

<p>(問3) 滞留による水質悪化について、どのような御認識をお持ちかお答えください。 また、今後、この問題にどのように対処しようとしておられるかについて、お答えください。</p>	
特別区所管	貯水水槽の滞留が原因で残留塩素濃度が0.1ppmを下回る事例は少ないが、その場合、水位の調節あるいは直結水栓への切り替えや増圧ポンプにすることを助言している。小規模貯水水槽にあっては、登録機関による検査の義務付けはないが、所有者、管理者(以下、所有者等)が設備の維持管理を含めた貯水水槽全般の衛生管理の責任を負っている。従って、当所では所有者等に対し、貯水水槽の衛生管理に
特別区所管	認識:遊離残留塩素濃度の消失 対処:建物の使用水量による貯水水槽容量の見直し等を指導
特別区所管	依頼書にあったように、水の使用が減る理由として飲用しないことや節水があるが、そのほかにテナントの退出による使用水量の減や水道直結水の残留塩素の低濃度化から、末端で残留塩素が検出されないケースが生じていて、問題と考えている。
特別区所管	貯水水槽水道から直結給水及び増圧直結方式への転換が水槽の清掃を含めた衛生管理が容易であると考え。
特別区所管	改築した学校で顕著化している。トイレ・散水は雨水、飲料は直結ウォウタークーラー使用。受水槽経由は、特別教室と教室内の流し、トイレの手洗いのみになっている。受水槽経由水の使用方法から、単位時間あたりの使用量に対応できる容量と、一日当たりの使用量に適した容量の乖離が出てきている。単純に回転数の低下であれば、ポルタップ等の調整での対応ができるが、時間あたりの給水能力と衛生確保に基づく貯水水槽水道については、立入検査等により、指導しているため、問題は少ないといえる。しかしながら、小規模給水施設については、定期的な現況調査や、立入調査の実施とパネル展示等による維持管理の普及啓発を行っているが、設置数も多く、指導・助言が行き届かない場合が多々ある。今後も立入調査や普及啓発を実施していきたい。
特別区所管	過去は貯水水槽の水質について調査・指導を行ったことがありましたが、現在、水質悪化の報告が無い状態ですので、特に問題としてとらえておりません。
特別区所管	貯水水槽設置当初と比較して、利用者数の減少や節水意識向上の影響から使用量が減少している。既存の施設に対しても、状況に応じて給水設備の直結化を指導していく。
特別区所管	増圧給水等タンクを持たない施設が増加し、滞留による水質悪化事例も減少すると思われる。今後は、災害対策用タンクなどの非日常的な管理についての指導が求められると考えられる
特別区所管	最近では、飲料水を別途購入したり、節水型のトイレ、シャワーといった設備も普及してきたことにより、水道水の使用量が減少してきていることは認識しています。また、使用量の減少による受水槽の滞留問題も懸念してはおります。しかし、今後の対策については、現在のところ未貯水水槽での水の滞留による問題は、残留塩素の減少・不検出であり、この問題はしばしば発生している。実際の現場では、単に貯水水槽の回転数のみでは判断できず、水の残留塩素の頻繁なモニタリングが重要である。「停滞による水質悪化」が、「残留塩素の減少・不検出」を意味するものであるならば、ビル管理立入り検査や専用水道報告、簡易専用水道法定検査にともなう通報等で機会を捉えて指導を行っている。
特別区所管	問題は認識しているが、効果的に対処する手段を見いだせていない。
特別区所管	貯水水槽内の残留塩素が消失してしまえば、藻の発生や何らかの過程にて混入する細菌による汚染等に対応できないと考えられる。しかしながら、防火や防災等を理由に有効容量の減少に踏み切れない施設もあった。本問題に対しては今後とも衛生の観点から適切に指導してま
特別区所管	貯水水槽の滞留による水質悪化があることをまず広く区民に普及啓発していき、水が滞留しない工夫についてアドバイスをしていきたい。
特別区所管	新築物件については直結化や貯水水槽の低容量化が浸透してきたようである。既存の貯水水槽には、古い地下式の過大なものや居住者構成・テナント減少等により水の使用量が減少したもの等、改善を要するものがあるが、高額な経費を理由に対策をとらないことが多い。貯水水槽水道の維持管理の重要性を設置者・管理者に認識してもらい、適切な維持管理や改善をしてもらうことが重要である。今後も貯水水槽水道設備の維持管理に必要な知識の普及とともに貯水水槽を設けない給水方式への転換に関する普及啓発を推進していく。(具体的には「問2の
特別区所管	容量の過大な水槽や、滞留を生じやすい構造の水槽については改善するよう指導していきたい。

