

201330003B

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 23 年度～ 25 年度 総合研究報告書

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 26(2014)年 3 月

目次

I.	総合研究報告書	
	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調査研究)	25
	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 (滞留の長期化に対応し、水の回転数を管理する方策、これに伴う対策指針、 指導監督指針の研究)	31
	奥村明雄	
III.	研究報告書	
1.	貯水槽の衛生管理と細菌学的検討、特に従属栄養細菌の実態と衛生管理	47
	一般財団法人 東京顕微鏡院 伊藤 武	
資料	微生物汚染実態に関する文献	67
	研究委員会名	152

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）

総合研究報告書

研究課題：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

課題番号：H23 - 健危 - 一般 - 007

研究代表者：所属機関 麻布大学

氏名 早川哲夫

研究要旨

実プラントでの調査及び実験プラントを用いて、貯水槽水道の長期滞留の実態を明らかにするとともに、それに伴う細菌増殖の実態とそのメカニズムを解明した。特に従属栄養細菌の増殖と易感染者に対するリスクについて明らかにした。また、貯水槽の設備、装置の改善による滞留時間の調整や、適切な管理システムの構築について研究し、行政としてどのように指導していくべきかの、考え方を取りまとめた。

研究分担者：所属機関 麻布大学

氏名 古畑勝則

研究分担者：所属機関 一般社団法人全国

給水衛生検査協会

氏名：奥村明雄

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 研究方法

本研究は研究代表者のほかに、麻布大学生命・環境科学部教授 古畑勝則、および一般社団法人全国給水衛生検査協会会長奥村明雄を研究分担者として実施する。

また、研究者の下に専門家による委員会を設置して研究する。

委員会は日本給水タンク工業会、全国給水衛生検査協会、東京都衛生局、東京都水道局からの専門家によって構成される。

本研究は3年計画で実施した。

初年度は貯水槽水道の滞留時間の長期化の実態を調査し、それに伴う水質悪化の計測とメカニズムの解明を、実プラントにおける調査と、モデル貯水槽を用いた実験により研究した。

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、半日分程度の滞留時間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実験プラントでの試験などによって、滞留時間の長期化と、それに伴う細菌増殖の実態とそのメカニズムを明らかにするとともに、貯水槽の設備、装置の改善による適切な管理

2年目は衛生上の問題点について易感染者の多い病院や介護施設などを対象に従属栄養細菌に重点を置き研究した。また滞留時間の長期化の実態調査とモデル貯水槽についても実験を継続した。

3年目は従属栄養細菌についての調査を継続するとともに、実プラントの調査個所を東京に加え、京都においても実施した。また、装置の改善による滞留の改善方法や残留塩素の保持に関する措置についても研究し、最終的に多くの貯水槽水道の設置者に対して、実現可能な、行政による指導指針の策定に関する研究を行った。

(倫理面での配慮) 該当しない

C 研究結果

初年度は貯水槽水道の滞留時間の長期化の実態を調査し、滞留時間と残留塩素の減少の関係、滞留時間長期化に伴う細菌や微生物の増殖などの関係を明らかにした。また汚染実態の測定方法やメカニズムの解明を、実プラント調査と、モデル貯水槽を用いた実験により研究した。

滞留時間が長期化した場合、本来は施設構造の変更などが必要になるが、おおくは残留塩素を添加するなどの措置を講ずるだけの対応しかなされていないことが判明した。一方残留塩素が 0.1 mg/l 以上確保されていても不活化されない細菌が存在していることも確認した。

水質項目としての一般細菌数の測定は、従属栄養細菌のうち混血動物の体内で、栄養が十分にあり、体温 37 度Cの体内で比較的短時間に増殖する細菌を対象に行われている。しかし、滞留時間が長期化したことに伴って、現在の一般細菌の測定方法では

検出することは困難な、15 度から 20 度C程度で、貧栄養状態にある貯水槽内においても増殖する可能性のある増殖速度の遅い細菌が増殖する恐れがある。これらの細菌は健康人に対しては重篤な健康被害を引き起こすものではないと考えられるが、病院や介護施設に滞在する易感染者に対しては、リスク増大の要因となる。初年度では、滞留時間と水質悪化の関係を明らかにするとともにそのメカニズムの解明について研究した。

2年目は衛生上の問題点について研究した。

貯水槽中の滞留時間が長期化することに伴う水質悪化の例としては、残留塩素の減少、細菌などの増殖、トリハロメタンなどの有害物質の増加などがある。これ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調査し、研究した。特に、貯水槽中に存在する従属栄養細菌の実態について調査するとともに、易感染者に対するリスク増大について研究した。

