

201237021A

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

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

貯水槽水道における水の滞留の長期化や
不適切な管理による水質悪化とその対策
に関する研究

研究代表者 早川哲夫

平成 25(2013)年 3 月

目 次

I.	総括研究報告書	
	貯水槽水道における水の滞留の長期化や不適切な管理による 水質悪化とその対策に関する研究	3
	早川哲夫	
II.	分担研究報告書	
1.	貯水槽水道における水の滞留の長期化や不適切な管理による 水質悪化とその対策に関する研究 (従属栄養細菌の菌種同定と病原性に関する文献調査)	15
	古畑勝則	
2.	貯水槽水道における水の滞留の長期化や不適切な管理による 水質悪化とその対策に関する研究 (昨年度までの研究経緯及び今年度研究の問題意識)	41
	奥村明雄	
III.	研究報告書細目次	
1.	はじめに	47
	研究の趣旨・目的・研究方法 麻布大学 生命・環境科学部 教授 早川哲夫	
2.	東京都における貯水槽等給水設備に係る衛生上の課題に対する取組	48
3.	貯水槽の衛生管理と細菌学的検討、特に従属栄養細菌の 汚染状況について	51
	財団法人 東京顕微鏡院 伊藤 武	
4.	装置の改善に関する研究	61
5.	結果・考察・今後の方向	64
	麻布大学 生命・環境科学部 教授 早川哲夫	

I. 総括研究報告書

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）

総括研究報告書

貯水槽水道における水の滞留の長期化や不適切な管理による水質悪化とその対策に関する
研究

研究代表者 早川哲夫 麻布大学教授

研究要旨 2 年度目の研究は、貯水槽中の滞留時間が長期化することに伴う水質悪化によって引き起こされる衛生上の問題点について、実プラント・モデルプラントを対象に調査し、研究した。使用水量は以前に比べて低下しており、受水槽容量が過大となり、滞留時間が大きくなっていること、またビル設計時と比べ実使用量が少なくなっていることが判明。また、貯水槽中に存在する、従属栄養細菌の実態調査を行い、本菌が貯水槽水道を広く汚染していることが分かった。遺伝子検査によって従属栄養細菌の菌種を同定するとともに、病原性に関する調査を行い、本菌により、易感染者に対するリスク増大があることが示唆された。水質悪化を抑制するための貯水槽の改善についての研究も実施した。

研究分担者

古畑 勝則 麻布大学 生命・環境科学部
教授

奥村明雄 一般社団法人全国給水衛生検査
協会会長

るとともに、貯水槽の設備、装置の改善による適切な管理システムの構築を研究し、行政としてどのように指導していくべきかの指針策定を行おうとするものである。

B 平成 23 年度の研究内容及び平成 24 年度研究の問題意識

A 研究目的

貯水槽内の水が滞留する事例が増加している。これは、残留塩素減少の原因となり、貯水槽水中に存在する細菌や原虫などの増加を引き起こす。貯水槽管理については、半日分程度の滞留を前提にしていたため、これまで長期滞留に伴う細菌増殖が問題を引き起こすリスクについては考慮されてこなかった。本研究では、実プラントでの調査やモデル貯水槽を用いて、長期滞留に伴うリスクの実態とメカニズムを明らかにす

本研究は 3 か年計画で行う。まず、貯水槽水道の滞留時間の長期化の実態を調査するとともに、自治体が水の滞留に伴う水質悪化の問題についてどのような対応を取っているかを調査する。またモデル貯水槽や実プラントにより滞留時間と水質悪化の関係について研究する。次に水質悪化によって引き起こされる衛生上の問題点について研究する。最後にこれらの成果に基づき装置の改善による滞留の改善方法や、行政による指導指針の策定に関する研究を行う。本

研究は3人の研究者のもとに日本タンク工業会、全国給水衛生検査協会、高層住宅管理業協会、東京都衛生局、東京都水道局からの専門家による委員会を設けて研究する。

B-1 研究の基本的考え方

この研究の問題意識は以下のとおりである。

(1) 人口の高齢化や社会環境の変化に伴い、水の使用量が減少し、貯水槽内の水の実際の滞留が計画時と比べ増加する傾向があるか否かについて検討すること

(2) 水の滞留により、高齢者等弱者に影響を与える可能性のある微生物が増加することがあるか否かについて検討すること。これにより、健康上の問題が生ずるのではないかについて検討すること

(3) 上記の検討を踏まえ、健康上の問題の発生を防止する観点から、貯水槽内の水量を調整し、滞留時間の増加を抑制する方策、特に簡便で、行政的に対応可能な方策があるかどうかについて検討すること

B-2 平成23年度の研究の概要

B-2-1 東京都健康福祉局が行った調査結果

- ① ライフスタイルの変化や洗面所、トイレ等での節水器具の普及により、使用水量は以前に比べて低下し、受水槽等の容量が過大となる懸念があること。
- ② 平成22年4月～23年10月の立ち入り検査において、残留塩素濃度不足による不適件数が多くみられたこと。

