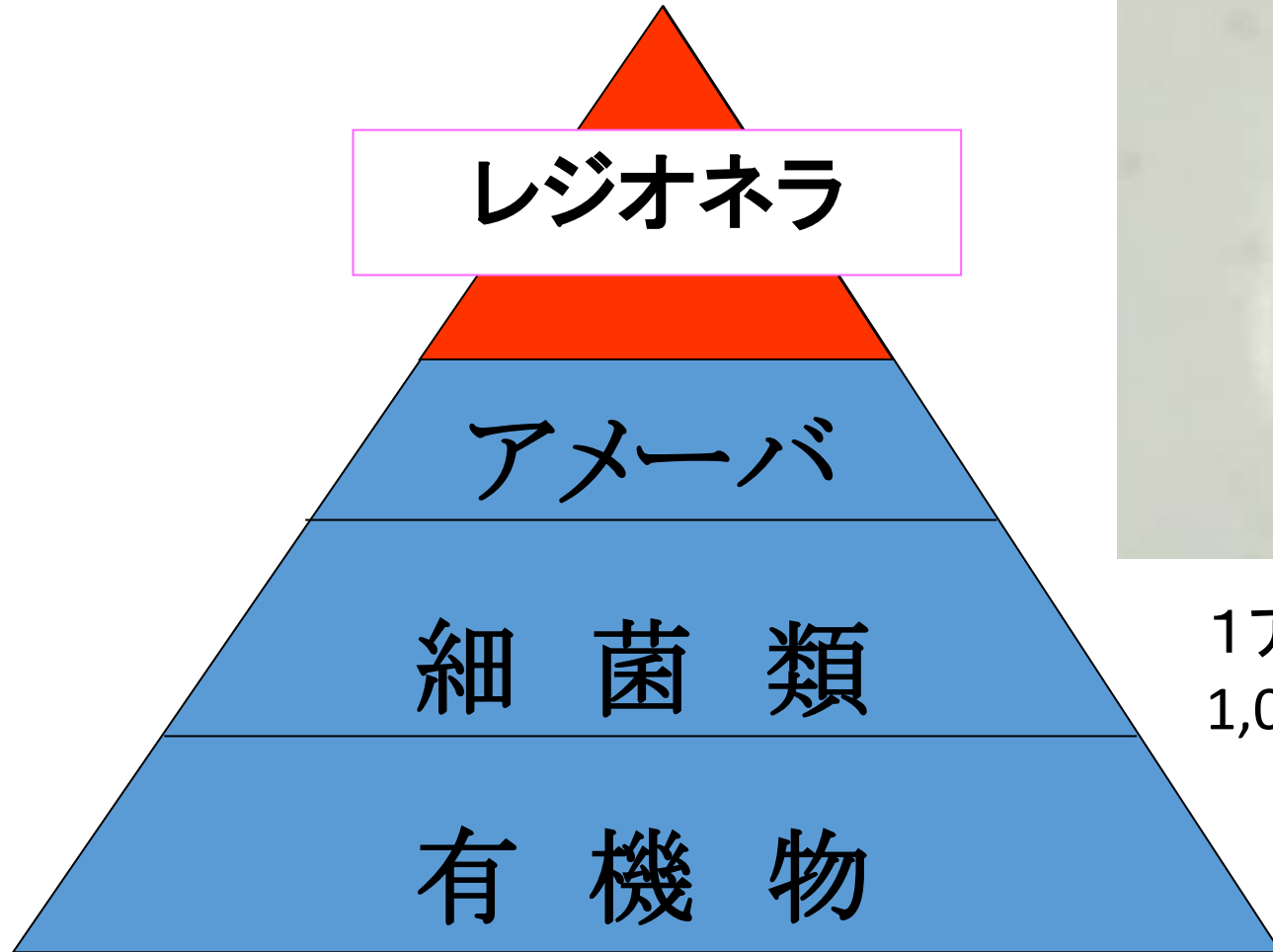
侵襲性肺炎球菌感染症(5類全数)



水系感染する病原体、歴史

1. 細菌やウイルス(塩素消毒で死滅)
2. 塩素が効かない寄生虫
(水道のクリプトスポリジウム、ろ過等で対策)
3. 後から生えるレジオネラ属菌、
緑膿菌、自由生活性アメーバ等々
(消毒や洗浄等の、生活環境の衛生管理が大切)

水環境のミクロな生態系ピラミッド

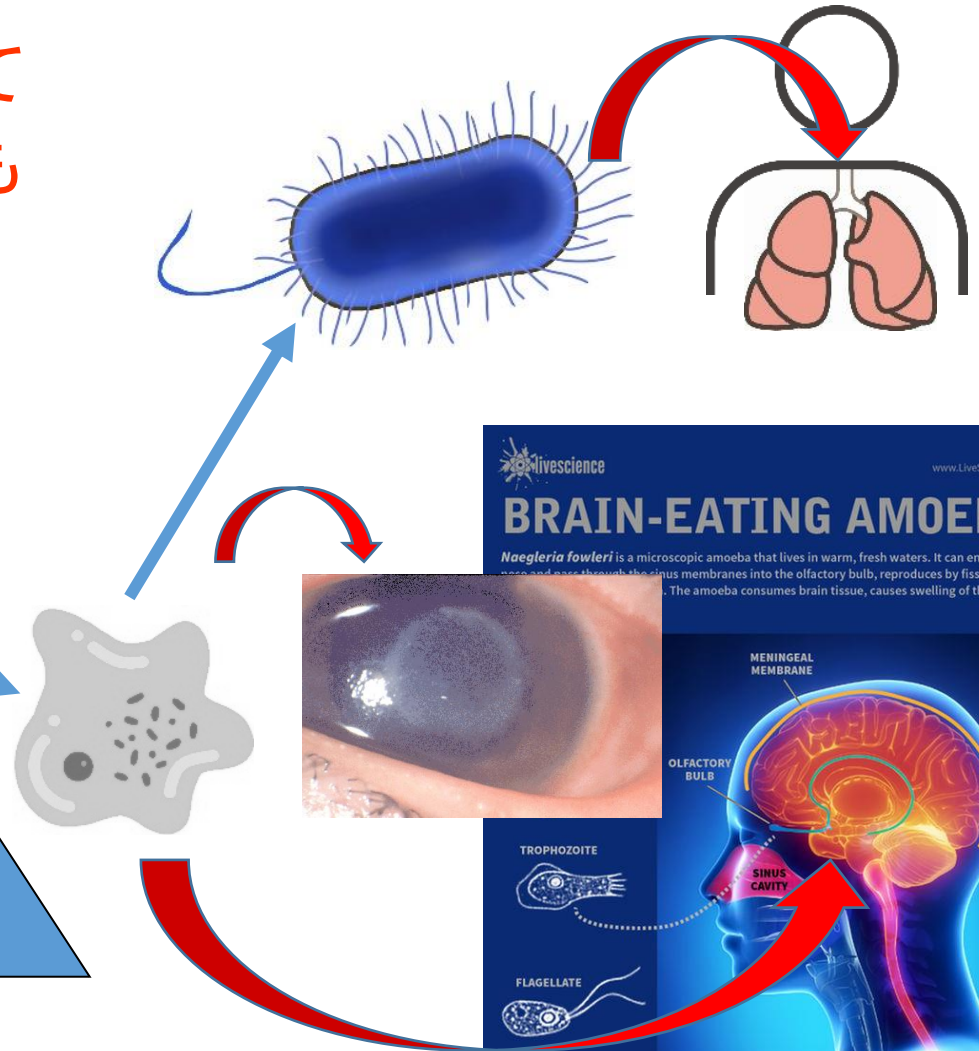
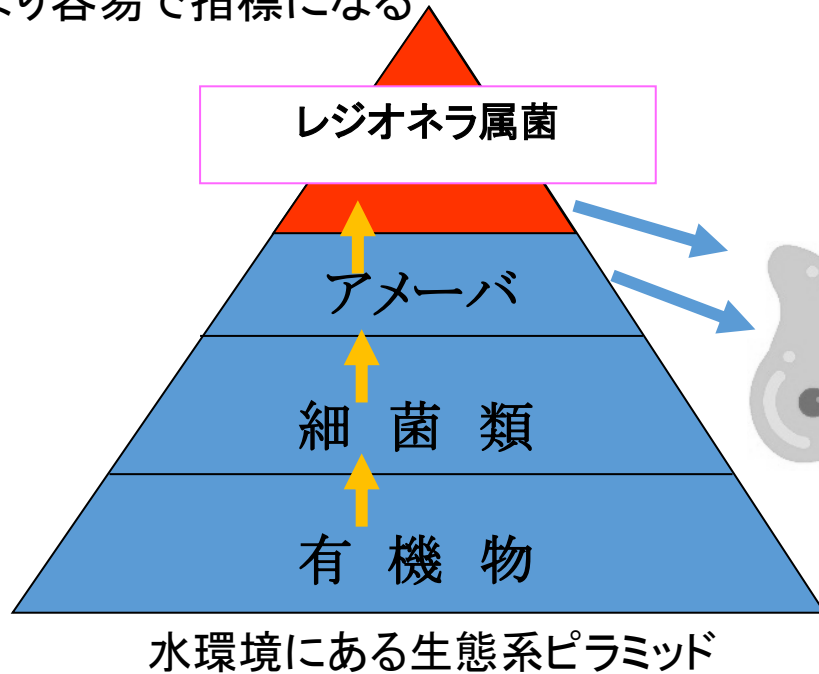