3年目は従属栄養細菌の実態について、さらに調査個所を拡大し、引き続き研究を継続するとともに、貯水槽の温度の調節、滞留時間の制御をはじめとする装置の改善による滞留の改善方法について研究し、これまでの成果を踏まえ、行政による指導のための考え方を取りまとめた。

C-1 研究の視点

貯水槽水道の数は 110 万基におよび、その管理は設置者の責任のもとにある。しかし、そのすべてが適切に管理されているわけではなく、水道法では、一定規模以上の

容量を持つ簡易専用水道の管理が義務付けられているだけである。またその検査は年に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。

また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。

また貯水槽の滞留時間の調整を行うため、安易にボールタップの一を下げ、そのためオーバーフロー管とボールタップ吐水口との位置関係により吐水口空間が確保されず、貯水槽水が水道本管に逆流するリスクを生じさせている例も見られている（注）。

（注）「受水槽の逆流防止措置について」水田ら、平成22年度簡易専用水道検査全国技術研究発表会 平成22年 一般社団法人全国給水衛生検査協会

現在貯水槽水道については、水道法第34条の2で一定規模以上のものについては登録検査機関による年1回の検査が義務づけられている。しかしながらその検査の内容は、簡単な水質に関するもので、滞留時間についての検査は対象外である。今回の研究の目的の一つは、最近の需要量の減少に伴う、貯水槽内の滞留時間の長期化に実態を明らかにすることであり、またそれに伴って生ずる、水質劣化の具体的な内容を明らかにすることである。

これまで水道により供給される水の微生物や細菌汚染からの安全性を担保するために、残留塩素を蛇口において0.1 mg/l以上確保し、一般細菌数が基準以下であればよいとされてきたが、水質基準を満たし残留

塩素が存在する水においても、貯水槽内の滞留時間が長期化すれば増殖する細菌があることが分かってきた。本研究はこの事実を踏まえ貯水槽水道の滞留時間の適正化をはかることなどにより、供給される飲料水の安全性の向上をめざすものであり、「塩素消毒しておけば、細菌によるリスクは大きくはない」というこれまでの水道の常識に問題を投げかけるものとなっている。

また貯水槽水道の管理責任は、水道事業者にあるのではなく、貯水槽水道の設置者、管理者にある。しかしながら管理者などの衛生に関する意識は必ずしも高いものとは言えない。管理者の意識向上を引き続き図ることに加え、費用負担をできる限り少なくし、また技術レベルの現状も踏まえながら、装置の改善を行い、滞留を改善し、残留塩素を維持することができれば、特に易感染者の増加が見込まれる今後の日本における貯水槽水道による健康リスクの減少を図ることができる。

C-2 平成23年度の研究概要

C-2-1 東京都貯水槽水道調査

近年、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、ビル内での使用水量は以前に比べて低下している。そのため、30年以上前の調査に基づく空気調和・衛生工学便覧（第14版4給排水衛生設備編；（社）空気調和・衛生工学会、2010 以下、便覧という。）に記載されている事務所での使用水量60～100L/人・日を参考にすると、現在では受水槽等の容量が過大となる懸念がある。東京都では平成22年4月から23年10月までの立入検査において、残留塩素濃度不足による不適件数が

飲料水で 883 件中 22 件(2.5%)、雑用水で 331 件中 104 件(31.4%)であった。

そこで、適正な容量の受水槽の設置や維持管理を指導するため、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。

(調査概要)

調査は、主用途が事務所であり、都が所管する特別区内の延べ床面積 10,000 m²を超える特定建築物（建築物における衛生的環境の確保に関する法律第 2 条に規定する施設）において実施した。（調査期間：平成 22 年 4 月～23 年 10 月）

(結果・考察)

(1)ビルの建設時において、一人当たりの使用水量は平均 68.5±15.9L/人・日で設計されていた。この値は便覧記載の 60～100L/人・日に近い値であり、厨房や冷却塔を除く使用水量の実態 50.0±22.2L/人・日とは約 20L/人・日の差がある。したがって、建設時の設計水量を現状よりも少ない算定としなければ、竣工後に受水槽の容量が過大となることが明確になった。

(2)飲用系受水槽の回転数は、調査したビルの約 7 割で 1.5 回/日を下回っており、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は、有効容量を減少させる等の対応が必要である。

(3)使用水量(飲用+雑用)の平均値は 50.0±22.2L/人・日、50L/人・日未満のビルは 56 件(59%)だった。便覧記載の 60～100L/人・日と比較すると、使用される水量が非常に少なくなっている。また、飲用系の割合も