B-2-1-2 事務所ビルにおける設計水量、受水槽の回転数、使用水量及び飲用と雑用の使用割合の実態を調査した結果、

飲用系受水槽の回転数は、ビルの7割で1.5回日を下回っていた。

B-2-2 自治体の指導担当者の問題意識を把握するため、東京都の保健所の担当者に対し、アンケート調査を実施。その結果、自治体の担当者は、今後の規制強化を受け止める意識を持っていることが判明した。

B-2-3 貯水槽中の残留塩素の変動とそれに伴う従属栄養細菌の消長に関する文献調査。

- ① 貯水槽中の残留塩素の変動に伴う従属栄養細菌の増殖に関する文献は、全く見つからなかった。
- ② 水道水中における従属栄養細菌に関する文献においては、これらの菌種は貧栄養細菌が多いことから水道水中での増殖は可能であることが考えられ、水道水の滞留などにより残留塩素が消失した場合には、これらの従属栄養細菌が増殖する可能性が考えられた。

B-2-4 貯水水道水における従属栄養細菌の汚染状況並びにリスク低減化に関する基礎調査

水道水の滞留により従属栄養細菌の増殖するリスクが考えられるが、使用している貯水槽の調査がないことから、23年度調査では、モデル実験と実地調査により、研究を行った。

- ① モデル貯水槽を設置し、1月18日から2月17日までの1ヶ月間について従属栄養細菌の汚染菌量について、経日的変動を調べたが、増殖は認められなかった。

- ② 実地調査では、貯水槽 31 件中 29 件（93.5%）から従属栄養細菌が検出され、飲料水に広く汚染していると判断された。ただし、季節、対象に偏りがあると考えられ、今後の研究が必要と考えられる。
- ③ 25 か所の施設において、アンケート調査を行い、一日の回転数を算出した。回転数の少ないものが多く、全体の 62.5% が東京都の指導基準以下であった。対象数が少ないこと、1 日の回転数と従属栄養細菌数とは明確な成績が得られていないので、さらに継続して調査する必要がある。
- ④ 検出された従属栄養細菌は、グラム陰性の桿菌が 65%、グラム陽性桿菌が 29%、少数のグラム陽性球菌で、グラム陰性球菌は検出されなかった。

B-3 24 年度の研究の視点

24 年度の研究は、

- ① 貯水槽中の滞留時間が長期化しているかどうかの実態、それに伴って引き起こされる水質悪化の実態について、継続して調査を行う。
- ② 長期化によって引き起こされる衛生上の問題点について実プラントを対象に引き続き調査する。23 年度は冬季であったにもかかわらず、従属栄養細菌がほとんどの貯水槽から検出されている。24 年度は、夏季に、集合住宅や高齢者施設などにおいて調査を行う。
- ③ 遺伝子解析を行い、菌族、菌種を特定する。
- ④ 装置の改善による滞留改善の方法、水質悪化防止について研究する。

との視点で研究を実施した。

（倫理面への配慮）特になし

C 研究結果・考察

C-1 東京都における貯水槽等給水設備に係る衛生上の課題に対する取組

1. 目的

東京都ビル衛生検査班では、「建築物における衛生的環境の確保に関する法律」（以下、建築物衛生法）に基づき所管する特定建築物のうち、都内 23 区内の延べ床面積 10,000 m²超の事務所ビルを対象に、平成 15、16 年度並びに平成 22、23 年度における飲料水受水槽回転数、使用水量及び飲料水と雑用水の使用割合等の実態を調査した。

2. 結果

1) 飲用系受水槽回転数

受水槽回転数は、一日平均使用水量を受水槽の有効容量で除して算出した。平成 15、16 年度においては 1.36（回/日）、平成 22、23 年度では 1.3（回/日）であった。調査結果より、受水槽の容量が過大となっていることが推測された。多くのビルでは実際の水使用量が給水設備設計時よりも少ないため、従来から用いられてきた給水量算定値が実状に合致しなくなっているものと考えられる。

2) 使用水量

雑用系給水設備を有しないビルにおける平均使用水量（①飲用＋雑用）においては、平成 15、16 年度約 48 L/人・日、平成 22、23 年度約 50 L/人・日であった。調査結

果より、実際には 30～70L /人・日程度しか使用していない事務所ビルの割合が高く、

設計の基礎となっている空気調和・衛生工学便覧に示されている事務所の平均使用水量（60～100L /人・日）と比較すると、使用量が 3 割から 5 割少なくなっていることが分かった。

