

Ⅲ. 研究報告書

平成 25 年度研究報告書

貯水槽の衛生管理と細菌学的検討、特に従属栄養細菌の 存在状況について

財団法人 東京顕微鏡院 伊藤 武

貯水槽水道における水の滞留や不適切な管理による水質の悪化状況を把握するために、水道法による細菌検査の他に従属栄養細菌の実態調査をこれまでは東京都を中心に行ってきた。今年度は東京以外に京都市の貯水槽水道についても調査を行った。

実験方法と調査対象

1) 調査対象と時期

東京：平成 25 年 10 月から 11 月に東京都内及び多摩地域の貯水槽計 42 件（学校 41 ヶ所、教育施設 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。

京都府：平成 25 年 9 月から 10 月にかけて京都市内の貯水槽 30 件（共同住宅 15 件、学校 10 件、事務所 3 件、高齢者施設と興行場がそれぞれ 1 件）について東京の場合と同様に検査を行った。

2) 検査項目と検査法(図 1)

(1) 一般細菌：上水試験法に従い、試験水を 1ml を 2 枚のシャーレに添加し、標準寒天培地(日水製薬)で混釈培養を行い、37℃、24± 2 時間培養後出現した集落数を算定した。

(2) 大腸菌：上水試験法に従い、ピルビン酸加 XGAL-MUG 培地(日研生物)に試験水 100ml 接種し、37℃、24± 2 時間培養後βグルクロニダーゼの産生性により大腸菌の確認を行った。

(3) 従属栄養細菌の検出法：本菌については上水試験法などを参考に R2A 寒天培地(日水製薬)を使用して以下の 3 つの方法で従属栄養細菌の検出と定量を行った。

①試験水 1ml を 2 枚のシャーレーに接種し、50℃に保温した R2A 培地で混釈培養を行った。必要に応じて試験水を 10 段階希釈を行い、同様に R2A 培地で混釈培養を行った。

②試験水 0.1ml を 2 枚 R2A 寒天培地表面に接種し、コンラージで全面塗布培養を行った。

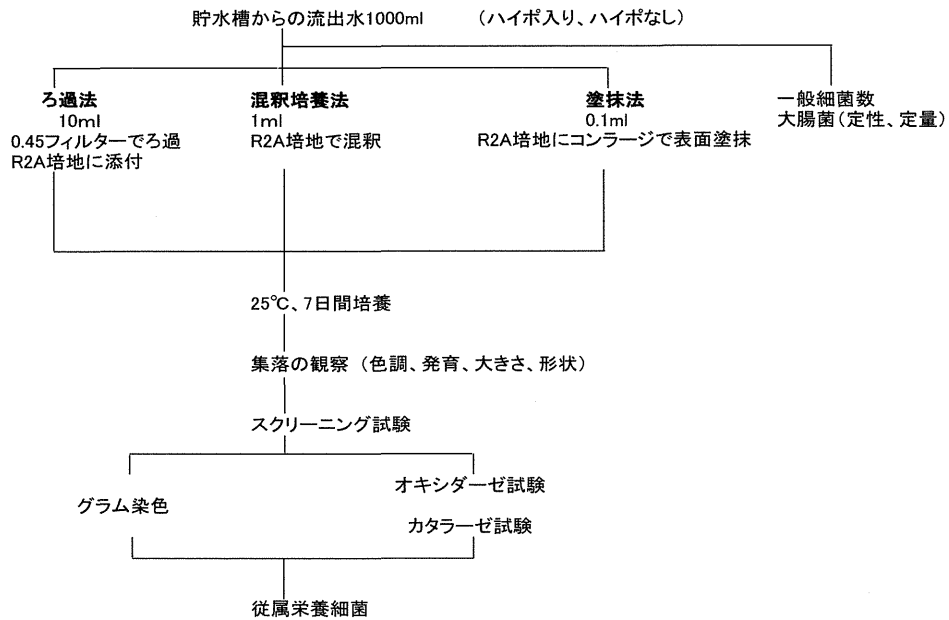
③汚染菌量が少量の場合には菌が検出できないことを懸念し、試験水 10ml をミリポアフィルター(0.45μ)で濾過し、R2A 寒天に添付する濾過法で菌検出を行った。