1アメーバから
1,000超のレジオネラ

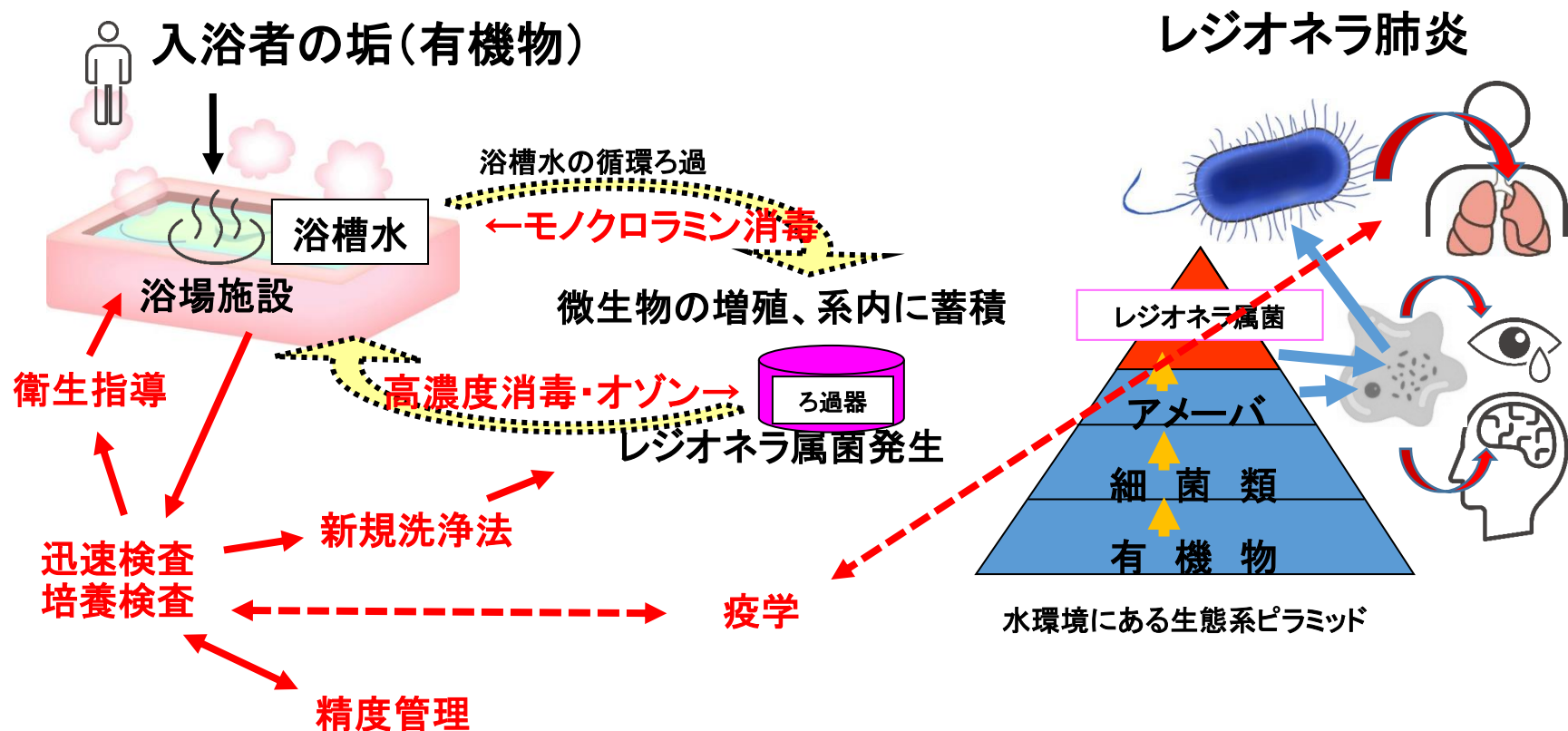
自由生活性アメーバ対策としての 細菌対策

レジオネラ肺炎に加えて
角膜炎や脳炎のリスクも

レジオネラ測定は、アメーバ測定より容易で指標になる



研究目的： 浴場のレジオネラを対策して衛生向上



厚生労働科学研究費補助金(健康安全危機管理対策事業)
「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」

レジオネラ属菌の集団感染事例、古い方

	年月	都道府県	施設	感染源	患者数	確定症例数	死亡者数
1	1980.8- 9	福岡	病院		7	7	1
2	1994.8	東京	研修所	冷却塔	45	1	0
3	1996.1- 2	東京	病院新生児病棟	給湯器、加湿器	13	4	1
4	2000.3	静岡	温泉施設	循環風呂		23	2
5	2000.6	茨城	温泉施設	循環風呂	45	27	3
6	2002.4- 7	福島	乳児院	不明	21	8	0
7	2002.7	宮崎	温泉施設	循環風呂	295	46	7
8	2002.8	鹿児島	温泉施設	循環風呂		9	1

ポンチアック熱

→節約のための循環式浴槽が、健康危害を発生させていた

➢緊急避難的に、塩素消毒でプール並みの管理が導入 9

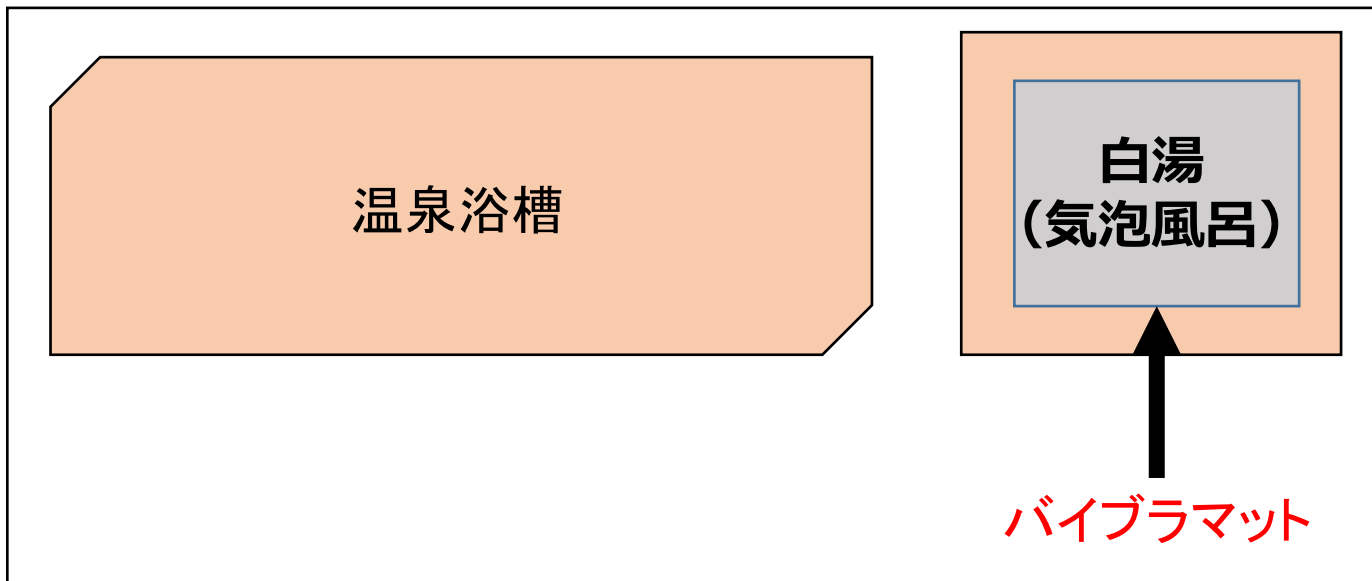
レジオネラ属菌集団感染、最近

- 2015H27 岩手県盛岡市 公衆浴場
13名感染 内1名死亡
- 2017H29 広島県三原市 公衆浴場
58名感染 内1名死亡
- 2022R4 兵庫県神戸市 ホテル入浴施設
2名感染 内1名死亡