3) ビル建設時の設計水量

設計水量の平均値は 68.5L /人・日、飲用と雑用の割合は 30 : 70～40 : 60 であった。

設計水量はビルの規模に関係なく、60 L /人・日もしくは、80L /人・日を想定しているビルが 14 件（70%）あった。

3. 考察及び課題

1) 飲用系受水槽の回転数は、都の指導指針を下回っているビルの割合が高く、受水槽の容量が過大となっていた。十分な残留塩素を確保し衛生的で安全な水を供給するために、水槽の有効容量を減少させる等の対策が必要である。

2) ビル建設時における一人当たりの使用水量（平均値）は、便覧記載の使用量（60～100L /人・日）に近い値であり、実態とは約 20L /人・日の差があった。また、既存ビルにおいても平均使用水量（飲用＋雑用）は約 50L /人・日で、便覧と比較すると、使用水量が 3 割から 5 割少なくなっている。実状を踏まえ容量が過大とならないよう設計する必要がある。

C-2 貯水槽の衛生管理と細菌学的検討、特に従属栄養細菌の汚染状況について

23 年度に実施したモデル貯水槽の 30 日間

にわたる経日的調査では一般細菌数は 1ml 当たり 10 個以下であったし、大腸菌は 100ml 当たり陰性であり、従来の細菌検査からは衛生管理上の新たな問題は認めなかった。また、従属栄養細菌も汚染菌数は低く 10ml 当たり 10 個以下であり、30 日間の調査でも従属栄養細菌の顕著な増殖は観察されなかった。東京都内や多摩地域の貯水槽 31 件（学校、事務所、医療施設、飲食店）中 29 件(93.5%)から従属栄養細菌が検出され、本菌は貯水槽水道に広く汚染していることを明らかにした。

23 年度の成績は気温の低い冬季であったので、2 年目の研究では気温の高い夏季にモデル貯水槽や実施施設の貯水槽の従属栄養細菌の汚染実態調査を行い、貯水槽の滞留時間や残留塩素などの衛生管理状況との関係について調査を行った。また、貯水槽清掃時の管理のための基礎資料として貯水槽壁面のバイオフィルムとしての従属栄養細菌の意義についても調査を行った。

実験方法と調査対象

1) 実験モデル貯水槽

23 年度と同様に立川市内の(財)東京顕微鏡院の敷地内に設置された貯水槽（大きさ：1m³、材質：FRP、ガラス繊維強化プラスチック）を利用した

2) 実験用の飲料水

モデルの貯水槽に立川市水道水を 1m³ 入れ、1 ヶ月間に渡り経日的に検査を実施した。

3) 調査期間

本調査は夏期と秋期の期間にそれぞれ実施

した。夏季は平成 24 年 7 月 26 日から 8 月 25 日、秋季は平成 24 年 10 月 1 日から 10 月 31 日間に経日的に貯水槽の水を採取した。

4) 検査項目

貯水槽水の水温、残留塩素、一般細菌、大腸菌および従属栄養細菌を測定したまた ATP（アデノシン三リン酸）も測定した。

5) 実施設の貯水槽の調査は平成 24 年 8 月から 9 月の夏季に東京都内及び多摩地域の貯水槽計 29 件（学校 20 ヶ所、給食センター 1 ヶ所、高齢者施設 7 ヶ所、病院 1 ヶ所）についてアンケート調査と水温、残留塩素の測定並びに一般細菌、大腸菌、従属栄養細菌の検査を行った。

6) 貯水槽壁面の細菌測定の実施

貯水槽側壁の 4 面と底およびつなぎ目について拭き取り検査材料とした。

検査成績

1. モデル貯水槽における従属栄養細菌の経日的観察

1) 夏季の調査（平成 24 年 7 月 26 日から 8 月 25 日）

（1）設置貯水槽の水温と残留塩素の経日的変動

設置時の残留塩素は 0.4mg/l であったが、その後は暫時減少し、2 日で 0.2mg/l、4 日で 0.1mg/l となり、5 日後では検出されなかった。水温は調査時が夏季であり、25～30℃の高い水温であった。

（2）従属栄養細菌

一般細菌数は試験開始時から 6 日までは

検出されなかったが、7 日で 1ml 当たり 1 個、11 日で 120 個に増加してきたが、30 日でも 480 個にすぎなかった。

大腸菌は 100ml 当たり、いずれも 30 日まで検出されなかった。

従属栄養細菌数は検査開始時から 1ml 中に 1 個含まれていた。1 日で 96 個検出され、やや増加した。その後 6 日まではほぼ同じ菌量であった。7 日以降は顕著に増殖し、1ml 当たり 2,900 個、20 日は 230,000 個となった。水温が 25℃以上であっても、一般細菌の増殖は殆ど認められないが、従属栄養細菌の増殖は顕著であった。従属栄養細菌は塩素濃度が高い場合には増殖が認められなかったが、残留塩素濃度が 0.1mg/l 以下減少して以降に増殖が認められた。