約 20%に減少していた。

(4)東京都では、平成 15 年度にも同様の調査を実施しているが、今回の調査でも飲料水の使用水量が減少していることが明確になった。使用水量の実態は設計値を下回っており、適正な容量の受水槽を設置することで、水槽内の停滞水を低減させ、末端水栓において残留塩素濃度を確保することができるものと考えている。

(5)今回の調査は、事務所用途のみを対象としたものであるため、ホテル、映画館などの状況は不明である。また、集合住宅など貯水槽水道の大部分を占める用途についての実態は、本法による検査対象となっていないため、検針データ等の解析からでしか把握することが出来ない。適正な貯水槽設置と衛生的な有効容量を維持するためには、今後、集合住宅における 1 世帯あるいは居住者 1 人あたりの水道使用量の実態調査が、不可欠と思われる。

C-2-2 貯水槽水道の管理に関する自治体アンケート調査

結果

(1) 回答を得たのは、34 保健所中 26 保健所で、回答率は、76.5%であった。

(2) 問 1 は、「貯水槽の水の滞留による水質悪化の問題について実態を調査し、把握しているか」についてである。

① この結果は、「調査し、把握している」が 35% (9 保健所) で、「調査していない」が 62% (16 保健所)、回答なしが 4% (1 保健所) であった。新しい問題であるにもかかわらず、ある程度の期間が問題意識を

持って対応していることが分かり、興味深い。

② 「調査している」と回答したところは、いずれも一斉検査時、立ち入り検査時に「水の使用量調査」、「回転数」の把握を行っている。

③ 「調査していない」「回答なし」と回答したところでも、「ある程度は行っている」、「回転数の低い場合は指導している」、「苦情相談のあった場合は調査している」、「異常があれば調査している」等の自由記載があり、かなりの保健所で問題意識を持っていることがうかがえた。

(3)問2は、「何らかの指導をしているか」どうかの問いである。

① この結果は、「始めている」が54%（14保健所）、「始めていない」が42%（11保健所）「回答なし」が4%（1保健所）であった。半数を超える保健所が問題意識を持ち、何らかの指導を行っているとの結果となった。問1の「実態を調査し、把握している」より大きな割合となっているが、全体の調査、把握に先行して、必要に応じ、個別に対応を行っていることが読み取れる。

② 「始めている」の回答した機関では、「適正な回転数になるよう要領の見直し」、「水位を下げての使用」、「水位制御装置の設置」、「必要に応じ、給水停止、清掃、水質検査の実施」、「有効容量を減少させる対策」、「直結給水化」等の指導が行われている。

C-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

貯水槽中の残留塩素の変動と、それに伴

う従属栄養細菌の増殖に関する文献を検索した。

方法

「水道水」、「残留塩素」、「細菌」、「従属栄養細菌」、「増殖」などをキーワードとして、「J Dream II」、「医中誌」、「Pub Med」などを利用して検索を行った。

結果

検索した結果、関連のある文献をまとめたが、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、まったく見つからなかった。

一方、我が国の水道水中に生息する従属栄養細菌に関する文献として以下の文献が検索された。

- 1) Identification of heterotrophic plate count bacteria isolated from drinking water in Japan by DNA sequencing analysis (2009)
- 2) 水道水中の従属栄養細菌の同定における DNA 塩基配列解析法と表現性状試験との比較 (2008)
- 3) Identification of yellow-pigmented bacteria isolated from hospital tap water in Japan and their chlorine resistance (2007)
- 4) Isolation and identification of *Methylobacterium* species from the tap water in hospitals in Japan and their antibiotic susceptibility (2006)
- 5) 病院内水道水からの貧栄養細菌の分離状況 (2006)

これらの文献から、残留塩素が存在する

水道水中において、グラム陽性菌では *Micrococcus* spp. や *Staphylococcus* spp.、*Mycobacterium* spp. など、グラム陰性菌では、*Sphingomonas* spp. (*Blastomonas* spp.、*Erythromonas* spp.)、*Methylobacterium* spp.、*Pseudomonas* spp. など多種類の従属栄養細菌が生息していることが明らかになった。

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と考えられる。したがって、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。

C-2-4 貯水水道水における従属細菌の汚染状況並びにリスク低減化の基礎調査

貯水槽に水道水が滞留することにより飲料水に存在している従属栄養細菌が増殖するリスクが推察されているが、使用されている貯水槽での実態調査がないことからモデル実験と実地調査を行った。特に従属栄養細菌の菌量と滞留時間や残留塩素濃度などの関わりについて調査した。