バイブラマット（気泡発生装置）を
分解して洗っていない
ろ過器の管理状態も良くない

公衆浴場許可を取得している宿泊施設

当該宿泊施設の大浴場



神戸市の宿泊施設「[redacted]」の浴槽から検出されたレジオネラ菌が原因で、70代の男性が死亡していたことが分かりました。

神戸市は、「[redacted]」を利用した70代の男性2人がレジオネラ菌に感染し、うち1人が死亡したと明らかにしました。

患者株と環境株の一致の確認

患者	遺伝子検査	direct SBT	培養結果
No.1	陰性	実施せず	陰性
No.2	陽性	ST138	14株 分離

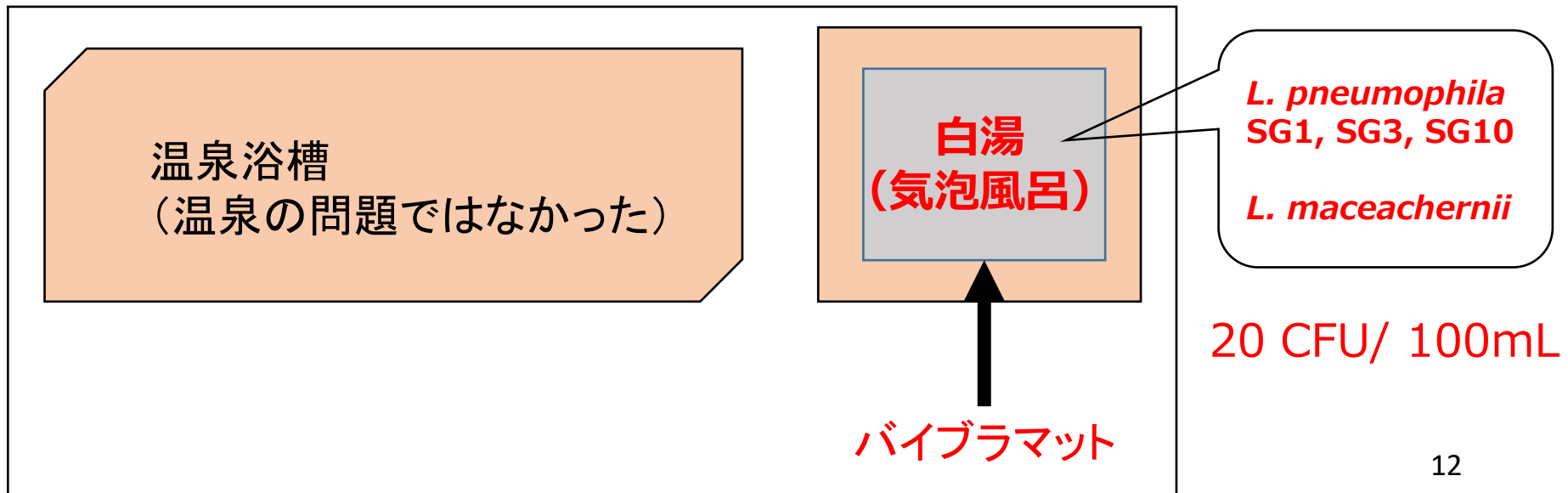
* 環境試料からも

L. pneumophila SG1 ST138

浴槽水由来 5 株、
ヘアークャッチャー由来 5 株、
ろ過器由来 8 株、
2013年浴槽水由来 1 株

* 患者2名中 1 名から *L. pneumophila* SG1 ST138 (7遺伝子の型別) が分離、
ST138 はよくある遺伝子型、患者1名しか分離できず、指導の根拠に弱い、
→ より詳細なゲノム解析へ

当該宿泊施設の大浴場



全ゲノム配列を読解、塩基配列の異同数 (SNVs) 比較

SNVs (Single Nucleotide Variants) 解析方法:

マッピング、Pseudogenome作成: **BactSNP** (<https://github.com/IEkAdN/BactSNP>)

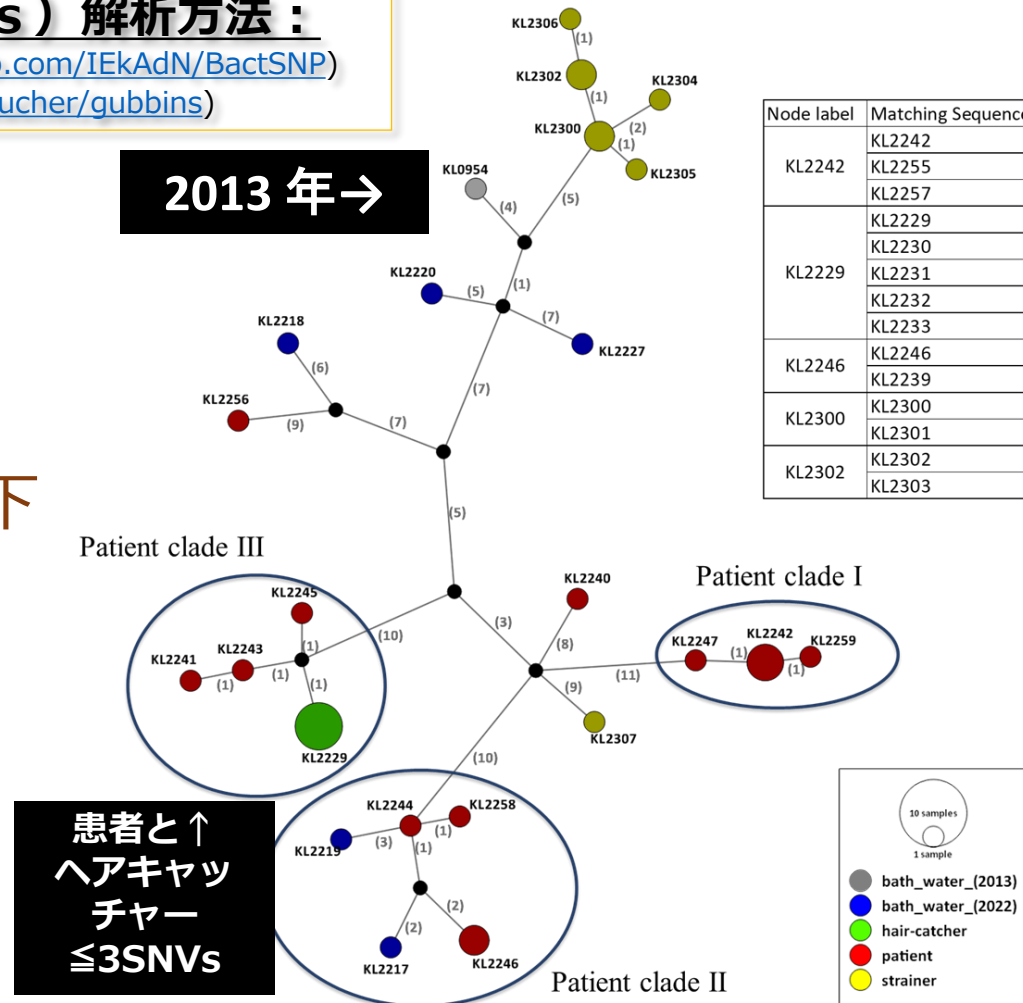
組換え領域の除去: **Gubbins** (<https://github.com/nickjcroucher/gubbins>)

2013年→

◆患者株の間: 0~41
→同時複数の暴露の可能性

◆患者株と、環境株の間: 4以下
→感染源と判断

◆比較対象、2013年株と、
・患者株との間: 28~35
・環境株との間: 9~10
→以前から施設に定着



患者と↑ヘアキャッチャー ≤3SNVs

↑患者と浴槽水 ≤4SNVs

↓
注意喚起の発出

図 SNVsに基づくハプロタイプネットワーク図
赤が患者株、青緑黄が環境株、灰が2013年株
図は0~42 SNVsの範囲

様々な対策

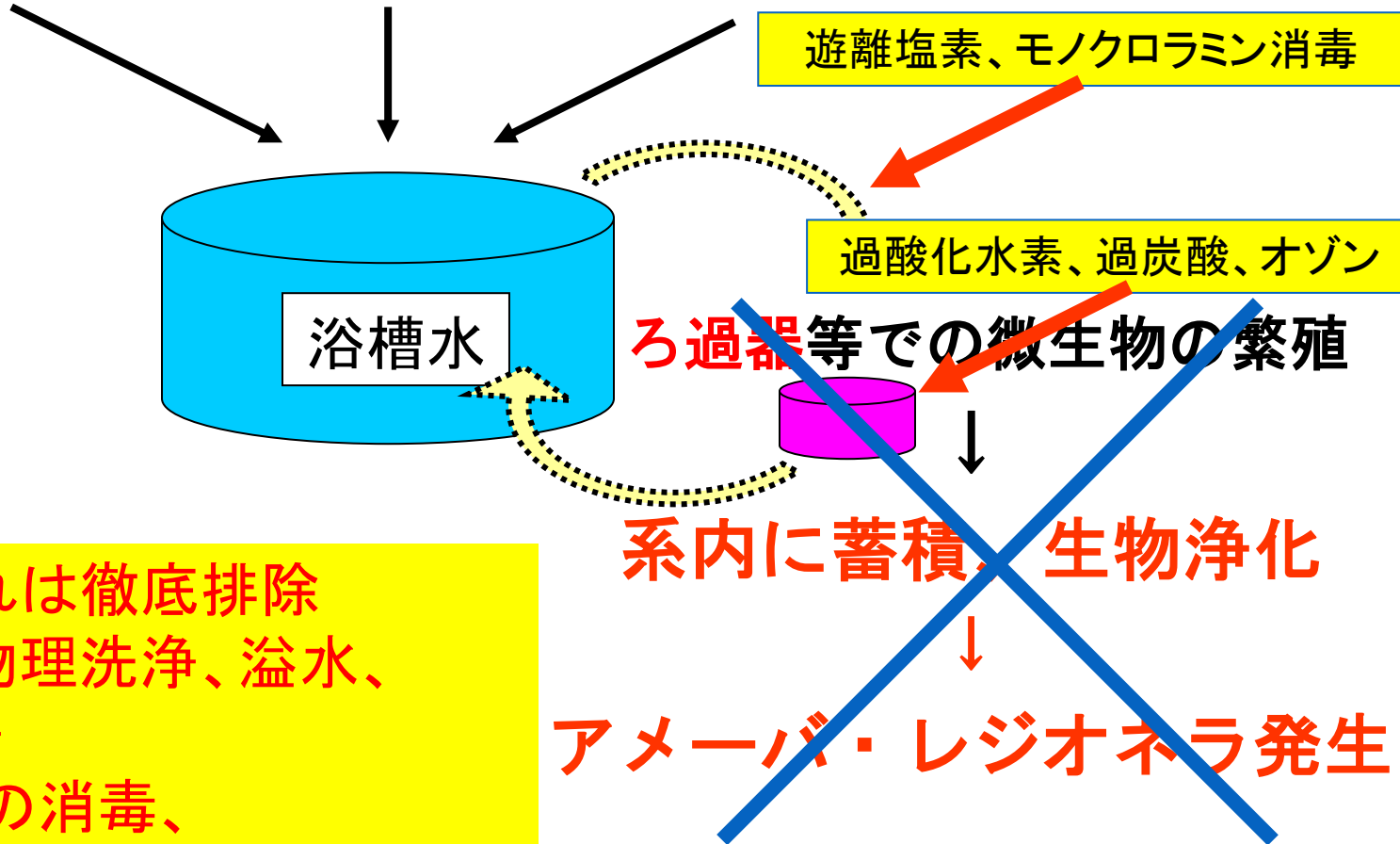
- 消毒や洗浄、設計や構造設備の修正
 - モノクロラミン消毒、オゾン、新規の洗浄方法
- 検査の迅速化(通常 of 培養検査は1~2週間)
 - PCRやフローサイトメトリー
- 疫学の高度化
 - MLVA法、血清型別
- 培養検査の信頼性向上
 - レジオラート法、精度管理
- 成果の反映、活用
 - 保健所、衛生部局との連携や通知手引への反映、Web