（3）ATP による検査

細菌数が多くなれば ATP 量も高くなり、細菌数と ATP は相関性が認められること、また簡便で迅速性(1 分以内に判定)があることから ATP 検査は、水環境や食品工場の機器など表面の細菌汚染の検査に応用されている。15 日までは従属栄養細菌数が 1 万個以下であり、ATP 値(発光量)も低かった。従属栄養細菌数が 10 万個以上では ATP 値(発光量)は 100-200 であり、それほど顕著な値ではなかった。

2) 秋季の調査（平成 24 年 10 月 1 日から 10 月 31 日）

（1）設置貯水槽の水温と残留塩素の経日的変動

水温は調査時が秋季であり、25℃～17℃であった。設置時の残留塩素は 0.5mg/l

であったが、その後は暫時減少し、4 日で 0.3mg/l、10 日で 0.2mg/l となり、20 日では検出されなかった。

(2) 従属栄養細菌

一般細菌数は 5 日と 15 日に 1 個検出された以外調査期間中は検出されなかった。大腸菌も全て陰性であった。

従属栄養細菌数は検査開始時から 5 個含まれていたが、10 日まではほぼ同一菌数で経過した。15 日で 12 個検出、以降 25 日まではほぼ同じ菌数、30 日では 10,000 個にまで増殖した。夏季の成績と同様に秋季の場合でも残留塩素濃度が減少した 15 日頃から従属栄養細菌の増殖がみられた。

(3) ATP による検査

貯水槽水の ATP 値は夏季の調査に比して一般細菌数や従属栄養細菌数が低いことから、低い値であった。

2. 実施設による貯水槽水の従属栄養細菌の汚染状況と衛生管理

1) 実施設の貯水槽からの従属栄養細菌の検出

学校 20 ヶ所、給食センター 1 ヶ所、高齢者施設 7 ヶ所、病院 1 ヶ所の計 29 件中全例から従属栄養細菌が検出され、その検出菌数は 4 例が 1ml 当たり 1 個以下、10 例が 1-10 個、11 例が 11-100 個、4 例が 101-1,000 個であった。

なお、大腸菌は全例とも陰性であった。一般細菌は 3 例が 370~160 個であったが、これらの従属栄養細菌数は 37~160 個であり、特に多い菌数ではなかった。

2) 貯水槽の衛生管理と従属栄養細菌の汚染状況

(1) 貯水槽の水の回転数と従属栄養細菌

貯水槽に長期間水が滞留することにより従属栄養細菌数が増加することが想定されたが、回転数が 2.1~3.3 であっても従属栄養細菌数は 23 個以下であって、回転数が低い場合でも特にこれらの細菌数が高いとは云えなかった。

(2) 残留塩素濃度と従属栄養細菌(表 5)

対象とした貯水槽水の残留塩素濃度は 3 件が 0.1mg/l、6 件が 0.2mg/l、13 件が 0.3mg/l、6 件が 0.4mg/l であった。残留塩素濃度が高い 0.4mg/l の場合 6 例中 1 例は従属栄養細菌数が 12,000 個/ml であったが、他の 5 例は 100 個以下/ml であったし、残留塩素が 0.1~0.2mg/l の 9 例中 6 例は従属栄養細菌数が 101 個以上/ml の高い菌数であった。

その他貯水槽の建築年次、有効容量、清掃日と従属栄養細菌についても調査したが、特に関連性は認めなかった。

3. 検出された従属栄養細菌の簡易分類

モデル貯水槽水や実施設の貯水槽水から検出された従属栄養細菌 250 菌株についてグラム染色性、形態、および集落の色調から簡易に分類を行った。グラム陰性桿菌が大部分で、224 株だったが、集落は黄色、白色、オレンジ、ピンク、灰色、クリーム色、透明のさまざまな色調であった。グラム陽性桿菌は 16 株で、色調も様々であった。グラム陽性球菌が 10 株で色調は黄色が 1 株、白色が 9 株であった。グラム陰性球菌や酵母は検出されなかった。

なお、同一貯水槽から検出される従属栄養細菌は簡易分類ではあるがほとんどが 3

種類以上の異なる菌で汚染されていた。

4. 貯水槽壁面の従属栄養細菌

貯水槽壁面には各種の細菌がバイオフィルムを形成することが知られているので、モデル貯水槽壁面について従属栄養細菌の付着状況について調査を実施した。

1) 夏季の調査

水道水をモデル貯水槽に 1 月 18 日から 146 日間満たしたまま放置された貯水槽の壁面の従属栄養細菌数は壁面 10cm² 当たり 11,000~86,000 個、底部が 22,000 個 であり、どの壁面でもほぼ同じ菌量の汚染があった。壁面の一般細菌数はそれに比して低く 300 個 以下であった。繋ぎ目の従属栄養細菌数は菌数が高く 130,000 個と 360,000 個であったし、一般細菌数も 4,000 個と 900,000 個であった。