1. モデル実験における従属栄養細菌の汚染菌量と経日的変動

1) 実験モデル貯水槽

1m³ の大きさの貯水槽 (材質: FRP、ガラス繊維強化プラスチック) を立川市内の(財)東京顕微鏡院の敷地内に設置した。

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

本調査は平成 24 年 1 月 18 日から 2 月 17 日までの期間

結果

1. モデル実験における従属栄養細菌の菌量は 10cfu/10ml 以下であり、経日的に検討したが、従属栄養細菌の増殖は認められなかった。ただし、実験が 1 月の冬季であったことから、水温が 10℃前後であり、長期間の観察でも菌の増殖が認められなかったと推察される。今後は気温の高い夏季や秋季での検討が必要であろう。

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、本菌は飲料水に広く存在していると判断された。ただし、菌量は 86.2% が 100cfu/10ml 以下の少数菌であった。

実地調査も冬季であったことから気温の高い夏季での調査が必要である。また、調査対象が飲食店に偏っており、今後は集合住宅や感染症に抵抗性の低い高齢者施設、病院などを対象とすべきである。

3. 貯水槽の一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、さらに調査数を増やして検討すべきであろう。

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。これらの菌については生化学的性状試験を実施したが、生物活性が低く分類することができなかった。今後は 16S r DNA 塩基配列などの遺伝子による菌属や菌種の解析が必要である

5. 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

詳細な実験が従属栄養細菌のリスク評価の基礎的資料の提供となろう。

C-2-5 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合数が多くみられたこと。

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。

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。

C-2-6 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。

C-2-7 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、飲料水に広く存在していると考えられた。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。

C-3 平成24年度の研究概要

C-3-1 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㎡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48L/人・日、平成22、23年度約50L/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、60L/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。

考察

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-3-2 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存在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. 実施による貯水槽水の従属栄養細菌の存在状況と衛生管理

1) 実施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が存在していた。

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が存在していた。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 カ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 0.1mg/l 以下になると急速に増殖することを明らかにした、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ル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、バック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、バイオフィル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られる。

C-3-3 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感染症の原因菌になり得る可能性が示唆された。

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-3-4 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

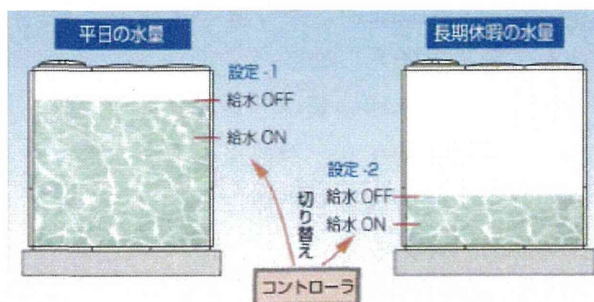
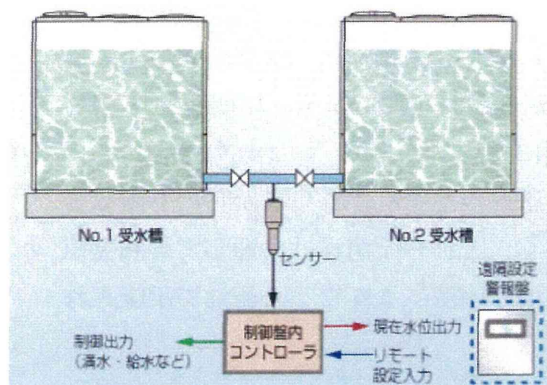
(1) 滞留時間の改善策

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。

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。

C-4 平成 25 年度の研究概要

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した。また装置の改善による滞留の改善方法について検討した。最終的にこれまでにえ

られた成果に基づき、行政による指導のための指針策定に関する研究を行った。

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向上策を継続するとともに、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の考え方を取りまとめた。

C-4-1 東京および京都における水の滞留の長期化の実態と細菌増殖の実態について
実態調査結果

東京においては（一財）東京顕微鏡院が実施した。

東京における調査結果は以下のとおりである。

実施設の貯水槽の衛生管理状況と従属栄養細菌の存在状況

(1) 貯水槽水の回転数と従属栄養細菌(表 8)

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 1 未満であっても従属栄養細菌数は 12 件中 10 件が 10 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いが、傾向としては回転数が高い場合は菌数が少ない傾向であった。

表8 従属栄養細菌数と貯水槽の回転数との関係(2012.1～2013.11)

