

令和7年度 事後評価調査

事後2	細胞染色－顕微鏡観察による温泉水に生息する従属栄養細菌の試験法の確立	課題番号	23-01
研究目的	温泉水中に生息する従属栄養細菌の細胞染色－顕微鏡観察による試験法を確立することで、温泉水の衛生状態や消毒効果を明らかにして、温泉施設や公衆浴場における公衆衛生の向上に役立てる。		
研究内容	温泉水中の従属栄養細菌の細胞染色－顕微鏡観察による測定法を検討し、その有用性を評価する。		
研究期間	令和5～6年度	課題担当者	2人
関係施策行政検査	公衆浴場法施行条例（一部改正 令和3年1月1日施行）		

○ 研究ニーズ（背景、必要性、緊急性）

全国におけるレジオネラ症発生数は2011年から増加し、2019－2021年に高止まりしている状況である。温泉等を使用した循環式の公衆浴場では、レジオネラ症による死亡例も発生していることから、消毒剤である塩素剤やモノクロミン溶液等を投与するなど、浴槽の衛生状態を良好に保持することに力が注がれている。ところが、消毒を行っても消毒剤に抵抗を持って生き残る従属栄養細菌が存在することがある。これら従属栄養細菌は源泉に生息していることも考えられ、湧出直後の源泉中の菌数を把握することは、その後の温泉利用水の管理に対して重要な情報となる。しかしながら従属栄養細菌の試験において、培養日数が1週間前後と長く迅速性に乏しいことで、現時点では温泉水における衛生的な指標とはなっていない。一方で、従属栄養細菌を培養よりも短時間で確認できる方法として、細菌を特定の試薬で染色して顕微鏡で検数する細胞染色－顕微鏡観察法が、水道、河川、湖沼等の試料の試験で用いられているが、多様な泉質の温泉源泉に対してその試験法が確立されていないのが現状である。そこで我々は、温泉水の衛生管理に寄与すべく、新たな細胞染色－顕微鏡観察による細胞染色－顕微鏡観察法を検討する。

○ 道が取り組む必要性

北海道では温泉施設が全国でも多く、また、飲用泉としての利用もあることから、源泉を含む温泉施設全体の衛生管理を良好に保つことが必要がある。源泉の従属栄養細菌数を迅速に把握するための検査法の確立は重要と考える。

○ 研究の成果

年次等	主な目標（項目）	達成状況
令和5年度	従属栄養細菌の細胞染色－顕微鏡観察法を検討し、従来の培養法と細胞染色－顕微鏡観察法との比較を行う。	蛍光顕微鏡を用いた測定法である蛍光染色法及びマイクロコロニー法について、従来の平板培養法と測定結果を比較した。
令和6年度	温泉泉質ごとに試験方法の妥当性を確認する。	源泉から採水した23試料（単純温泉：2、硫酸塩泉：5、炭酸水素塩泉：7、塩化物泉：9）を用いて、各方法による測定結果を比較した。

本研究は細胞染色－顕微鏡観察による、温泉水中の従属栄養細菌数の測定法について検討を行った。河川水由来の大腸菌を用いて、平板培養法と各測定法の測定結果を比較したところ、 10^{-10} cells/mLの範囲において高い正の相関が認められた（蛍光染色法による生菌数測定： $r=0.976$ 、マイクロコロニー法： $r=0.995$ ）。種々の泉質に分類される温泉水23試料を測定した結果、蛍光染色法は $r=0.691$ 、マイクロコロニー法は $r=0.844$ と、いずれも平板培養法との正の相関が認められた。測定時間については、平板培養法では1週間程度を要するが、蛍光染色法では約1時間、マイクロコロニー法では約48時間で結果が得られ、測定時間を大幅に短縮できる試験法を確立できた。

○ 成果の活用策（活用の可能性）

本研究にて検討した測定法は、温泉の衛生管理の為の迅速な検査法として採用できると考えられる。研究成果は、日本陸水学会北海道支部大会（2演題）、日本分析化学会第73年会、化学系学協会北海道支部2024年冬季研究発表会、及び第41回常設水質委員会にて報告を行った。

	評価結果	説明
所内評価	Ⓐ・B・C	本研究にて検討を行った測定法は、従来の平板培養法による測定結果との正の相関が認められ、測定に要する時間は最長で48時間程度まで短縮された。本研究で確立した測定法は、温泉の衛生管理に対して貢献すると考えられる。
外部評価	S・Ⓐ・B・C	従来方法（平板培養法）で1週間程度要した測定時間が、蛍光染色法では約1時間、マイクロコロニー法では約48時間と大幅短縮され、温泉衛生管理のための迅速検査法としての有用性が示されたことから、研究目的を十分に達成している。
総合評価	Ⓐ・B・C	本研究により、温泉施設での衛生管理への活用が期待できる試験法が確立されていることから、一定の研究成果が得られている。