貯水槽の洗浄・消毒を行った後、同様に壁面の細菌数を測定したところ従属栄養細菌数は 90 個、一般細菌数は検出されなかった。

2) 秋季の調査

モデル貯水槽に水道水を 7 月 26 日から 65 ヶ日間満たしたまま放置された貯水槽の壁面の従属栄養細菌数は夏季の調査よりはより多い菌数であった。すなわち、4 ヶ所の壁面と底部の従属栄養細菌数は 10cm² 当たり 150,000~7,900,000 個、つなぎ目は 1600,000 個 と 3,300,000 個であった。一般細菌数もやや多く、640~3,500 個であった。洗浄・消毒を施した後の底面の従属栄養細菌と一般細菌数は 100 個以下に減少した。

考察と結論

1. モデル貯水槽における従属栄養細菌の解析

1) モデル貯水槽の残留塩素は水温の影響が大きく、水温が 25~30℃ (夏季) では残留塩素が早期に減少し、5 日で検出されなくなったし、水温が 20~25℃ (秋季) では残留塩素は徐々に減少し、15 日で 0.1mg/l であった。前年度報告した冬季(水温 8~12℃) のデータでは更に徐々に減少し、20 日でも 0.1mg/l 残留していたことから、貯水槽水の温度条件が高くなると塩素が早期に消費され、殺菌効果が減少すると考えられた。

2) 貯水槽の水温が 25~30℃(夏期)では 7 日後から従属栄養細菌数が急速に増殖し、2,900 個/ml であったが、水温が 20~25℃(秋期)では従属栄養細菌数は 15 日で 12 個/ml であった。前年度の報告した冬季の成績では従属栄養細菌数は 10 個/10ml 以下にすぎなかった。すなわち、モデル貯水槽水中の従属栄養細菌数は水温による影響が大きいことを明らかにした。

3) 従属栄養細菌は残留塩素が認められても生存しており、塩素に耐性を示す菌であると推察される。塩素が消失後に徐々に菌の増殖が認められ、温度条件が高い夏季では高い菌数に増殖した。従属栄養細菌は残留塩素により、増殖が抑制され、残留塩素濃度が 1mg/l 以下になると急速に増殖することを明らかに、残留塩素濃度の減少防止対策が衛生管理として重要であると考えられた。

2. 実施設の貯水槽における従属栄養細菌汚染

1) 夏期の調査では調査件数が 29 件で多くはないが、従属栄養細菌はすべての貯水槽から検出された。前年度の冬季の調査においても 43 件中 41 件から従属栄養細菌が検出されており、貯水槽水中には普遍的に存在する細菌である。

2) 夏期の調査では従属栄養細菌数は貯水槽水 1ml 当たり、10 個以下が 48.2%、10 個以上が 13.8%であったが、前年度報告した冬季の調査では 10 個以下が 85.4%を占めており、水温の高い夏期では貯水槽中で従属栄養細菌が増殖していることが推察された。

3) 施設別の従属栄養細菌数は調査施設数にバラツキが大きく、正確には判断できないが、学校に比して高齢者施設が高い傾向であった。

4) 貯水槽の管理状況など（回転数、建築年次、有効容量、清掃日、残留塩素）と従属栄養細菌数との関連性についても調査を行ったところ、残留塩素濃度が低い場合には従属栄養細菌数が高い傾向を示唆するデータが得られたが、さらに調査件数を増やして検討する必要がある。

実施設の貯水槽の回転数、建築年次、有効容量、清掃日からの経過日と従属栄養細菌との関連性は明確にすることができなかった、今後さらに検査件数を増やして解析しなければならない。

5) モデル貯水槽での実験や実地貯水槽から検出された従属栄養細菌はグラム染色性、形態、色調からでも多数のグループに分類され、さまざまな菌属や菌種が含まれ

ていることが推察された。

6) これまでの従属栄養細菌の調査は東京都に限られたデータのみであるので、全国的にも広く分布する細菌であると推察されるが、エビデンスがないので更に広域的な調査が必要であろう。また、貯水槽の管理に必要な科学的なデーターとして検出された従属栄養細菌の各種温度条件での増殖態度や塩素抵抗性についての詳細な解析も求められる。

3. 貯水槽の清掃と従属栄養細菌

貯水槽水中に多数存在する従属栄養細菌は貯水槽壁面にバイオフィームを形成する可能性があることから、貯水槽壁面から従属栄養細菌の検出を行った。貯水槽の側面、底部からは一般細菌数に比して大量の従属栄養細菌が検出された。また、バッキングが入れられた繋ぎ目からはより多くの従属栄養細菌が検出され、バイオフィームを形成していると考えられた。

従って、貯水槽の管理として適切な清掃と消毒は重要であり、清掃後の清浄度の評価は従属栄養細菌数を指標にすることが妥当であると考ええる。

C-3 従属栄養細菌の菌種同定と病原性に関する文献調査

貯水槽水から分離された従属栄養細菌の種類を知るために分離株について遺伝子学的検査を行い、種を決定した。また、分離株の病原性を判断する資料として分離株に関する臨床分離例を検索した。