従属栄養細菌数	回転数						
	0.5未満	0.5-1未満	1.0-1.5未満	1.5-2.0未満	2.0-3.0未満	3.0-4.0未満	4.0以上
<1	0	2	1	0	2	0	0
1-10	2	6	3	1	2	0	1
11-100	0	1	1	0	0	1	0
101-1000	0	1	1	0	0	0	0
1000<	0	0	0	0	0	0	0
計	2	10	6	1	4	1	1

(2) 残留塩素濃度と従属栄養細菌(表 9)
対象とした貯水槽水の残留塩素濃度は 8 件が 0.1mg/l、32 件が 0.2mg/l、63 件が 0.3mg/l、7 件が 0.4mg/l であった。残留塩素濃度が高い 0.4mg/l の場合 7 例中 1 例は従属栄養細菌

数が 12,000 個/ml であったが、他の 6 例は 100 個以下/ml であったし、残留塩素が 0.1～0.2mg/l の 40 例中 13 例は従属栄養細菌数が 101 個以上/ml の高い菌数であった。

表 9 従属栄養細菌数と残留塩素濃度の関係(2012.1～2013.11)

従属栄養細菌数	残留塩素濃度 [mg/l]			
	0.1	0.2	0.3	0.4
<1	0	1	11	1
1-10	2	16	26	3
11-100	4	4	15	2
101-1000	2	10	9	0
1000<	0	1	2	1
計	8	32	63	7

(3) 調査時の水温と従属栄養細菌
 調査時の水温が低い場合は概して従属栄養細菌数が低い傾向が伺えられた。ただし、
 水温が高い 26-30℃であっても低い菌数も認められた。(表 10)

表10 水温と従属栄養細菌数(東京都)

従属栄養細菌数 _[cfu/ml]	水温 [°C]						
	1～5	6～10	11～15	16～20	21～25	26～30	31<
<1	1	9	3	1	1	4	0
1-10	0	16	16	7	11	5	0
11-100	0	2	11	1	6	6	0
101-1000	0	2	8	0	3	1	0
1000<	0	0	0	0	0	0	0
計	1	29	38	9	21	16	0

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。

京都においては(社)京都微生物研究所が平成 25 年 9 月 30 日～10 月 26 日に 30 施設を対象に実施した。

滞留時間は 0.4 日から 0.6 日が標準とされているが、0.6 日以下の滞留時間であるものはわずか 2 施設に過ぎず(高齢者施設 1 施設と大学 1 施設)そのほかの 28 施設は滞留時間が長期化(または不明)していた。

また細菌試験の結果ではすべての施設で、一般細菌および大腸菌は検出されなかったが、従属栄養細菌については大学施設のすべて(4 施設)、学校施設では 6 施設のうち 2 施設、共同住宅 15、興行所 1、事務所 3 については 19 施設すべてで従属栄養細菌が検出されていることが分かった。(最大は 1ml 中 10000 cfu であった)

C-4-2 従属栄養細菌の菌種同定と病原性について

平成 24 年度に分離同定された菌株についての塩素抵抗性について調査した。いず

れの株も塩素抵抗性が強く、No.12 以外は
グラム陰性菌であり、滅菌水道水中でも良
好に増殖した。
すなわち、これらの細菌は、消毒効果があ

る状態でも殺菌されず、塩素が消失した状
態では容易に増殖することが推察された。

従属栄養細菌の水道水中での消長と塩素抵抗性

検体番号	菌 種	塩素抵抗性		滅菌水道水中での増殖 初期菌数 --- 4 日目菌数 (CFU/ml)
		99.9%	mg・min/l	
2	<i>Methylobacterium populi</i>		3.84	1,000 --- 270,000
3	<i>Pseudomonas putida</i>		2.16	1,000 --- 830,000
4	<i>Mucilaginibacter rigui</i>		0.04	1,000 --- 30,000
12	<i>Staphylococcus hominis</i>		0.17	×
17	<i>Methylobacterium radiotolerans</i>		0.72	1,000 --- 250,000
18	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>		0.66	1,000 --- 870,000
19	<i>Methylobacterium oryzae</i>		18.3	1,000 --- 400,000
20	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>		0.23	1,000 --- 2,400,000
21	<i>Brevundimonas aurantica</i>		0.27	1,000 --- 13,000 (1 日目) その後減少
22	<i>Methylobacterium aquaticum</i>		9.68	1,000 --- 400,000
23	<i>Sphingomonas hankookensis</i>		0.13	1,000 --- 11,000 (1 日目) その後減少
24	<i>Sphingomonas hankookensis</i>		0.1	1,000 --- 520,000
25	<i>Pseudomonas jessenii/morariensis</i>		0.22	1,000 --- 100,000
26	<i>Brerundimonas resicularis</i>		0.3	1,000 --- 63,000