	<p>滞留があったとしても、末端での残留塩素が確保されていれば、とりあえずは問題ないと考えています。また滞留の確認より、毎日毎月の貯水槽の点検を適正に行っていれば、そうそう大きな事故につながるような状況は起こらないと考えています。点検の不備に加えて、滞留、残塩も出ないような場合は、やはり指導の必要はありますが、管理者の意識や技術力の度合いのほうが重要だと思います。専用水道(専用水道では水道技術管理者の選任が義務付けられている)のような施設はともかく、ご年配の方がマンション貯水槽の管理をなさっているようなところでは『回転数』や『残留塩素』などの説明をしても、ほとんど話が通じません。『水道の衛生』に対する設置者・管理者の意識や技術を高めるほうが先決なのではないでしょうか。</p> <p><b>その他</b>  保健所としては、今のところ簡易専用水道や小規模貯水槽水道等の『滞留による水質悪化』の調査は考えていません。理由としては、まず職員数の少なさに比べ貯水槽の数が多いこと。もちろん住民の方から苦情等の相談があれば、状況確認、場合によっては改善の指導等は行っていますが、管内全施設についての調査を行うのは物理的に難しいです。加えて管内の事故例では、設備の管理不備(例えば、マンホールのふたが外れていた、防虫網が破れたままになっていた等)などが汚染の主な理由で、貯水槽水の滞留のために残留塩素が低下し、事故につながった例も記憶になく『滞留による水質悪化』を意識したことは、あまりなかったのが正直なところです。またマンション等の場合、セキュリティや個人情報の関係で、簡単に連絡を取ることや、中に入れてもらうことが難しく、手間や時間がかかり、あまり効率的に作業が行えません。また報告書の提出により、回転数等や残留塩素の状況を求める方法も考えられますが、上述のように専門の管理者が常にいるわけではありませんで、管理状況についての正確な情報を把握し報告してもらう事も難しいのではと思います。あまり積極的な意見ではなく、申しわけありませんが、今後、なんらかの調査等を行うということであれば、ご協力させていただきます。</p>
局所管	<p>可能であれば、直結給水方式に変更するのが望ましい。又、事務所等では使用水量のうちトイレ洗浄等の雑用系での使用が多くを占めるので、飲用系統と雑用系統の給設備を分けるのが望ましい。建築設計に現在の水使用量の実態を反映できるようにするべき。ただ、震災時などの水確保の問題を考慮することも必要と思う。</p>
局所管	<p>節水器具の普及や、飲用水はペットボトル水を使用する人の増加等で、HASSの単位給水量が実態に合わなくなっている。東京都でも一人当たりの使用水量調査を行っているが、HASSの改訂が必要。</p>
局所管	<p>過去に比べ使用水量が減少し、さらに水道局が残留塩素の低減化を推進している現状において、給水末端で残留塩素濃度を確保するのが困難な状況にある施設が現に存在するため、今後は増加傾向と思われる。このため、受水槽を設計する段階で過大な容量を防ぐことや、予算に余裕があれば増圧直結方式に変更するよう助言することが必要と思われる。</p>
局所管	<p>・滞留による水質悪化は、日常管理や定期点検で早期発見につなげることができる。貯水槽設備管理者の衛生意識が必要である。  ・貯水槽での滞留のみが原因であれば、増圧直結給水方式への変更などが有効であるが、地域的や施設的な配管耐圧の問題、災害時の防災拠 点の場合の貯水槽撤去が出来ない場合などもある。</p>
局所管	<p>特殊な場合を別にして、基本的には使用水量に見合った貯水槽容量となっていることが大事。そのため、各施設における使用水量の把握や日常管理の徹底が重要になる。殊に島では利用者の変動が大きい旅館等での対応が難しい。残留塩素の確保が困難な場合は水位調整の可能な設備や塩素注入設備の導入が望ましいものと思うが、なかなか対応できていない。こうした施設では貯水槽水を直接飲用に使用しないことを徹底することもひとつの方策か。</p>
局所管	<p>・貯水槽容量の大小に係らず滞留が起これば水質悪化は起こりうる。という認識。  ・リスクのある施設については日常の管理(給水末端における残留塩素濃度の測定等)による水質の確認、水質異常の早期探知が大切と感じています。</p>
局所管	<p>設計水量に比べて、実際の使用水量が少ないことや、水道水の残留塩素濃度が低く抑えられている(おいしい水作戦等)ため、過大な貯水槽で、残留塩素確保等衛生問題が生じていると考えられる。そこで、今後も使用者・設置者からの苦情相談に個別に対応していく。</p>
市所管	<p>建設省告示第1597号以前の消防用水槽と共用の時代と比較して、劇的に改善されている。現在問題となっているのは、オフィスビル等の事業用建築物と認識している。オフィスビル等では、中水道の普及によるトイレ洗浄水の分離、ペット飲料やミネラルウォーターベンダーの普及により飲料水としての利用とそれに係る茶器の洗浄などの頻度が低下していることも原因と考えている。また、テナントビルや投資用マンション等で空室が増加していること、自社ビルであっても組織再編等により空フロア等が生じていることなどにより、使用水量が低下している場合もみられている。特定建築物の建築確認申請時など、設計者に対し社屋建替等で過去の実績があるときは実績に基づく容量計算をすること、テナントビル等であっても計算上最小の容量を採用すること等を指導している。また、学校、興行場など施設の使用状況や行事等により使用量が著しく増減する施設に対して電極棒による電磁弁制御等で水位の切替が容易に行える構造とすることなどについても助言している。また、専用水道では水道法により水道施設設計確認を行うため、施設設置者に対して、適切な構造設備となるよう指導している。</p>
市所管	<p>東京都水道局が実施した「クリーンアップ貯水槽事業」では、水質異常のあった施設がほとんどなかったことから、新たな取組みの予定はない。これまでどおり、簡易専用水道検査機関や水道事業体と連携し、貯水槽の適正管理を進める。</p>

### Ⅲ. 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実態と衛生管理

一般財団法人 東京顕微鏡院 伊藤 武

貯水槽水の微生物学的安全性は一般生菌数や大腸菌など上水試験法により評価されてきたが、飲料水に存在する従属栄養細菌〔Heterotrophic Plate Count:HPC〕は飲料水の病原菌汚染の指標となることや飲料水供給工程や処理方法の質的評価となることが議論されてきた。ところが現在、貯水槽水が長時間滞留することにより、残留塩素の減少の原因となり、微生物による健康リスクが懸念されてきたが、国内での従属栄養細菌に焦点を当てた研究はそれほど多くないし、貯水槽水を対象とした調査は殆どない。本研究では貯水槽水道水の質的評価とした従属栄養細菌の実態と貯水槽の衛生管理状況との関わりについて実験モデル貯水槽水や現在使用されている実施設の貯水槽水について基礎的な検討を行った。