結 果

1. 菌種の同定

分離株 30 株の遺伝子検査の結果、種まで決定できた株は、半数の 14 株に過ぎず、残りの 14 株は属レベルでの同定となった。なお、2 株はデータベースに全く該当する配列がなく、同定不能であった。分離株のほとんどは桿菌で、集落の色調が黄色の *Sphingomonas* spp. や 赤 色 の *Methylobacterium* spp. が比較的多く同定された。夏季および冬季に調査した同一の設置タンク水では、あまり菌種の共通性は認められなかった。また、夏季に調査した設置タンク水とつなぎ目などのタンク付着物においても同様に明確な共通性はみられなかった。

2. 文献検索

同定できた菌種に関する臨床分離例の一部を菌種ごとにまとめた。*Methylobacterium radiotolerans*、*Acinetobacter calcoaceticus*、*Brevundimonas vesicularis*、*Staphylococcus hominis* に関する臨床分離例にヒットしたが、いずれの菌種においても基礎疾患を有する患者からの分離報告が多く、これらの菌種は共通して日和見病原体であると考えられた。

まとめ

貯水槽水から分離された菌株は、*Sphingomonas* spp. や *Methylobacterium* spp. などのグラム陰性ブドウ糖非発酵性桿菌が多く、文献調査の結果から、これらの分離株は日和見感染症の原因菌になり得る可能性が示唆された。

C-4. 装置の改善に関する研究

1) 目的・課題

水質悪化を抑制するため貯水槽に付加する装置として改善策を検討し、その可能性について評価した。

貯水の滞留によって塩素濃度が低下することから、滞留時間を改善する方法、塩素濃度低下を改善する方法、また水温が高温なほど菌類の繁殖速度が速いことから水温上昇を改善する方法について検討した。

2) 改善手段

(1) 滞留時間の改善策

貯水槽内の滞留時間を短くする方策として、貯水槽水位コントローラー(水位制御装置)を設置する方法が考えられる。

貯水槽水道の用途によっては、その使用水量が季節変動や月次・週変動するケースが考えられその需要に応じた水位設定し、使用量に対応した貯水槽水位で運転することができるようになる。

(2) 塩素濃度低下の改善策

貯水滞留による塩素濃度低下を防ぐ方策として、塩素発生装置を設置する方法が考えられる。

(3) 水温上昇の改善策

貯水槽内の水温上昇を抑制する方策として、①遮熱効果を有する塗料で塗装する(屋外設置の場合)、②発泡材などを取り付けた保温パネルを使用するなどの方法が考えられる。

D 今後の研究の方向

平成 24 年度の研究は、貯水槽中の滞留時

間が長期化することに伴う水質悪化によって引き起こされる衛生上の問題点について、実プラント・モデルプラントを対象に調査し、研究した。使用水量は以前に比べて低下しており、受水槽容量が過大となり、滞留時間が大きくなっていること、またビル設計時と比べ実使用量が少なくなっていることが判明した。また、貯水槽中に存在する、従属栄養細菌の実態調査を行い、本菌が貯水槽水道を広く汚染していることが分かった。遺伝子検査によって従属栄養細菌の菌種を同定するとともに、病原性に関する調査を行い、増殖した従属栄養細菌には、高齢者など易感染者に対するリスク増大をもたらすものがあることが明らかになった。さらに水質悪化を抑制するための貯水槽の改善についての研究も実施し、滞留時間の調整、塩素量の維持、水温上昇の防止策などについて成果を得た。

平成 25 年度は、全国的に実プラント調査を行うことにより、従属栄養細菌実態と本菌による易感染者に対するリスクを評価する。また装置の改善による滞留の改善方法について検討する。これまでの成果に基づき、行政による指導指針の策定に関する研究を行う。

貯水槽水道はそのすべてが適切に管理されているわけではなく、一定規模以上のもののみが水道法で管理が義務付けられているだけである。その検査は年に 1 回行えばよく、検査内容には、滞留時間は含まれてはいない。滞留時間が長くなった場合には、塩素を追加添加することによって対処している例があるが、塩素に対して耐性のある細菌の不活化は困難である。現在の管理者

の意識を前提に、費用負担をできる限り少なくし、技術レベルの現状も踏まえながら、装置の改善を行い、滞留を改善するため衛生行政担当者が利用できる指導指針の案を策定することとしている。

Ⅱ. 分担研究報告書

II 分担研究報告書

貯水槽水道における水の滞留の長期化や不適切な管理による水質悪化とその対策に関する
研究（従属栄養細菌の菌種同定と病原性に関する文献調査）

研究分担者 古畑勝則 麻布大学教授

研究要旨

貯水槽水道における水の滞留に伴って、増加した従属栄養細菌について、菌種を同定し、病原性に関する文献調査を実施した。その結果、高齢者など易感染者に対して感染リスクを引き起こすものがあることを明らかにした。