循環式浴槽のアメーバ・レジオネラの対策

入浴者

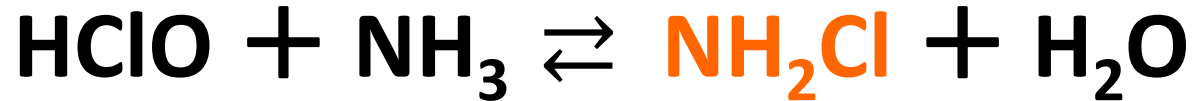
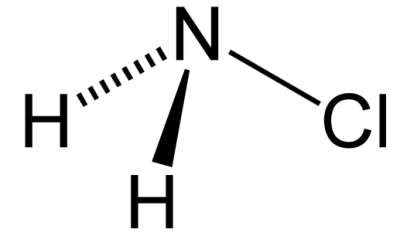
源泉

水道水



- 1.蓄積する汚れは徹底排除
→完全換水、物理洗浄、溢水、
化学的洗浄
- 2.安全のための消毒、
汚れを蓄積させないための消毒、
→遊離塩素、モノクロラミン、オゾン
- 3.構造設備の修正

モノクロラミンとは



- レジオネラや宿主アメーバなどに対し殺菌効果
- プールのような不快な塩素臭が少ない
- 消毒副生成物(トリハロメタン)が少ない
- 欧米の水道にも利用されている
- 機械式添加方法は市販あり、手投入も可能

モノクロラミン消毒の進展

- 高pHやアンモニア態窒素のある浴槽水での実績増
- 薬湯で遊離塩素が消えても、モノクロラミン消毒は可能
- 弱酸性pHへ応用(人工炭酸泉での実施例)、pH範囲拡大、5~10で効果を確認



炭酸泉は、炭酸ガス(二酸化炭素)が溶け込んだお湯のこと。



レジオネラ属菌、アメーバは不検出

従属栄養細菌数の増加

- 洗浄の必要を改めて確認、長期連用が目的ではない
- より簡便な洗浄方法を用意

4入浴施設でモノクロラミン消毒を実施

	施設1	施設2	施設3	施設4
濃度維持	機器	手投入	機器	機器
換水頻度	毎日	毎日	週に1回	週に3回
配管消毒時間	1時間	なし	一晚	1時間、一晚
入浴者	100～200人	100～200人	50人	500～1000人
pH	10程度	10程度	10程度	9程度
採水時刻	営業終了後	営業終了後	営業中(PM)	営業開始前
レジオネラ属菌	不検出	不検出	不検出	不検出
従属栄養細菌数	増加なし	増加なし	増加なし	増加あり

炭酸風呂(3施設、4浴槽水)におけるモノクロラミンの消毒効果

A施設の炭酸風呂

検査項目	モノクロラミン消毒期間		
	1週目	3週目	13週目
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	<10	<10	<10
一般細菌数 (CFU/mL)	<1	<1	<1
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	<1	<1	<1
大腸菌群 (CFU/mL)	<1	<1	<1
全塩素濃度 (ppm)	4.2	4.1	3.8

浴槽水のpH値: 5.6

B施設の炭酸風呂

検査項目	モノクロラミン消毒期間	
	11ヵ月後	14ヵ月後
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	<10	<10
一般細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
大腸菌群 (CFU/mL)	NT	<1
全塩素濃度 (ppm)	4.1	4.9

浴槽水のpH値: 5.1、NT: 検査せず

C施設の男子炭酸風呂

検査項目	モノクロラミン消毒期間	
	15ヵ月後	19ヵ月後
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	<10	<10
一般細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
大腸菌群 (CFU/mL)	NT	<1
FCM値 (counts/mL)	333	NT
全塩素濃度 (ppm)	4.8	3.5

浴槽水のpH値: 5.0、NT: 検査せず

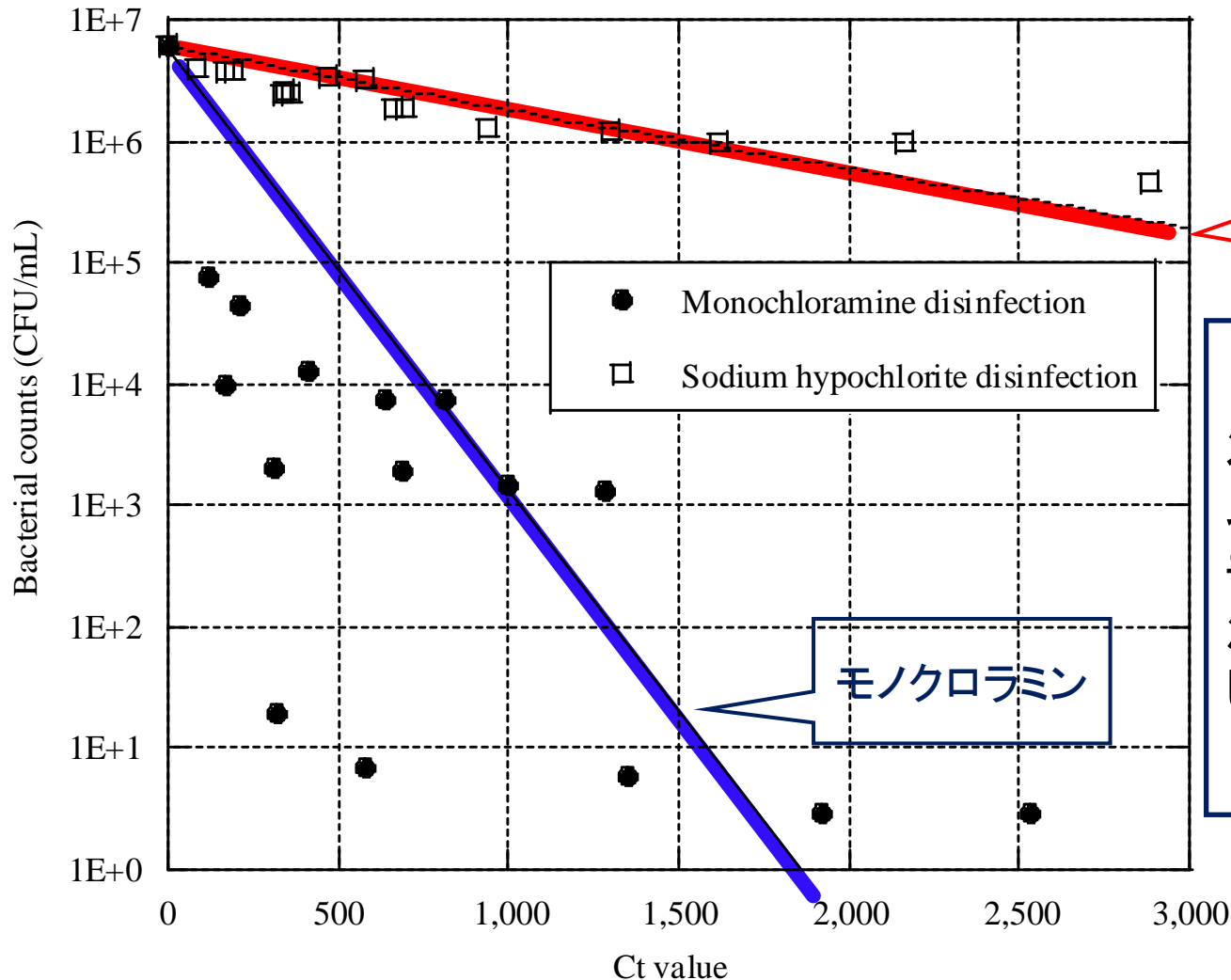
C施設の女子炭酸風呂

検査項目	モノクロラミン消毒期間	
	15ヵ月後	19ヵ月後
レジオネラ属菌数 (CFU/100mL)	<10	<10
一般細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
従属栄養細菌数 (CFU/mL)	<1	<1
大腸菌群 (CFU/mL)	NT	<1
FCM値 (counts/mL)	95	NT
全塩素濃度 (ppm)	4.3	3.2