R2A 寒天培地はそれぞれ 25℃、7 日間培養した。培養 2 日目までに出現した集落は一般細菌と推察されるので除外した。なお、培養温度は上水試験法では 25-30℃とされているが、保坂らや猪又らの検討により良好な結果が得られている 25℃とした。

(4) 分離された従属栄養細菌の簡易分類：分離菌株は R2A 液体培地(日本製薬)に寒天を 0.3%添加した半流動培地を用いて保存した。

分離菌株の簡易分類は R2A 寒天培地上に発育した集落の形状、色調、大きさ、およびオキシダーゼ試験、カタラーゼ試験、グラム染色によって簡易的に分類した。

図1 従属栄養細菌の検査法



2. 東京都における貯水槽水の従属栄養細菌の存在状況と衛生管理

1) 貯水槽からの従属栄養細菌の検出(表1)

学校41ヶ所(小学校28件、中学校13件)教育施設1ヶ所の一般細菌数は6例が100cfu/ml以上であったが、大腸菌はいずれも非検出であった。

従属栄養細菌は全例から検出され、その検出菌数は1ml当たり1個以下が2件の貯水槽、1-10個が19件、11-100個が12件、101-1,000個が8件であった。

表1 東京都の貯水槽水からの従属栄養細菌検出成績(2013年9月~11月)

採水施設	検査件数	一般細菌数 (100cfu/ml以上)	大腸菌 (陽)	従属栄養細菌数 (cfu/ml)				陽性件数
				<1	1-10	11-100	101-1000	
学校	41	5	0	2	19	12	8	41
教育施設	1	1	0	0	0	1	0	1
計	42	6	0	2	19	13	8	42(100%)

なお、一般細菌は6例が130~1100個であったが、これらの従属栄養細菌数は30~180個であり、特に多い菌数ではなかった。

2) 貯水槽の水の回転数と従属栄養細菌

アンケート調査から貯水槽水の回転数が明確になった貯水槽は13件に過ぎなかった。回転数が0.5未満の貯水槽が3件、0.5-1未満が10件であった(表2)。水の回転数と従属栄養細菌数は表3に示す如く回転数が0.5未満では4件中2件が従属栄養細菌数が101-1000個/ml、0.5-1未満の貯水槽では9件中7件は従属栄養細菌が1-10個/mlであった。

表2 貯水槽の回転数(2013年9月～11月)

採水施設	検査件数	調査件数	従属栄養細菌数[cfu/ml]	
			0.5未満	0.5-1未満
学校	41	13	3	10
計	41	13	3	10

表3 従属栄養細菌数と貯水槽の回転数

従属栄養細菌数	回転数	
	0.5未満	0.5-1未満
<1	1	0
1-10	1	7
11-100	0	1
101-1000	2	1
1000<	0	0
計	4	9

3) 残留塩素濃度と従属栄養細菌

対象とした貯水槽水の残留塩素濃度4件が0.1mg/l、12件が0.2mg/l、26件が0.3mg/lであった(表4)。残留塩素濃度が高い0.3mg/lの場合26件中15件は従属栄養細菌数が10個/ml以下であった。9件は11-100個/ml、2件が101-1000/mlであり、残留塩素濃度0.3mg/lの場合従属栄養細菌数はやや低い菌数であった。残留塩素濃度が0.2mg/l16件中10件が11-1、000個/mlであった。(表5)。

表4 貯水槽水の残留塩素(2013年9月～11月)

採水施設	調査件数	残留塩素濃度 [mg/L]		
		0.1	0.2	0.3
学校	41	4	11	26
教育施設	1	0	1	0
計	42	4	12	26

表5 貯水槽水の残留塩素と従属栄養細菌数(2013年9月～11月)

従属栄養細菌数	残留塩素濃度			
	<0.1	0.1	0.2	0.3
<1	0	0	0	2
1-10	0	1	5	13
11-100	0	2	2	9
101-1000	0	1	5	2
1000<	0	0	0	0
計	0	4	12	26