## 実験方法と調査対象

### 1) 実験モデル貯水槽

立川市内の(一財)東京顕微鏡院の敷地内に設置した貯水槽(大きさ:1m<sup>3</sup>、材質:FRP、ガラス繊維強化プラスチック)をモデル貯水槽とした。設置貯水槽の東側と北側は特に高層建屋による遮蔽物はないが、南と西側には高層建物が有り、午前中は東側から日光がそそぐが、午後からは日光が遮断される。

### 2) 実験用の飲料水

モデル貯水槽には立川市水道水を1m<sup>3</sup>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

本調査は冬期、夏期および秋期の期間にそれぞれ実施した。冬期は2012年1月18日から2月17日、夏季は2012年7月26日から8月25日、秋季は2013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) 検査項目と検査法(図1)

(1) 貯水槽水の水温:通常のデジタル温度計(カスタム)で測定した。

(2) 残留塩素濃度:ジエチル-p-フェニレンジアミン法(DPD法)により残留塩素を測定した。

(3) 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)で混積培養を行い、37°C、24±2時間培養後出現した集落数を算定した。

(4) 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°C、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。

(5) 従属栄養細菌の検出法:本菌については上水試験法など<sup>1,2)</sup>や保坂ら<sup>3)</sup>、Bugnoら<sup>4)</sup>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枚のシャーレに接種し、50°Cに保温したR2A培地で混積培養を行った。必要に応じて試験水を10段階希釈を行い、同様にR2A培地で混積培養を行った。

②試験水 0.1m 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案し、試験水 10ml をミリポアフィルター(0.45 $\mu$ )で濾過し、R2A 寒天に添付する濾過法で菌検出を行った。

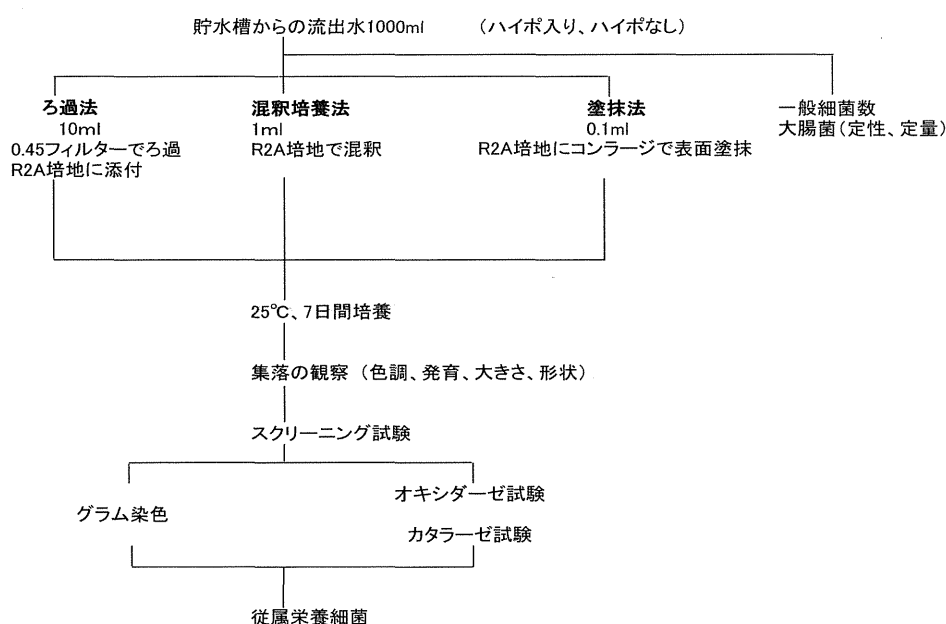
R2A 寒天培地はそれぞれ 25 $^{\circ}$ C、7 日間培養した。培養 2 日目までに出現した集落は一般細菌と推察されるので除外した。なお、培養温度は上水試験法では 25-30 $^{\circ}$ Cとされているが、保坂ら<sup>3)</sup>や Uhl ら<sup>5)</sup>の検討により良好な結果が得られている 25 $^{\circ}$ Cとした。

(6) 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。

(7) ATP (アデノシン三リン酸) 測定：水に汚染する全ての細菌を化学的に定量する ATP の測定を行った。ATP 測定器はクリーントレース UXL100 (3M 社)を使用した。

図1 従属栄養細菌の検査法



#### (8) 貯水槽壁面のサンプリング法

モデル貯水槽壁面における従属栄養細菌によるバイオフィーム形成を把握する目的で貯水槽水を放流し、貯水槽側壁の 4 面と底部の 5 箇所について拭き取り綿棒 (ST25:エルメックス社) で 100cm<sup>2</sup> の面積をふき取り、サンプリング試料とした。また、つなぎ目 (パッキング部分 1m) についても検査材料とした。さらに、貯水槽の清掃と消毒を行ってから、再度清掃状態を把握するために前記と同様な部位についてサンプリングを行った。貯水槽の洗浄・消毒は標準的な清掃作業として高圧洗浄機で洗浄し、その後 50ppm 次亜塩素酸ナトリウムを使用してスポンジで汚れを落とし、再度高圧洗浄機で洗い流した。次いで 50ppm 次亜塩素酸ナトリウムを壁面に噴霧して 30 分間放置した。最後に高圧洗浄機で水洗いを行った後、前記の方法により底面についてふき取りを行ない検査試料を採取した。