A 研究目的

従属栄養細菌の菌種同定と病原性に関する
文献調査

貯水槽水から分離された従属栄養細菌の種
類を知るために分離株について遺伝子学的
検査を行い、種を決定した。また、分離株
の病原性を判断する資料として分離株に関
する臨床分離例を検索した。

B 方 法

分離株の塩基配列（約 500 bp）を決定し、
データベースにより各菌株との相同性から
菌種を推定した。また、決定できた菌種を
キーワードとして臨床分離例に関する文献
を検索した。

（倫理面への配慮）

C 研究結果

1. 菌種の同定

分離株 30 株の遺伝子検査結果を表 1 にまと
めた。

表 1 遺伝子解析結果

No.	菌 株	菌 種	相同率(%)
1	A-1	<i>Sphingobium</i> sp.	100
2	A-3	<i>Methylobacterium populi</i>	99.8
3	A-6	<i>Pseudomonas putida</i>	100
4	A-123	<i>Mucilaginibacter rigui</i>	98.8
5	A-124	<i>Sphingomonas</i> sp.	100
6	A-5	<i>Pseudomonas</i> sp.	99.1
7	A-125	UN*	
8	A-162	<i>Mycobacterium</i> sp.	99.8
9	A-121	<i>Sphingomonas</i> sp.	97.7
10	A-160	<i>Rathayibacter</i> sp.	99.4
11	給 25-1	<i>Sphingobium</i> sp.	100
12	給 25-7	<i>Staphylococcus hominis</i>	100
13	給 25-8	<i>Methyloversatilis</i> sp.	100
14	給 25-11	<i>Bradyrhizabium</i> sp.	100
15	B-56-1	<i>Brevundimonas</i> sp.	100
16	B-56-2	<i>Sphingomonas</i> sp.	99.8
17	B-56-8	<i>Methylobacterium radiotolerans</i>	100
18	B-56-9	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	100
19	B-56-11	<i>Methylobacterium oryzae</i>	99.5
20	B-60-2	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	100
21	B-60-3	<i>Brevundimonas aurantiaca</i>	100
22	B-60-4	<i>Methylobacterium aquaticum</i>	99.3
23	B-60-6	<i>Sphingomonas hankookensis</i>	99.3
24	60-1	<i>Sphingomonas hankookensis</i>	99.5
25	P-1	<i>Pseudomonas jessenii</i> / <i>moraviensis</i>	99.8
26	P-2	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	100
27	P-3	<i>Sphingobium</i> sp.	99.5
28	P-4	UN*	
29	P-6	<i>Reyranella</i> sp.	100
30	B-56-5	<i>Sphingomonas</i> sp.	100

表2 分離株の菌種同定結果

冬季		夏季	
設置タンク水		設置タンク水	
A-1	<i>Sphingobium</i> sp.	給 25-1	<i>Sphingobium</i> sp.
A-3	<i>Methylobacterium populi</i>	給 25-7	<i>Staphylococcus hominis</i>
A-5	<i>Pseudomonas</i> sp.	給 25-8	<i>Methyloversatilis</i> sp.
A-6	<i>Pseudomonas putida</i>	給 25-11	<i>Bradyrhizabium</i> sp.

設置タンク付着物

P-1	<i>Pseudomonas jessenii / moraviensis</i>
P-2	<i>Brevundimonas vesicularis</i>
P-3	<i>Sphingomonas</i> sp.
P-4	UN*
P-6	<i>Reyranella</i> sp.

一般施設(水)

A

A-121	<i>Sphingomonas</i> sp.
A-123	<i>Mucilaginibacter rigui</i>
A-125	UN*

B

A-160	<i>Rathayibacter</i> sp.
A-162	<i>Mycobacterium</i> sp.

一般施設(水)

C

B-56-1	<i>Brevundimonas</i> sp.
B-56-2	<i>Sphingomonas</i> sp.
B-56-8	<i>Methylobacterium radiotolerans</i>
B-56-9	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
B-56-11	<i>Methylobacterium oryzae</i>

D

B-60-2	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
B-60-3	<i>Brevundimonas aurantiaca</i>
B-60-4	<i>Methylobacterium aquaticum</i>
B-60-6	<i>Sphingomonas hankookensis</i>

* ; 同定不能

データベースの情報が乏しく、種まで決定できた株は、半数の 14 株に過ぎず、残りの 14 株は属レベルでの同定となった。なお、2 株はデータベースに全く該当する配列がなく、同定不能であった。分離株のほとんどは図 1 のような桿菌で、集落の色調が黄色（図 2-A）の *Sphingomonas* spp. や赤色（図 2-B）の *Methylobacterium* spp. が比較的多く同定された。これらの結果を試料ごとにまとめたものが表 2 である。夏季および冬季に調査した同一の設置タンク水では、あまり菌種の共通性は認められなかった。また、夏季に調査した設置タンク水とつなぎ目などのタンク付着物においても同様に明確な共通性はみられなかった。