2. 京都市における貯水槽水の従属栄養細菌の存在状況と衛生管理

1) 貯水槽からの従属栄養細菌の検出(表6)

共同住宅 15 件、学校 10 件、事務所 3 件、高齢者施設と興行場がそれぞれ 1 件計 30 件の一般細菌数はすべてが 100cfu/ml 以下、大腸菌は 1 例が陽性であった。

従属栄養細菌は 25 件 (83.3%) から検出され、その検出菌数は 1ml 当たり 1-10 個 8 件、11-100 個が 9 件、101-1,000 個 6 件、1001-10,000 個が 2 件であった。

表6 京都市の貯水槽水からの従属栄養細菌検出成績(2013年9月～10月)

採水施設	検査件数	一般細菌数 (100cfu/m)	大腸菌 (陽性)	従属栄養細菌数 (cfu/ml)					陽性件数
				<1	1-10	11-100	101-1000	1001-10000	
共同住宅	15	0	0	0	1	7	5	2	15
学校	10	0	0	0	3	2	1	0	6
事務所	3	0	1	0	3	0	0	0	3
高齢者施設	1	0	0	0	0	0	0	0	0
興行場	1	0	0	0	1	0	0	0	1
計	30	0	1	0	8	9	6	2	25(83.3%)

大腸菌陽性 1 例の従属栄養細菌数は 370 であり、それほど高い菌数ではなかった。なお、大腸菌陽性の 1 件の貯水槽については詳細な検討が必要であるが、採水時での汚染も考慮しなければならない。

2) 貯水槽の水の回転数と従属栄養細菌数

20 件についてはアンケート調査により貯水槽水の回転数が明確となった。回転数が 0.5 回未満が 1 件、0.5-1 回未満が 11 件、1.1-1.5 回未満が 6 件、3.1-4.0 回未満が 1 件であった(表7)。

水の回転数が高い場合には従属栄養細菌数が低いし、回転数が低い場合には従属栄養細菌数が高い傾向であった(表8)。

表7 貯水槽の回転数(2013年9月～10月)

採水施設	検査件数	調査件数	回転数			
			0.5未満	0.5-1未満	1.1-1.5未満	3.1-4.0未満
共同住宅	15	15	0	10	5	0
学校	10	2	0	0	1	1
事務所	3	2	1	1	0	0
高齢者施設	1	1	0	0	0	1
興行場	1	0	0	0	0	0
計	30	20	1	11	6	2

表8 従属栄養細菌数と貯水槽の回転数(2013年9月～10月)

従属栄養細菌数	回転数			
	0.5未満	0.5-1未満	1.1-1.5未満	3.0-4.0未満
不検出	0	0	0	1
<1	0	0	0	0
1-10	1	2	1	1
11-100	0	3	4	0
101-1000	0	5	0	0
1000<	0	1	1	0
計	1	11	6	2

3) 残留塩素濃度と従属栄養細菌

貯水槽水の残留塩素濃度は0.1mg/l以下が7件、0.2mg/lが7件、0.3mg/lが7件、0.4mg/lが8件、0.5mg/lが1件であった(表9)。

残留塩素濃度が高い0.4mg/lの場合8例中6例は従属栄養細菌数が非検出あるいは1-10個/ml以下であった。残留塩素濃度が0.2mg/l以下の14例中は9例は従属栄養細菌数が高く11-100個/ml以上であった(表10)。

表9 貯水槽水の残留塩素(2013年9月～10月)

採水施設	調査件数	残留塩素濃度 [mg/L]					
		<0.1	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
共同住宅	15	0	1	5	6	2	1
学校	10	1	3	2	1	3	0
事務所	3	0	2	0	0	1	0
高齢者施設	1	0	0	0	0	1	0
興行場	1	0	0	0	0	1	0
計	30	1	6	7	7	8	1

表10 貯水槽水の残留塩素と従属栄養細菌 (2013年9月～10月)