## 2. 実地調査による貯水槽水からの従属栄養細菌の検出

### 1) アンケート調査方法

調査対象とした貯水槽については設置者からアンケートにより、所在地、使用者数、貯水槽の用途、貯水槽の有効容量、1日の使用水量、設置場所、直近の清掃月日、建築年次、およびトラブル事例などの調査を行った。

### 2) 調査対象と時期

実施地の貯水槽の調査は2012年から2013年にかけて東京都と京都市の2地域について実施した。

#### (1) 東京都

1回目は2012年1月から2月の冬期、東京都内及び多摩地域の貯水槽計43件(10m<sup>3</sup>未満の貯水槽27件、10m<sup>3</sup>以上16件)、2回目は2012年7月から8月の夏期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)、3回目は2013年9月から11月の秋期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)、合計114件を対象とした。

#### (2) 京都市

2013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、貯水槽の有効容量は7-220m<sup>3</sup>)を対象とした。

### 3) 検査方法

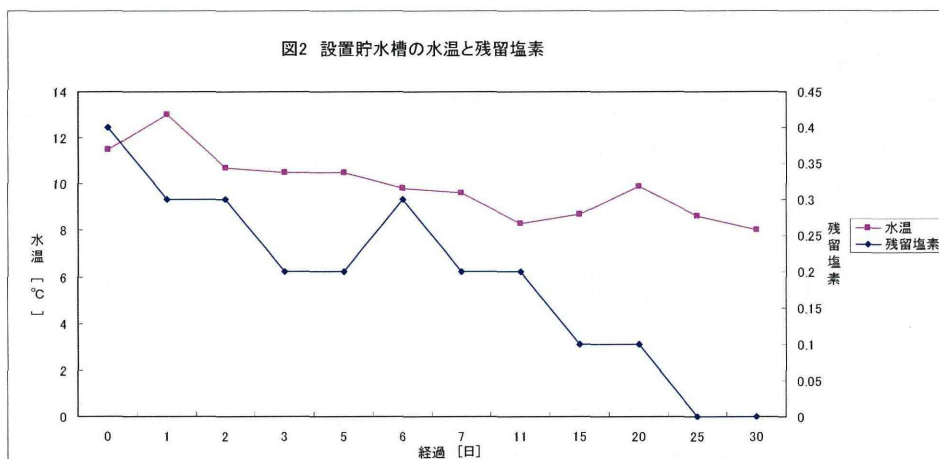
実施地の貯水槽水の水温、残留塩素、一般細菌数、大腸菌および従属栄養細菌の検査法はモデル貯水槽の検査法に準拠した。

## 検査成績

### 1. モデル貯水槽における水温と残留塩素の経日的観察

#### 1) 冬期の調査(2012年1月から2月)

図2に示すごとく設置時の残留塩素は0.4ppmであったが、その後は暫時減少したが、11日後で0.2mg/l、20日後で0.1mg/l、25日後では検出されなかった。その際の水温は調査時が冬季であったことからおおむね10℃前後であった。残留塩素は経日的に急速に低下すると予測されたが、水温が10℃前後であったことから、残留塩素は徐々に減少し20日でも0.1mg/lを保っていた。



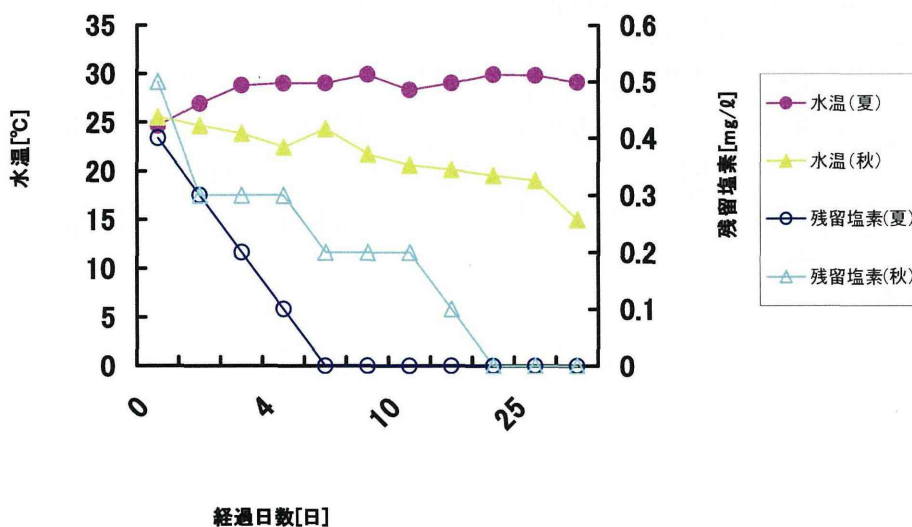
## 2) 夏季の調査 (2012年7月から8月)

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。

## 3) 秋季の調査 (2013年10月から10月)

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。

図3. モデル貯水槽水の水温と残留塩素濃度



## 2. モデル貯水槽における従属栄養細菌の経日的観察

### 1) 冬期の検査 (表1)

試験開始時の一般細菌数は1ml当たり17個であったが、その後は菌数が減少し10個以下

となった。また、大腸菌は 100ml 当たり、いずれも検出されなかった。

従属栄養細菌数は 2 日後で 2 個/10ml 検出されたが、以降 7 日までは陰性であったが、11 日からは 5 個以下の菌数で毎回検出された。従属栄養細菌は顕著な増殖が認められなかったが、水温が 10℃前後と低い状態であったためと推察される。残留塩素が 0.1ppm 以上含まれていても従属栄養細菌が検出されており、本菌は塩素に抵抗性があると推察された。