2. 文献検索

同定できた菌種に関する臨床分離例の一部を菌種ごとに表 3 にまとめた。*Methylobacterium radiotolerans*、*Acinetobacter calcoaceticus*、*Brevundimonas vesicularis*、*Staphylococcus hominis* に関する臨床分離例にヒットしたが、いずれの菌種においても基礎疾患を有する患者からの分離報告が多く、これらの菌種は共通して日和見病原体であると考えられた。

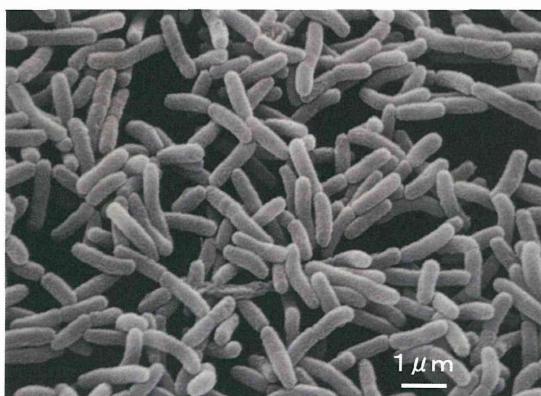


図1 従属栄養細菌の電子顕微鏡所見



図2 従属栄養細菌の集落

表3 文献一覧

Methylobacterium radiotolerans

No	著者	タイトル	掲載誌	巻、号	ページ	発行年
1	de Cal M	<i>Methylobacterium radiotolerans</i> bacteremia in hemodialysis patients (血液透析患者の <i>Methylobacterium radiotolerans</i> 菌血症)	Giornale italiano di nefrologia	26(5)	616-620	2009

Acinetobacter calcoaceticus

No	著者	タイトル	掲載誌	巻、号	ページ	発行年
2	Gómez Garcés J L	Clinical importance of bacteremias caused by <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> によって引き起こされた菌血症の臨床的重要性)	Enfermedades infecciosas y microbiología clínica	8(10)	622-625	1990
3	Schloesser R L	An outbreak of <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> infection in a neonatal care unit (新生児検診治療室における <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 感染の発生)	Infection	18(4)	230-233	1990
4	Alegre J	Non-hospital-acquired pneumonia caused by <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> によって引き起こされた、非院内感染の肺炎)	Enfermedades infecciosas y microbiología clínica	8(5)	328-328	1990
5	Zaer F	Nosocomial infections due to <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> による院内感染)	Journal of Postgraduate Medicine	35(1)	14-16	1989
6	Rolston K	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> septicemia in patients with cancer (癌患者における <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 敗血症)	Southern medical journal	78(6)	647-651	1985
7	Pal R B	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> -an opportunistic pathogen (<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> -日和見病原体)	Journal of Postgraduate Medicine	27(4)	218-221	1981

Brevundimonas vesicularis

No	著者	タイトル	掲載誌	巻、号	ページ	発行年
8	Lee M R	Bacteremia caused by <i>Brevundimonas</i> species at a tertiary care hospital in Taiwan,2000-2010 (2000～2010年の台湾の第三病院における <i>Brevundimonas</i> 属菌によって引き起こされた菌血症)	European journal of clinical microbiology & infectious diseases	30(10)	1185-1191	2011
9	Pelletier , Jesse	<i>Brevundimonas vesicularis</i> keratitis after laser in situ keratomileusis (レーザー原位置角膜屈折矯正後の <i>Brevundimonas vesicularis</i> 角膜炎)	Journal of cataract and refractive surgery	36(2)	340-343	2010
10	Panasiti V	A cutaneous infection caused by <i>Brevundimonas vesicularis</i> :a case report (<i>Brevundimonas vesicularis</i> によって引き起こされた皮膚感染:事例報告)	International journal of immunopathology	21(2)	457-461	2008
11	Yang , Mei-Li	Case report: infective endocarditis caused by <i>Brevundimonas vesicularis</i> (事例報告: <i>Brevundimonas vesicularis</i> によって引き起こされた感染性心内膜炎)	BMC infectious diseases	6	179-179	2006
12	Mondello , Placido	Nosocomial <i>Brevundimonas vesicularis</i> meningitis (病院における <i>Brevundimonas vesicularis</i> 脳膜炎)	Le Infezioni in medicina	14(4)	235-237	2006
13	Gilad J	Hospital-acquired <i>Brevundimonas vesicularis</i> septicaemia following open-heart surgery:case report and literature review (開胸手術後の <i>Brevundimonas vesicularis</i> 敗血症の院内感染:事例報告と文献調査)	Scandinavian journal of infections diseases	32(1)	90-91	2000