浴槽水のpH値: 5.2、NT: 検査せず

- 炭酸風呂浴槽水をモノクロラミン消毒することで、レジオネラ属菌の増殖だけでなく、従属栄養細菌数の増加を抑えることができた。
- 塩素臭等の悪臭の発生もなかった。
- 弱酸性(pH 5)の人工炭酸泉にもモノクロラミン消毒が適用できた。

アルカリ泉pH9.6における雑菌の消毒試験 (*Mycobacterium phlei*)



遊離塩素

モノクロラミン

次亜塩素酸ナトリウムに比べて、
モノクロラミンの方が
消毒効果が高い、
しかし消毒が遅い

保健所設置自治体中、公衆浴場関連条例又は規則・細則等におけるモノクロミンの記述の有無[令和4年11月1日現在]

都道府県[24/47]	
北海道	
青森県	
岩手県	●
宮城県	●
秋田県	
山形県	●
福島県	
茨城県	
栃木県	●
群馬県	
埼玉県	
千葉県	
東京都	●
神奈川県	●
新潟県	
富山県	
石川県	
福井県	
山梨県	
長野県	
岐阜県	
静岡県	●
愛知県	●
三重県	●
滋賀県	●
京都府	●
大阪府	
兵庫県	●
奈良県	●
和歌山県	●
鳥取県	
島根県	●
岡山県	●
広島県	

山口県	●
徳島県	
香川県	
愛媛県	●
高知県	
福岡県	●
佐賀県	
長崎県	●
熊本県	●
大分県	●
宮崎県	●
鹿児島県	●
沖縄県	●

指定都市[12/20]	
札幌市	●
仙台市	●
さいたま市	
千葉市	
横浜市	●
川崎市	●
相模原市	
新潟市	
静岡市	●
浜松市	●
名古屋市	
京都市	●
大阪市	
堺市	
神戸市	●
岡山市	●
広島市	
北九州市	●
福岡市	●
熊本市	●

中核市[20/62]	
函館市	
旭川市	
青森市	
八戸市	
盛岡市	
秋田市	
山形市	
福島市	
郡山市	
いわき市	
水戸市	
宇都宮市	●
前橋市	
高崎市	
川越市	
川口市	
越谷市	
船橋市	
柏市	
八王子市	●
横須賀市	●
富山市	
金沢市	●
福井市	
甲府市	
長野市	
松本市	
岐阜市	
豊橋市	
岡崎市	
一宮市	
豊田市	
大津市	●
豊中市	

吹田市	
高槻市	
枚方市	
八尾市	
寝屋川市	
東大阪市	
姫路市	
尼崎市	
明石市	●
西宮市	
奈良市	●
和歌山市	●
鳥取市	
松江市	●
倉敷市	●
呉市	
福山市	
下関市	●
高松市	
松山市	●
高知市	●
久留米市	●
長崎市	●
佐世保市	●
大分市	●
宮崎市	●
鹿児島市	●
那覇市	●

その他政令市[2/5]	
小樽市	
町田市	●
藤沢市	
茅ヶ崎市	●
四日市市	

特別区[19/23]	
千代田区	●
中央区	●
港区	●
新宿区	●
文京区	●
台東区	
墨田区	●
江東区	●
品川区	●
目黒区	●
大田区	●
世田谷区	●
渋谷区	
中野区	●
杉並区	●
豊島区	
北区	
荒川区	●
板橋区	●
練馬区	●
足立区	●
葛飾区	●
江戸川区	●

●:モノクロミン記述有

全集計
77/157(49.0%)

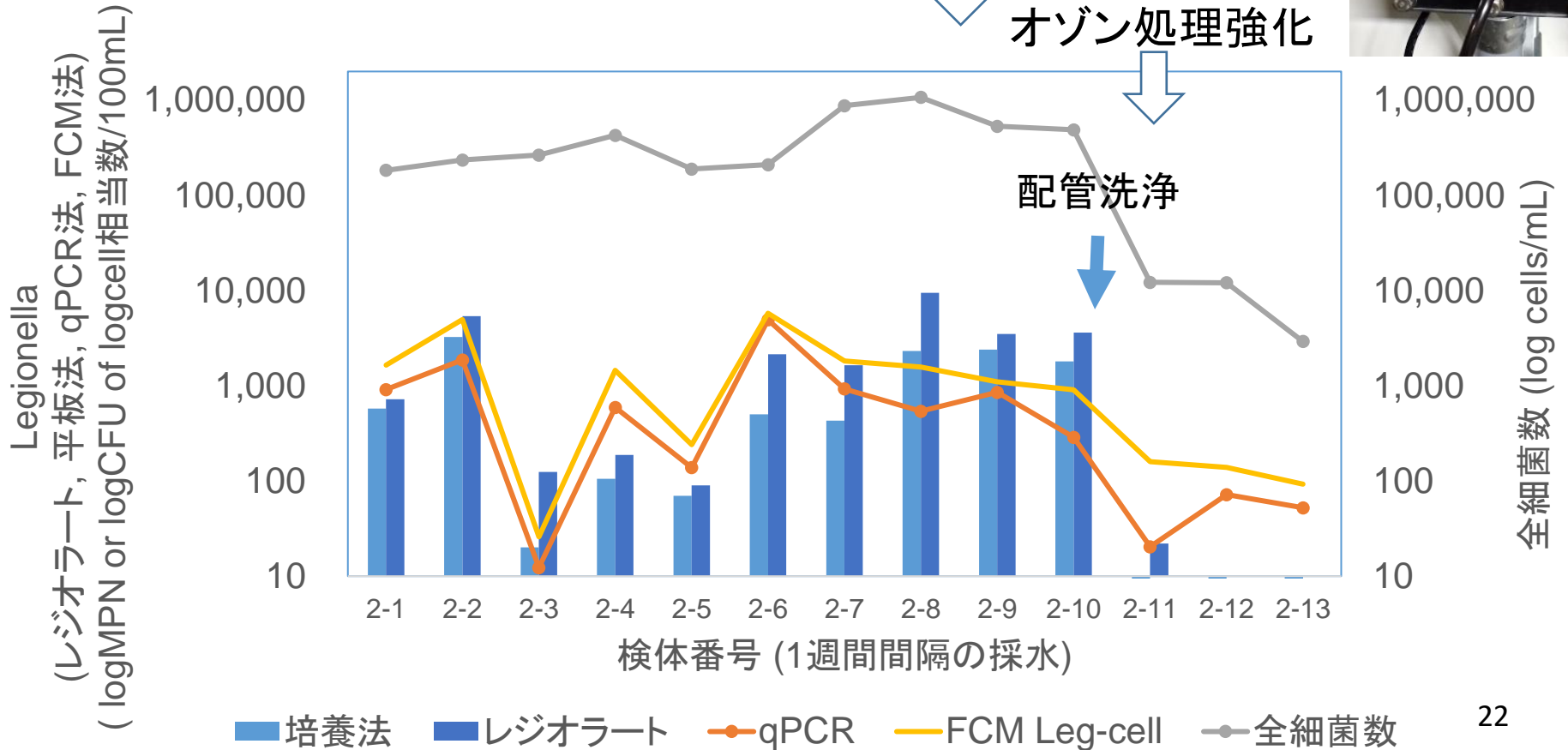
オゾンによる、ろ過器の消毒 逆洗排水中のレジオネラ推移

電気分解によるオゾン生成→

オゾン消毒開始

オゾン処理強化

配管洗浄



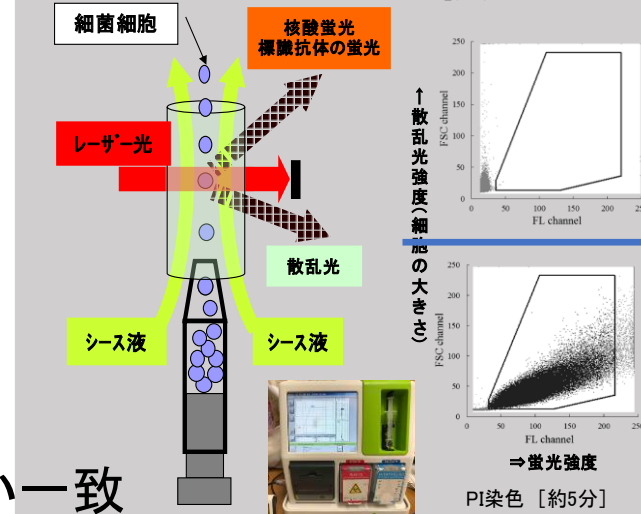
フローサイトメトリー法による 消毒効果判定

～実施4施設間の感度と特異度の比較～

測定は短時間(培養の結果を待つ必要がない)