ATP 検査法は細菌数と 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。一般細菌数や従属栄養細菌数が少量であったことから、ATP の測定値はおおむね 10RLU(相対発光量)、高くても 23RLU であった(表 1)。本装置の検出感度が 100RLA 以上であることからこれらの値は誤差範囲であると推察される。

表 1 設置貯水槽水からの細菌検査成績

検体番号	給2	給3	給4	給5	給6	給7	給8	給9	給10	給11	給12	給13
経過 [日]	0	1	2	3	5	6	7	11	15	20	25	30
一般細菌数 [cfu/ml]	1.7×10	1	2	2	0	0	0	1	0	0	1	1
大腸菌 [/100ml]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
従属栄養細菌 [cfu/10ml]	0	0	2	0	0	0	0	3	1	2	2	1
ATP [RLU]	7	14	14	8	9	23	16	6	18	13	12	11

調査月日 2012年 1月18日～2月17日

## 2) 夏期の検査 (表 2)

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。

ATP による検査は 15 日までは従属栄養細菌数が 1 万個以下であり、ATP 値も低かった。従属栄養細菌数が 10 万個以上では ATP は 100-200RLA であり、それほど顕著な値ではなかった。



表2 設置貯水槽水からの細菌検査成績

経過 [日]	0	1	2	4	5	6	7	11	15	20	25	30
一般細菌数 [個/ml]	0	0	0	0	0	0	1	$1.2 \times 10^2$	$1.8 \times 10^2$	$1.6 \times 10^2$	$4.3 \times 10^2$	$4.8 \times 10^2$
大腸菌 [/100ml]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
従属栄養細菌 [個/ml]	$1.0 \times 10$	$9.6 \times 10$	6	$9.1 \times 10$	$3.0 \times 10$	$2.3 \times 10^2$	$2.9 \times 10^3$	$1.2 \times 10^3$	$9.7 \times 10^4$	$2.3 \times 10^5$	$2.0 \times 10^5$	$8.8 \times 10^4$
ATP [発光量]	14	16	22	12	13	15	17	40	67	128	139	126

調査月日 2012年7月26~8月25日

3) 秋期の検査 (表 3)

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日目まではほぼ同一菌数で経過した。15日で12個検出、以降25日目まではほぼ同じ菌数、30日目では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。

ATP 検査では貯水槽水の 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。

表3 設置貯水槽水からの従属栄養細菌の検査成績

経過 [日]	0	1	2	3	4	5	7	10	15	20	25	30
一般細菌数 [個/ml]	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
大腸菌 [/100ml]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
従属栄養細菌 [個/ml]	5	3	$1.7 \times 10^2$	5	5	4	5	9	$1.2 \times 10$	$7.0 \times 10$	$1.7 \times 10$	$1.0 \times 10^4$
ATP [発光量]	21	18	16	11	11	7	7	21	23	23	14	16

調査月日 2012年10月1~10月31日

3. モデル貯水槽壁面におけるバイオフィルム形成

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行ない、貯水槽の清掃後の清浄度に関する基礎的な資料提供を行った。

1) 夏期の調査 (表 4)

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 100cm<sup>2</sup> 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。

表4 設置タンク壁面の従属栄養細菌数の検査成績

検体名	一般細菌数	大腸菌	従属栄養細菌
洗浄前(1)*	$1.0 \times 10$	-	$6.6 \times 10^4$
洗浄前(2)	0	-	$8.6 \times 10^4$
洗浄前(3)	0	-	$1.1 \times 10^4$
洗浄前(4)	$3.0 \times 10^2$	-	$6.2 \times 10^4$
洗浄前(底)	$1.0 \times 10$	-	$2.2 \times 10^4$
洗浄前繋ぎ目(縦)	$4.0 \times 10^3$	-	$1.3 \times 10^6$
洗浄前繋ぎ目(底)	$9.0 \times 10^5$	-	$3.6 \times 10^6$
洗浄後(底)	0	-	$9.0 \times 10$

調査月日 2012年(タンクは水道水を入れたまま146日間放置)  
1)~(4)4ヶ所の側面

## 2) 秋期の調査(表5)

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10cm<sup>2</sup> 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。

表5 設置タンク壁面の従属栄養細菌数の検査成績

検体名	一般細菌数	大腸菌	従属栄養細菌
洗浄前(1)*	$5.2 \times 10^2$	-	$8.4 \times 10^5$
洗浄前(2)	$1.3 \times 10^3$	-	$1.3 \times 10^6$
洗浄前(3)	$8.1 \times 10^2$	-	$1.5 \times 10^5$
洗浄前(4)	$6.4 \times 10^2$	-	$5.5 \times 10^5$
洗浄前(底)	$3.5 \times 10^3$	-	$7.9 \times 10^6$
洗浄前繋ぎ目(縦)	$3.6 \times 10^3$	-	$1.6 \times 10^6$
洗浄前繋ぎ目(底)	$4.4 \times 10^5$	-	$3.3 \times 10^6$
洗浄後(底)	$7.0 \times 10$	-	$5.0 \times 10$

調査月日 2012年11(タンクは水道水を入れたまま65日間放置)  
(1)~(4)4ヶ所の側面

#### 4. 実施設の貯水槽における従属栄養細菌存在状況

##### (1) 東京都 (表6)

冬期の検査成績：学校 10ヶ所、事務所 2ヶ所、診療所 1ヶ所、飲食店 30ヶ所、計 43件中全例から従属栄養細菌が検出され、その検出菌数は 9例が 1ml 当たり 1個以下、26例が 1-10個、4例が 11-100個、2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