従属栄養細菌数	残留塩素濃度 [mg/L]					
	<0.1	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
不検出	0	1	0	1	3	0
<1	0	0	0	0	0	0
1-10	0	2	2	1	3	0
11-100	0	2	3	2	1	1
101-1000	1	0	2	2	1	0
1000<	0	1	0	1	0	0
計	1	6	7	7	8	1

4) 清掃後の期間と従属栄養細菌

清掃後の期間が短ければ従属栄養細菌数も少ないことが想定される。清掃直後あるいは3ヶ月以内であれば従属栄養細菌が1件を除き7件は10個/ml以下である。清掃後6-7ヶ月後であった22件中6件は従属栄養細菌が10個/ml以下、10件は10-100個/ml未満、6件は100-10,000個/mlであった。

その他貯水槽の建築年次、有効容量についても従属栄養細菌との関連性を調査したが、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

東京都の調査で検出された従属栄養細菌214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、147株で集落は黄色、白色、オレンジ、ピンク、茶、黒、透明のさまざまな色調であった。グラム陽性桿菌は49株で、色調も様々であった。グラム陽性球菌が12株で色調は黄色が5株、白色が7株であった。グラム陰性球菌と酵母がそれぞれ1株であった(表11)。

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73%の貯水槽では

3種類から6種類の異なる菌で汚染されていたと推察された。

表11 コロニーの色調とグラム染色の関係(2013年10月～11月)

	ピンク	黄色	オレンジ	白	透明	茶	黒	合計
グラム陰性桿菌(GNB)	32	77	11	21	6	0	0	147
グラム陰性球菌(GNC)	1	0	0	0	0	0	0	1
グラム陽性桿菌(GPB)	6	24	8	4	1	3	3	49
グラム陽性球菌(GPC)	0	5	0	7	0	0	0	12
酵母	1	0	0	0	0	0	0	1
不明	1	0	1	2	0	0	0	4

考察と結論

これまでの調査は東京都内の貯水槽を対象に行ってきたので、今年度は東京以外の他地域の貯水槽の細菌学的問題点を把握するために京都市の設置貯水槽水についても調査を行った。水道法による一般細菌や大腸菌群は設置貯水槽水からは東京都も京都市も希には検出されるが、それほど高い菌数ではない。従属栄養細菌の検出率も両地域で殆ど全例から検出され、従属栄養細菌は一般細菌数や大腸菌よりは高頻度に存在していることを明らかにした。東京都と京都市の貯水槽水の従属栄養細菌の存在頻度はそれほどの相違はみとめられないし、菌量も全く同一季節ではないが、両者にはそれほどの違いはないと判断される。このことから、従属栄養細菌は全国の貯水槽水に広く存在していることが推察される。

貯水槽管理状況としては残留塩素、貯水水の一日の回転回数、清掃状況と清掃後の期間、建築年次、有効容量についてもアンケート調査を実施した。これまでの調査では従属栄養細菌は貯水槽の残留塩素が減少すると増殖すること、および環境の気温や水温の影響を受け、水温が高くなると急速に増殖することを明らかにしてきた。

貯水槽管理状況としては残留塩素、貯水水の一日の回転回数(水の滞留期間)、建築年次、有効容量、清掃後の期間についてアンケート調査を実施した。従属栄養細菌は塩素濃度が低いと菌数が高くなる傾向が認められた。また、1日の水の回転数が長い場合も従属栄養細菌数が高い傾向が認められた。

清掃後の期間と従属栄養細菌数との関連は認められなかったが、清掃後の期間よりはむしろ残留塩素や水温の影響が大きいと考える。また、適切な清掃と消毒の実施状況が貯水槽内の従属栄養細菌の存在に強く影響すると考える。これまでの調査では従属栄養細菌は貯水槽の壁面にバイオフィルムを形成し、高濃度に存在することを明らかにしてきた。すなわち、従属栄養細菌は微量ではあるが水道水中にも含まれ、清掃と消毒を適切に実施しなければ貯水槽内で増殖すると推察される。

建築年次、有効容量などと従属栄養細菌との関連性は認められなかった。