消毒効果判定が、レジオネラ培養法の定性結果と高い一致

→感度93.3%、特異度95.1%、有効性94.7%



消毒効果判定の閾値: <1000 cells/mL, 培養検査陰性: <10 CFU/100mL

遊離塩素消毒

モノクロラミン消毒

	感度	特異度	有効性	試験数	感度	特異度	有効性	試験数
A研究所	96.9%	73.8%	81.7%	93	—	67.9%	67.9%	28
B研究所	66.7%	81.8%	72.4%	29				
C研究所	91.7%	95.3%	94.5%	55	100.0%	100.0%	100.0%	6
D研究所	55.6%	75.3%	73.3%	90				
全体	83.1%	79.6%	80.5%	267	100.0%	72.7%	73.5%	34

迅速検査(モバイル qPCR)

モバイル型の qPCR 装置、反応時間約 10 分



		平板培養		
		+	-	計
LAMP	+	3	16	19
	-	1	60	61
		4	76	80

		平板培養		
		+	-	計
NSG qPCR (Ct 値 ≤ 50)	+	3	33	36
	-	1	32	33
		4	65	69

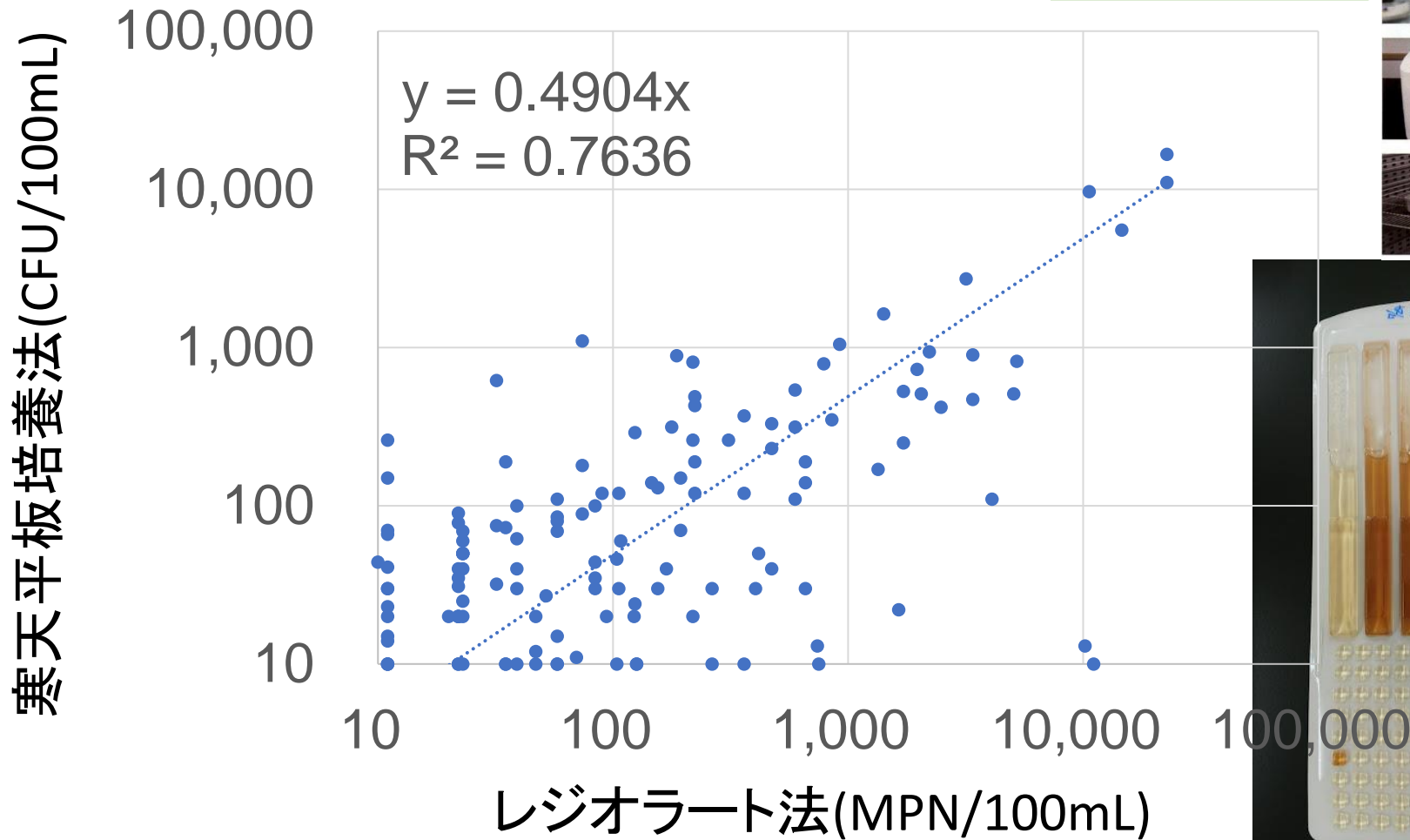
11 検体は反応阻害あり



DNA を 5 倍(または 10 倍)希釈して再測定
2 検体陽性、9 検体陰性
反応阻害検体なし

寒天平板培養法とレジオラート法の陽性検体における菌数の相関 (N=136)

10 mL protocol



レジオネラ培養検査の、外部精度管理 協力参加機関

- 2015年度：地衛研を中心とした67機関
- 2016年度：地衛研を中心とした71機関
- 2017年度：地衛研を中心とした71機関
- 2018年度：地衛研を中心とした70機関
- 2019年度：地衛研を中心とした73機関
- 2020年度：地衛研を中心とした72機関
- 2021年度：地衛研を中心とした70機関

7年間連続参加：44機関

省力化配管洗浄法の開発

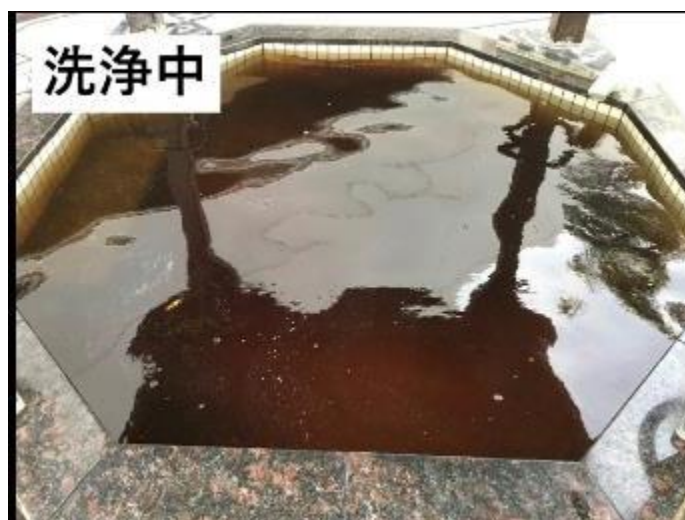
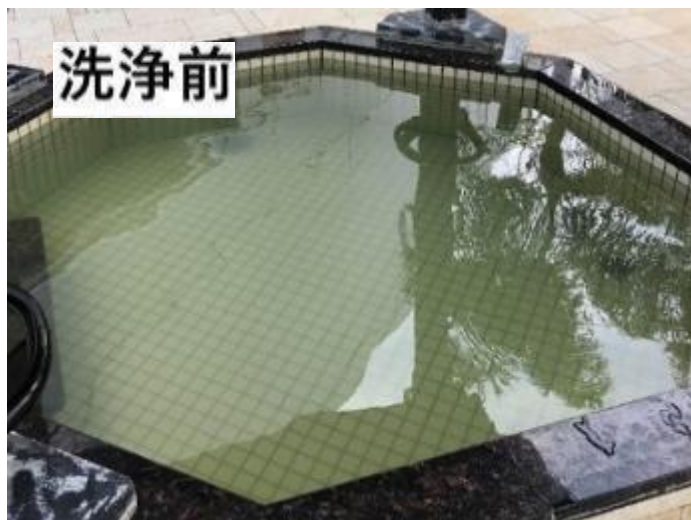
公衆浴場等におけるレジオネラ属菌の汚染を低減するには、消毒だけでなく、**定期的な洗浄**が必要になる。ろ過器や配管はブラシを使った物理的な洗浄ができず、過酸化水素や過炭酸ナトリウムを使用した化学的な洗浄を行っている。しかし、これらの物質は劇物や危険物であり、多量の薬剤を使っでの頻回な洗浄は容易ではなかった。本研究では使用する薬剂量の低減を目的として、過炭酸ナトリウムに助剤を併用する新規の洗浄方法に着目した。

	従来の配管洗浄法1	従来の配管洗浄法2	省力化配管洗浄法
薬剤(終濃度)	1% 過酸化水素	1% 過炭酸ナトリウム	0.1% 過炭酸ナトリウム +0.2% 助剤等
2tあたりの薬剤重量	57 L (35%過酸化水素 使用時)	20 kg	6 kg
劇物	該当	非該当	非該当
発泡(エアーロック、すすぎ不良の懸念)	あり	あり	なし
バイオフィilm除去能 (試験管内実験)	72%	61%	77%