夏期の検査成績：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。

秋期の検査成績：学校 41ヶ所、教育施設 1ヶ所の一般細菌数は 6例が 100個/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 13件、101-1,000個が 8件であった。

なお、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。

表6 東京都における貯水槽からの従属栄養細菌検出成績

時期	採水施設	検査件数	一般細菌数	大腸菌	菌量(cfu/ml)					陽性件数
					<1	1-10	11-100	101-1000	1000<	
2012年 1-2月	学校	10	0	0	1	7	2	0	0	10
	事務所	2	0	0	2	0	0	0	0	2
	診療所	1	0	0	1	0	0	0	0	1
	飲食店	30	0	0	5	19	2	2	0	28
2012年 7-8月	学校	20	2	0	2	9	8	1	0	20
	給食センター	1	0	0	1	0	0	0	0	1
	高齢者施設	7	1	0	1	1	2	3	0	7
	病院	1	0	0	0	0	1	0	0	1
2013年 9-11月	学校	41	5	0	2	19	12	8	0	41
	教育施設	1	1	0	0	0	1	0	0	1
計		114	9	0	15	55	28	14	0	112(98.2%)

(2) 京都市 (表 7)

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 個以下が 8 件、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。

大腸菌陽性 1 例の従属栄養細菌数は 370 個で、それほど高い菌数ではなかった。

表7 京都府の貯水槽からの従属栄養細菌検出成績(2013年10月～12月)

採水施設	検査件数	一般細菌数 (100cfu/ml以上)	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%)

5. 実施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) 東京都

(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 <sub>cfu/ml</sub>	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。

(2) 京都市

1) 貯水槽からの従属栄養細菌の検出(表 1 1)

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11 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%)

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、3.0-4.0回未満が1件であった(表12)。水の回転数と従属栄養細菌数は表12に示すごとく回転数が高い3.0-4.0回未満では2件とも従属栄養細菌数は10個以下/mlであった。回転数が0.5-1.5回未満の18件中7件は従属栄養細菌数が101個/ml以上の高い菌数であった。

表12 従属栄養細菌数と貯水槽の回転数との関係(京都市)

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	1.5-2.0未満	2.0-3.0未満	3.0-4.0未満
不検出	0	0	0	0	0	1
<1	0	0	0	0	0	0
1-10	1	2	1	0	0	1
11-100	0	3	4	0	0	0
101-1000	0	5	0	0	0	0
1000<	0	1	1	0	0	0
計	1	11	6	0	0	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13)。

表13 京都府 残留塩素と従属栄養細菌数の関係(2013年9月～10月)

従属栄養細菌数	残留塩素濃度					
	<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

残留塩素濃度が高い0.5mg/lの場合の従属栄養細菌数は11-100個/mlであった。残留塩

素濃度が 0.3 mg/l 以下の 21 例中は 7 例は従属栄養細菌数が高く 101 個/ml 以上であった。

#### 4) 調査時の水温と従属栄養細菌

京都市の場合は夏期の調査であり、水温は 16-30℃であって、いずれの水温でも従属栄養細菌数は高い傾向であった。

表14 水温と従属栄養細菌数との関係(京都市)

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	0	0	0	0	3	2	0
1-10	0	0	0	0	8	0	0
11-100	0	0	0	5	2	2	0
101-1000	0	0	0	3	3	0	0
1000<	0	0	0	0	2	0	0
計	0	0	0	8	18	4	0

#### 5) 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。

#### 6. 検出された従属栄養細菌の簡易分類(表15)

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694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、503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131株で、色調も様々であった。グラム陽性球菌が47株で色調は黄色が19株、白色が25株であった。グラム陰性球菌が1株、酵母が8株であった。

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。

表15 分離された従属栄養細菌の分類

	黄色	白	オレンジ	ピンク	灰白	クリーム	透明	茶	黒	合計
グラム陰性桿菌 (GNB)	266	95	45	81	5	2	9	0	0	503
グラム陰性球菌 (GNC)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
グラム陽性桿菌 (GPB)	48	38	19	17	1	1	1	3	3	131
グラム陽性球菌 (GPC)	19	25	2	0	1	0	0	0	0	47
酵母	0	0	0	7	0	1	0	0	0	8
不明	0	2	1	1	0	0	0	0	0	4

### 考察と結論

国内における飲料水の微生物学的安全性は一般細菌や大腸菌群を病原菌の汚染指標菌として評価しているが、水道水の供給システムの衛生学的評価やモニタリングの指標細菌に従属栄養細菌が注目されてきている<sup>6-10)</sup>。また、ペットボトル水や病院・歯科の水供給システムと消毒薬などの効果についても従属栄養細菌の動態が検討されている<sup>11-13)</sup>。さらに水環境に形成されるバイオフィルムの細菌学的検査に従属栄養細菌の重要性が指摘されている<sup>14)</sup>。

本研究では貯水槽水の衛生学的評価として一般細菌と大腸菌の他に従属栄養細菌を中心にモデル貯水槽水と実施設の貯水槽水を対象に検討を行った結果、従属栄養細菌の挙動から今後の貯水槽水の衛生管理推進のための基礎資料が得られた。

#### 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。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。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貯水槽の衛生管理として重要であることが指摘された。



## 2. 実施設の貯水槽における従属栄養細菌汚染

従属栄養細菌は地球環境に広く分布し、諸外国の飲料水からも検出されている。国内には特定な地域のみデータが公表されているのみであることから、本調査では東京都と京都市の2か所の地域の実施設の貯水槽水を対象に検討した。

1) 東京都については採水季節を考慮し、冬期、夏期、秋期の3クール検査を行った。対象とした施設は学校、病院、高齢者施設、飲食店であったが、いずれの施設からも大腸菌はすべて陰性、一般性菌数も一部を除き100個/ml以下であり、水道法をクリアする成績であった。しかし、従属栄養細菌は各施設の貯水槽水から検出され、普遍的に存在していることを明らかにした。ただし、対象とした施設に大きなばらつきがあり、各施設ごとの従属栄養細菌存在状況の差異を明らかにできなかった。

汚染菌量はモデル貯対象とした貯水槽水で指摘したごとく水温の影響が高いことを指摘したように、冬期の調査では菌数が低く、夏期の調査では高い傾向であった。

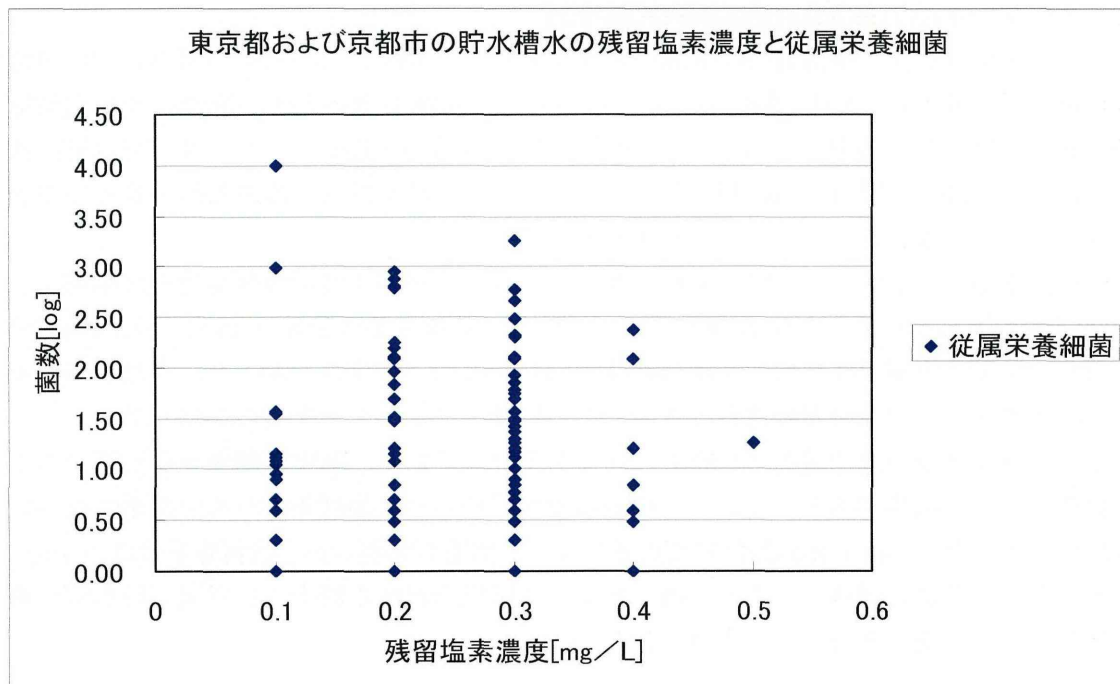
2) 京都市の場合、従属栄養細菌の検出率は東京よりは低く83.3%であったが、夏期の調査であり、気温が高いことから従属栄養細菌数は高い傾向であった。

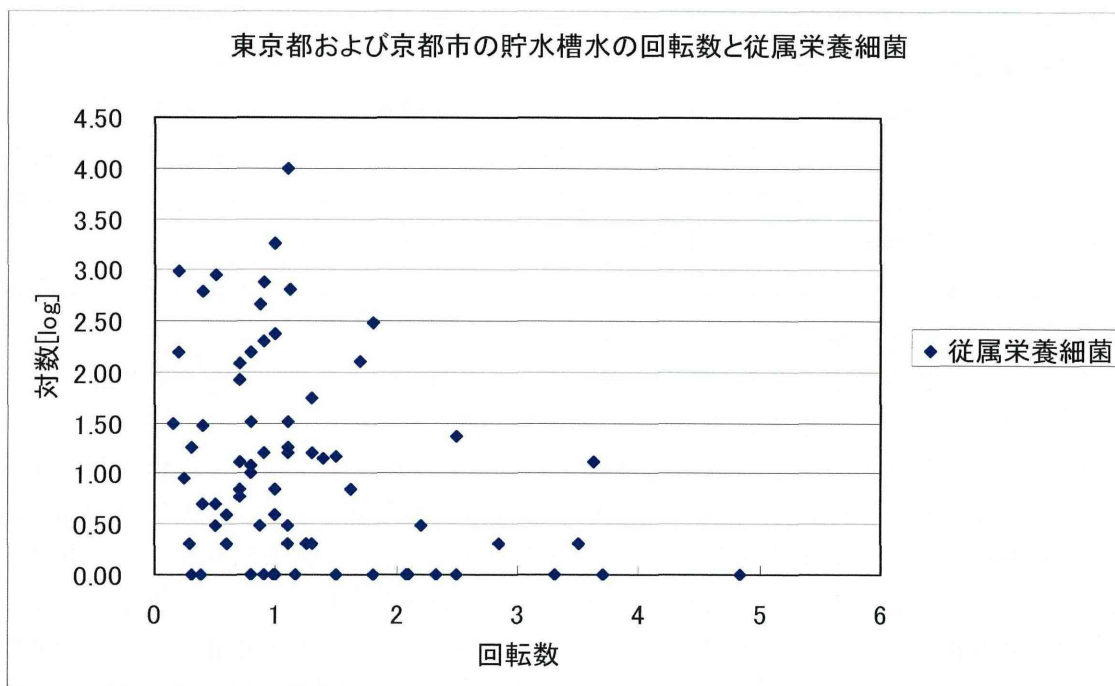
## 3. 貯水槽の管理状況従属栄養細菌数

1) 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。

2) 貯水槽の管理状況など(回転数、建築年次、有効容量、清掃日、残留塩素など)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。