省力化配管洗浄法を営業施設(4箇所)において実施

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	7m ³	20m ³	5.2m ³	8.3m ³

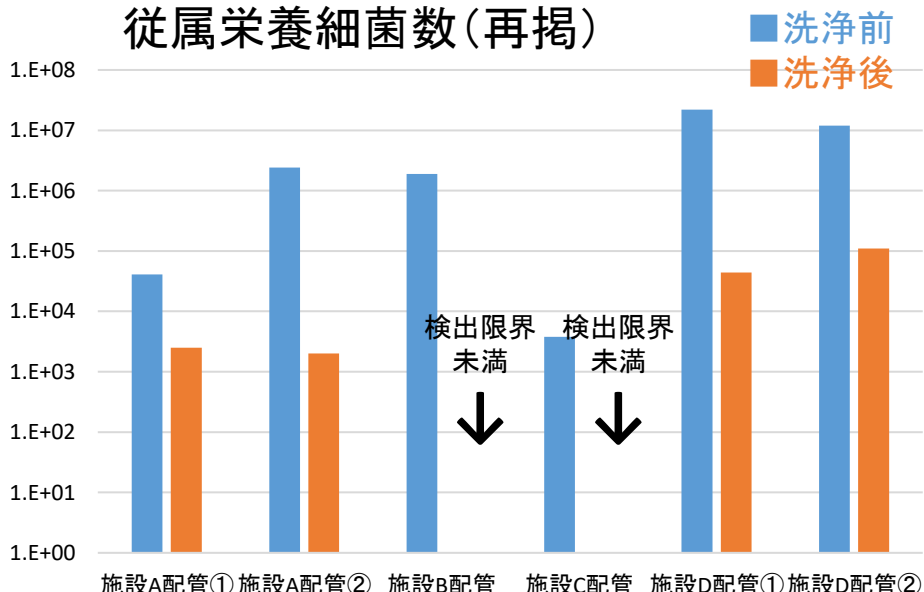
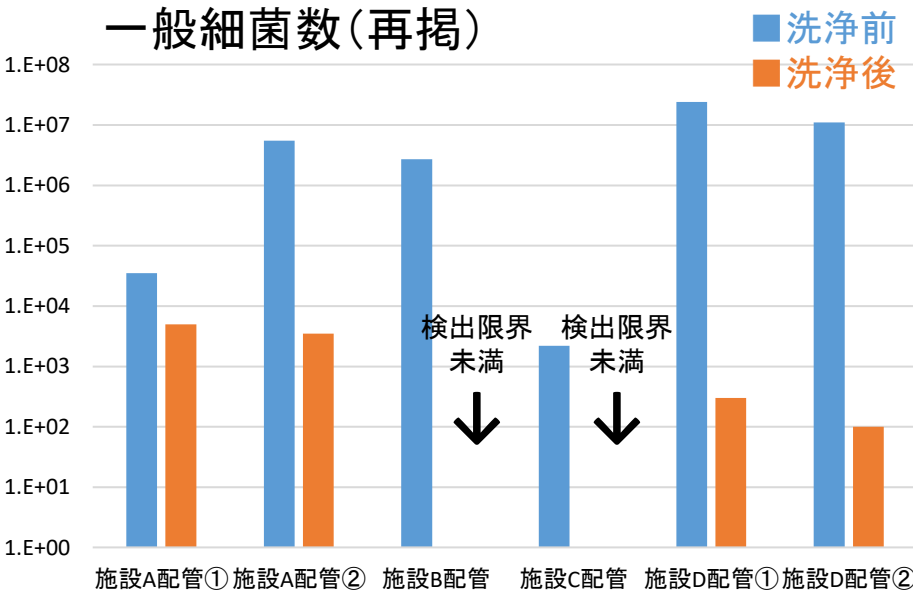
施設Cにおける配管洗浄中の浴槽の様子



省力化配管洗浄法による菌数低減効果

ATP値 (RLU/25cm²)
菌数 (cfu/ 25cm²)

	施設A配管①		施設A配管②		施設B配管		施設C配管		施設D配管①		施設D配管②	
	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後	洗浄前	洗浄後
ATP値	301	63	355	0	9,237	362	0	2	1,856	46	1,637	9
一般細菌数	3.5×10^4	5.0×10^3	5.5×10^6	3.5×10^3	2.7×10^6	検出限界未満	2.2×10^3	検出限界未満	2.4×10^7	3.0×10^2	1.1×10^7	1.0×10^2
従属栄養細菌数	4.1×10^4	2.5×10^3	2.4×10^6	2.0×10^3	1.9×10^6	検出限界未満	3.8×10^3	検出限界未満	2.2×10^7	4.4×10^4	1.2×10^7	1.1×10^5
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	検出限界未満	検出限界未満	$>2.0 \times 10^4$	検出限界未満	$>2.0 \times 10^4$	140



いずれの施設配管においても、概ね90%以上の微生物の除去が可能であった

臨床分離株に多いLp1と*lag-1* 遺伝子の 浴槽水分離レジオネラでの保有率(2016～2020年)

Lp1:レジオネラ・ニューモフィラ血清群 1(臨床分離株の大半から分離)

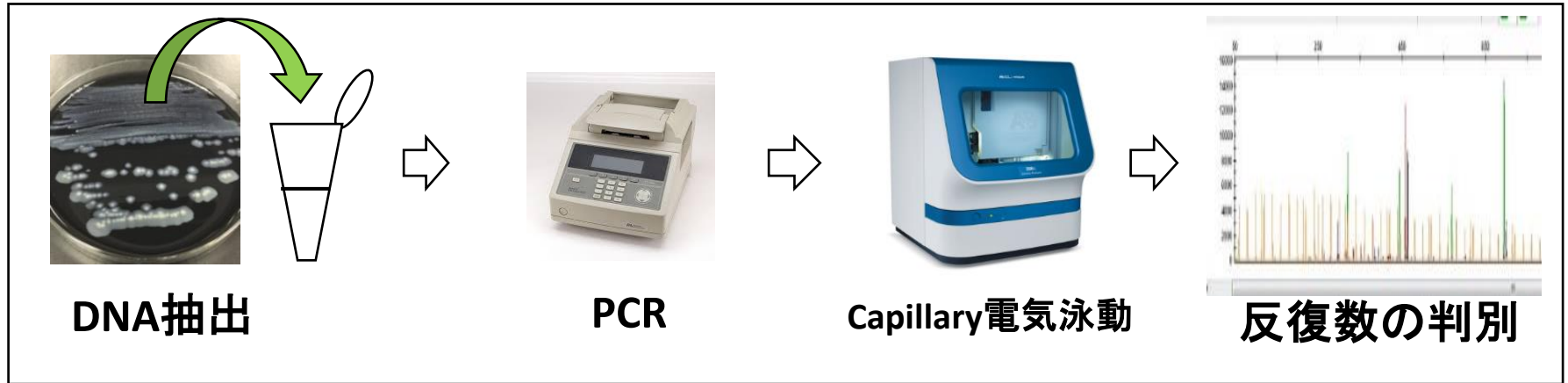
lag-1:LPS 合成関連遺伝子(臨床分離株の大半が保有)

検査 機関	検体数(延べ)				割合 <i>lag-1</i> /Lp1
	検査数 N	L. spp 陽性 N (%)	Lp1 陽性 N (%)	<i>lag-1</i> 陽性 N (%)	
A	623	159 (25.5)	26 (4.2)	2 (0.3)	7.7%
B	604	88 (14.6)	35 (5.8)	5 (0.8)	14.3%
C	590	185 (31.4)	67 (11.4)	26 (4.4)	38.8%
D	287	33 (11.5)	7 (2.4)	NT	NT
E	222	103 (46.4)	28 (12.6)	4 (1.8)	14.3%
F	207	40 (19.3)	20 (9.7)	10 (4.8)	50.0%
G	78	19 (24.4)	7 (9.0)	NT	NT
H	4	3 (75.0)	0 (0)	NT	NT

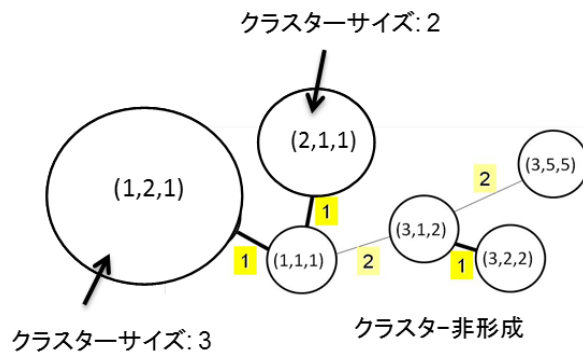
地域による差異や罹患率との関連について興味を持たれる

NT: Not Tested

疫学、MLVA typing ゲノム上の特定の領域の反復配列数による型別



- MLVAの利点
- 迅速性
 - 利便性
 - 多検体の比較が容易



MLVA-12orsay

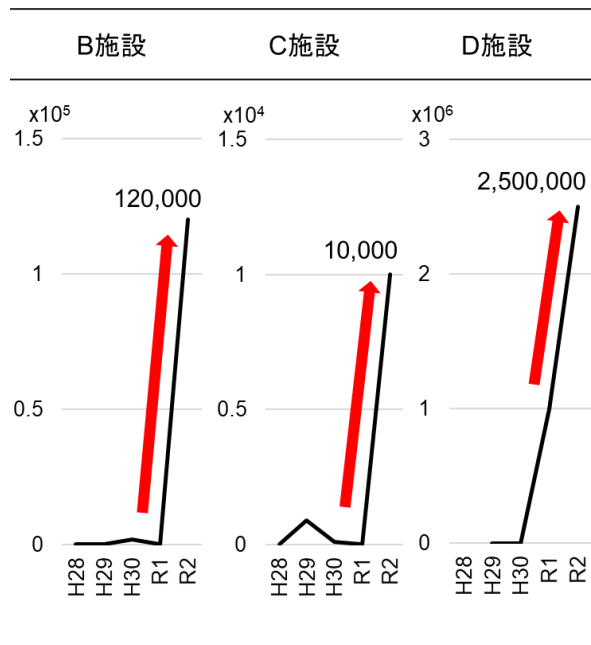
PCR-A	PCR-B	PCR-C
Lpms01-NED (45bp)	Lpms03-VIC (96bp)	Lpms38-NED (8bp)
Lpms31-FAM (45bp)	Lpms13-NED (24bp)	Lpms39-NED (6bp)
Lpms33-VIC (125bp)	Lpms19-PET (21bp)	Lpms19-PET (6bp)
Lpms35-PET (18bp)	Lpms35-FAM (125bp)	Lpms35-FAM (6bp)