また、貯水槽水の回転数が低いと従属栄養細菌の菌数が高い傾向である。ただし、回転数が高くても従属栄養細菌数が高い場合も見られる。





### 3) 貯水槽水の水温と従属栄養細菌数

モデル貯水槽で指摘したごとく水温の高いほど従属栄養細菌数が高い結果であった。実施設の貯水槽でも夏期の調査で従属栄養細菌数が高く、冬期では低い傾向が認められた。従属栄養細菌数と貯水槽の建築年次、有効容量、清掃日からの経過日については明確な関連が認められなかった。これらの野外のデータは1回の検査結果であり、継続した検査でないこと、清掃状況の適否が不明であること、日常の貯水槽の管理状況を把握することが出来ないことなどから解析を困難としていると考えられた。

### 4. 分離された従属栄養細菌の簡易分類

モデル貯水槽水での実験や実施設の貯水槽水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。また、同一貯水槽には一種類の従属栄養細菌汚染も認められたが、多くの場合 2-8 種類の複数の細菌叢であると推察された。

###

貯水槽水の従属栄養細菌存在の原因としては土壌、大気、河川水、水道水の原水、処理水など地球環境を広範囲に検討すべきと考えるが、①菌量は極めて少ないが水道水中に含まれていることを示唆する報告もあること、②本実験では貯水槽の壁面やパッキング部分にバイオフィームとして定着していることを指摘した。また、従属栄養細菌の貯水槽通気口からの侵入の可能性について貯水槽の構造を踏まえた調査も必要である。従って、貯水槽の清掃などの衛生管理は今後とも重視しなければならない。

貯水槽水中での従属栄養細菌は水道水に含まれる微量成分や微生物由来成分の微量成分を利用して増殖していることが推察される。

貯水槽中の従属栄養細菌の増殖は①水温②残留塩素濃度③水の滞留時間の影響が高いことから、これらのことを考慮した衛生管理の構築が望まれる。

なお、従属栄養細菌にはさまざまな菌種が含まれているが、R2A 培地の有用性が指摘されている。しかし、培養温度に関しては 20℃、28℃、30℃などさまざまであり<sup>15)</sup>、分離菌株の実験室内での各種温度条件での増殖態度などの検討成績から最適な培養温度を設定しなければならないし、従属栄養細菌の科学的な明確な定義が求められる。また、従属栄養細菌の塩素抵抗性についての詳細な解析も必要であろう。これらお基礎的研究から従属栄養細菌の衛生学的な問題や飲料水処理工程の指標菌としての意義についての研究を推進しなければならない。

#### 参考文献

- 1) 上水試験法 2011 年版 V 微生物編、日本水道協会、2011
- 2) 飲料水の微生物学：金子光美監訳、技報堂、1992
- 3) 保坂三継、眞木俊夫：水の従属栄養細菌試験における培地並びに培養条件の検討、東京都衛生研究所年報、52,245-249,2001
- 4) Bugno A. et al: Enumeration of heterotrophic bacteria in water for dialysis: comparison of the efficiency of reasoner'2 agar and plate count agar, Braz. J. Microbiol., 41, 15-18, 2010
- 5) Uhl W., et al: Establishment of HPC (R2A) for regrowth control in non-chlorinated distribution systems, Int. J. Food Microbiol., 92, 317-325, 2004
- 6) Ho l. et al: Comparison of drinking water treatment process streams for optimal bacteriological water quality, Water Res., 46, 3934-3942, 2012
- 7) Razzolini MT. et al: Quality of water sources used drinking water in a Brazilian peri-urban area, Braz. J. Microbiol., 42. 5690-566, 2011
- 8) Francisque A. et al: Modeling of heterotrophic bacteria counts in a water distribution system, Water Res., 43, 1075-1087, 2009
- 9) Sartory DP., : Heterotrophic plate count monitoring of treated drinking water in the UK: a useful operational tool, Int. J. Food Microbiol., 92, 297-306, 2004
- 10) Bai. X. et al: biofilm bacterial communities and abundance in a full-scale drinking water distribution system in Shanghai, J. Water Health, 8(3), 593-600, 2010
- 11) Duranceau SJ. et al: Impact of bottled storage duration and location on

- bacteriological quality, *Int. J. Environ. Health Res.* 22, 543-5459, 2012
- 12) Nikaeen M., et al: Microbial quality of water in dental unit waterlines, *J. Res. Med. Sci.*, 14, 297-300, 2009
- 13) Sexton JD. et al: Reduction in the microbial load on high-touch surfaces in hospital rooms by treatment with a portable saturated steam vapor disinfection system, *Am. J. Infect. Control.*, 39, 655-6562, 2011
- 14) Skrabber S. et al: Occurrence and persistence of bacterial and viral faecal indicators in wastewater biofilms, *Water Sci. Technol.*, 55, 377-385, 2007
- 15) Reasoner DJ., Heterotrophic plate count methodology in the United States, *Int. J. Food Microbiol.*, 92, 307-315, 2004