Sobral et al., 2011 AEM

従来のPFGEの製造やサポートの中止
次の遺伝子型別法としてMLVAやSBTへの移行

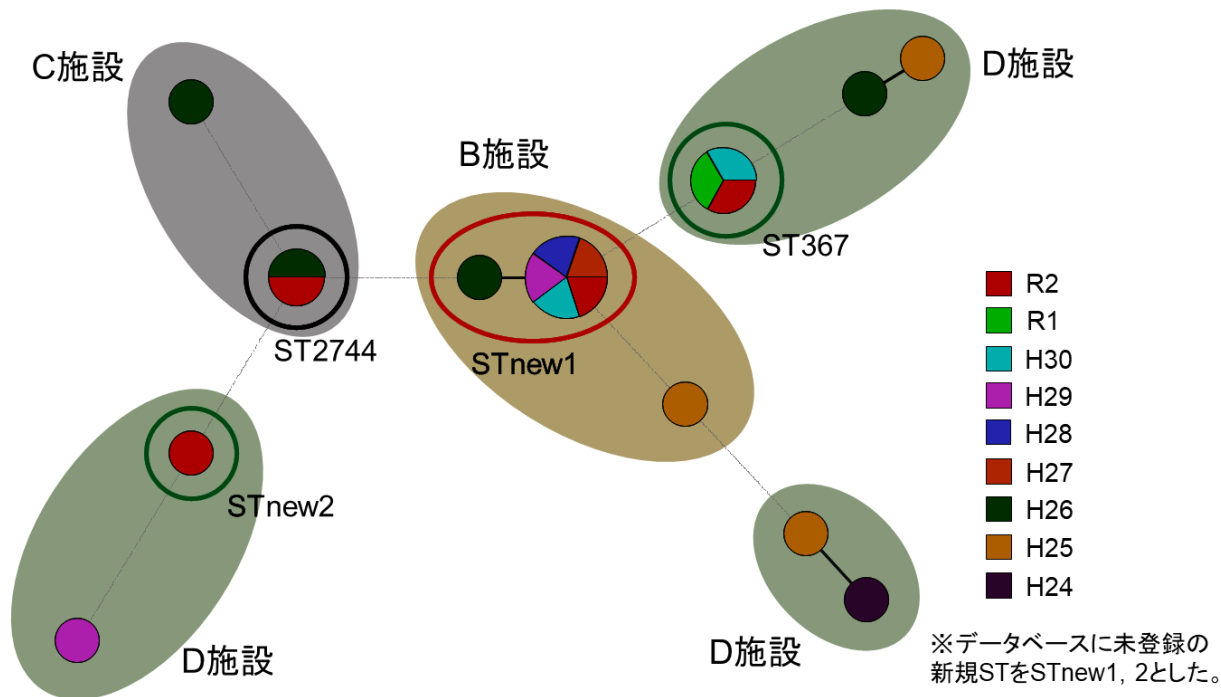
施設の衛生管理におけるMLVAの活用（菌の定着性を調べる）

緊急事態宣言の影響



継続的なモニタリング

定着株 or 新規株の評価



MLVAに基づく minimum spanning tree

B, C施設で分離された株は、それぞれ緊急事態宣言前の期間に分離されたものと同一のST/MLVA型だった。

D施設で分離されたST367は宣言前の期間に分離されたものと同一のMLVA型であったが、STnew2はR2年度に初めて分離された。

施設への衛生指導に役立てる！

入浴施設の衛生管理の手引き、 公衆浴場等入浴施設が原因と疑われるレジオネラ症調査の手引き の作成

以下、衛生管理の手引より 第二部 一般衛生管理 より

- ・レジオネラ属菌の発生を予防するための清掃や消毒等の管理方法
- ・設備ごとの構造と衛生管理方法を具体的に解説

- | | | |
|--------------------|----------|--------------|
| 1. 全般 | 2. 貯湯槽 | 3. 補給配管 |
| 4. 湯口 | 5. 浴槽 | 6. 循環配管 |
| 7. ろ過器 | 8. 循環ポンプ | 9. 集毛器 |
| 10. 加熱器（熱交換器） | 11. 消毒装置 | 12. 気泡発生装置等 |
| 13. 水位計及び水位計配管 | | 14. 連通管 |
| 15. オーバーフロー回収槽 | | 16. 調節箱 |
| 17. シャワー、打たせ湯 | | 18. 原水、原湯の管理 |
| 19. 上がり用湯、上がり用水の管理 | | 20. 排水 |

保健所の活躍、協力

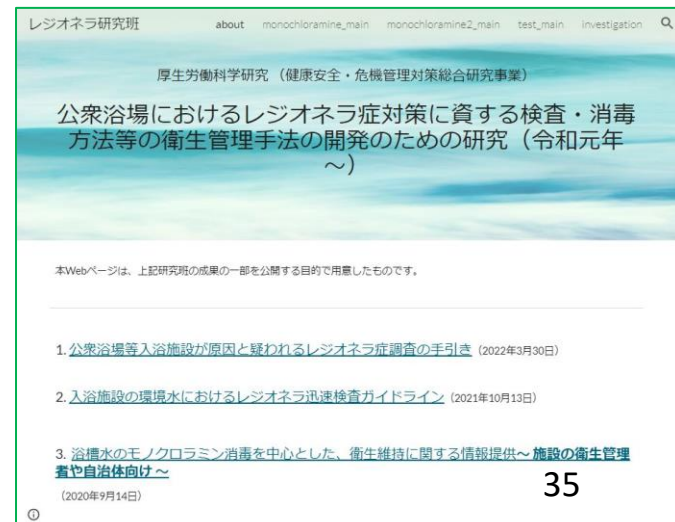
- レジオネラ症の届け出を受けての、保健師による患者からの聞き取り
- 疑い施設の現地確認、試料採取、衛生指導
- 地方衛生研究所、保健所でのレジオネラ検査
- R4年度に3箇所ヒアリング
 - R5年度に広くアンケート調査を計画

解説をWebに用意

→レジオネラ研究班でGoogle検索



- 浴槽水のモノクロラミン消毒を中心とした、衛生維持に関する情報提供
～施設の衛生管理者や自治体向け～
 - https://sites.google.com/view/legionella-resgr/monochloramine2_index
 - 洗浄の必要性
- モノクロラミン消毒の方法、測定方法
 - DPD法、インドフェノール法、サリチル酸法



内容は多岐、異動もあり、負担を軽減したい

これまでの研究報告書は
厚生労働科学研究成果データベースで読むことができます。
<https://mhlw-grants.niph.go.jp>

厚生労働科学研究成果データベース
MHLW GRANTS SYSTEM

研究者・管理者はこちら

本データベースについて | 本データベースの使い方 | 利用規約 | 利用環境について

ホーム | 研究成果検索 | 研究分野一覧 | 担当課一覧 | 研究事業変遷表一覧

“公衆浴場”
で検索

研究成果を検索する

研究分野一覧を見る

担当課情報を見る

研究事業変遷表を見る

お知らせ 一覧を表示

2022年1月20日	【システム再開のお知らせ】	2022年1月20日(木)
2022年1月13日	【システム停止のお知らせ】	2022年1月20日(木) 11:00~15:00
2022年1月6日	【アクセス制限のお知らせ】	2022.2.1 (火) ~ 2022.3.23 (水)
2021年12月13日	【システム停止のお知らせ】	2021年12月13日(月) 10:00~14:00
2021年11月25日	【システム停止のお知らせ】	2021年12月11日(土) 8:30~18:00

はじめてご利用の方へ

本データベースについて > 本データベースの使い方 > よくあるご質問 >

利用規約 > 利用環境について >

厚生労働科学研究成果データベース MHLW GRANTS SYSTEM

↑ このページのトップへ

謝 辞

- 研究班と共同研究者の方々
- 衛生研究所、保健所、地方感染症情報センター、医療機関
- 検査機関、民間企業
- 大学、研究機関