

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）
「大規模災害および気候変動に伴う利水障害に対応した環境調和型
水道システムの構築に関する研究」
分担研究報告書

研究課題：次世代シーケンサーによるろ過漏出障害原因微生物の給配水系での挙動

研究代表者 秋葉 道宏 国立保健医療科学院 統括研究官
研究分担者 藤本 尚志 東京農業大学応用生物科学部醸造科学科 教授
研究協力者 藤瀬 大輝 川崎市上下水道局水管理センター水道水質課 担当係長

研究要旨

これまで、浄水処理施設の生物障害であるろ過漏出障害原因微生物について水源から浄水処理工程水にかけての挙動について調査し多くの知見が得られた。しかし、浄水場から送水された給配水系統での挙動についての知見は、海外での事例についての文献はいくつか見られるが、国内での事例報告は乏しい。そこで、次世代シーケンサーを用いたろ過漏出障害原因微生物の同定技術を給水栓水に適用し、ろ過漏出原因微生物の給配水系での挙動を1年間にわたり調査し、以下の知見が得られた。

門レベルの解析で浄水場ろ過水と給水栓水の細菌相構成比は似ていたが、綱レベルの解析から、給水栓水でアルファプロテオバクテリア綱の存在比率が高くなる傾向が見られた。

さらに詳細な解析から、ろ過水より給水栓水で高い比率を示す細菌の存在を確認した。この結果は、給配水系統で再増殖やバイオフィルムを形成する細菌の可能性を示唆している。

A. 研究目的

浄水施設における生物障害を類別すると、凝集沈殿障害、ろ過閉塞障害、漏出障害、異臭味障害、その他の生物障害が挙げられる。その中で、凝集沈殿障害および漏出障害の原因の一つにピコプランクトンが関与していると考えられていた。

先の研究で、浄水場処理工程水の次世代シーケンサーの解析結果から総リード数に占めるピコプランクトンの割合は10%程度で、80-100%を従属栄養細菌が占めており、従属栄養細菌の濁度へ影響が大きいことが示唆された。また、これまで一般細菌や従属栄養細菌と一括りに評価してきた細菌類について、その細菌相は、水道システムの中で時期や浄水処理工程で大きく変遷していることがわかった。¹⁾

しかしながら、浄水場から送水された給配水系統でのこれらの挙動についての知見はほとんどなく、海外での事例についての文献はいくつか見られるが、国内での事例報告は乏しい。

本研究は、次世代シーケンサーを用いたろ過漏出原因微生物の同定技術を給水栓水に適用し、ろ過漏出原因微生物の給配水系での挙動を1年間にわたり実態調査を行い、給配水系統の細菌相の評価し、国内での事例報告とすることを目的とした。

B. 研究方法

1) 採水地点および試料の採取

採水地点は同一配水系統の定点で、従属栄養細菌が検出されている、浄水場から遠く、比較的夏場の残留塩素が低い、水質自動測定装置が設置されている、という条件に合った川崎市上下水道局京町ポンプ所水質自動測定装置脇給水栓を選定した。

試料の採取は、給水栓を開放し5分間放流後、100 L採水した。採取期間は2015年7月から毎月採水した。

比較試料として、給水栓水採水と同日の浄水場工程水（原水、沈殿処理水、ろ過水）を

採水した。

2) 次世代シーケンサーによる群集構造解析

試料は、孔径 0.2 μm のポリカーボネート製メンブレンフィルターによりろ過、集菌し、CTAB 法を用いてゲノム DNA の抽出を行った。抽出試料は、真正細菌の 16S rRNA 遺伝子を増幅させるプライマー 515F, 806R を用いて Tailed PCR を行い、増幅産物を精製後、Illumina 社の MiSeq によるアンプリコンシーケンシングを行い、QIIME を用いた解析を行った。

C. 研究結果および D. 考察

1) 市内給水栓の従属栄養細菌

図 1 に、採水地点と同一配水系統で 2015～2016 年の従属栄養細菌の結果を示す。9 月と 7 月にそれぞれ 6、20 CFU/mL の従属栄養細菌が検出されたが、それ以外の月は 5 CFU/mL 以下で、水質管理目標設定項目の目標値(2000 CFU/mL)と比較すると非常に低い値であった。

2) 次世代シーケンサーによる細菌相の解析

図 2 に、遺伝子の増幅に成功した試料のうち 7 月、8 月の浄水場工程水と給水栓水の、門レベルの細菌相の比較を示した。給水栓水の細菌相は、ろ過水の比率と似ていた。DNA は細胞が死滅しても比較的長く残存するため、塩素処理後の死細菌が多く検出されているものと考えられる。

しかしながら、プロテオバクテリア門の綱レベルの細菌相を比較すると(図 3)、7 月、8 月ともに、ガンマプロテオバクテリア綱の比率が減少し、アルファプロテオバクテリア綱の比率が増えていた。スイスの給水栓水の次世代シーケンサー解析では、浄水場から送水後 50 時間後にベータプロテオバクテリア綱の割合が増加した²⁾と報告されているが、今回の結果と異なっており、今後の検討課題である。

また、さらに詳細な解析からプロテオバクテリア門で特徴的な挙動を示す細菌を確認した(表 1)。これらの細菌は、明らかにろ過水より給水栓水での比率が高く、給配水管での再増殖やバイオフィルムを形成する細

菌の可能性を示唆している。

E. 結論

本研究より、ろ過漏出障害原因微生物の給配水系における挙動について知見が得られると共に、微生物の再増殖の可能性を示唆する結果も得られた。今後、更なる検討を進め、給配水系統の水質管理の微生物指標の一つとして活用していきたいと考えている。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

該当なし

2) 学会発表

(1) 藤瀬大輝, 渡邊英梨香, 藤本尚志, 秋葉道宏. 次世代シーケンサーによるろ過漏出障害原因微生物の給配水系での挙動. 平成 28 年度全国会議(水道研究発表会). 2016 年 11 月; 京都.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む。)

1) 特許取得

該当なし

2) 実用新案登録

該当なし

3) その他

該当なし

I. 参考文献

1) 藤本尚志, 大西章博, 鈴木昌治, 藤瀬大輝, 岸田直裕, 秋葉道宏. クローニング法および次世代シーケンサーによるろ過漏出障害原因生物の評価. 平成 28 年度全国会議(水道研究発表会)講演集 p. 618 (2014)

2) Karin Lautenschlager et.al. A microbiology-based multi-parametric approach towards assessing biological stability in drinking water distribution networks. Water Research, 47, pp. 3015-3025 (2013)

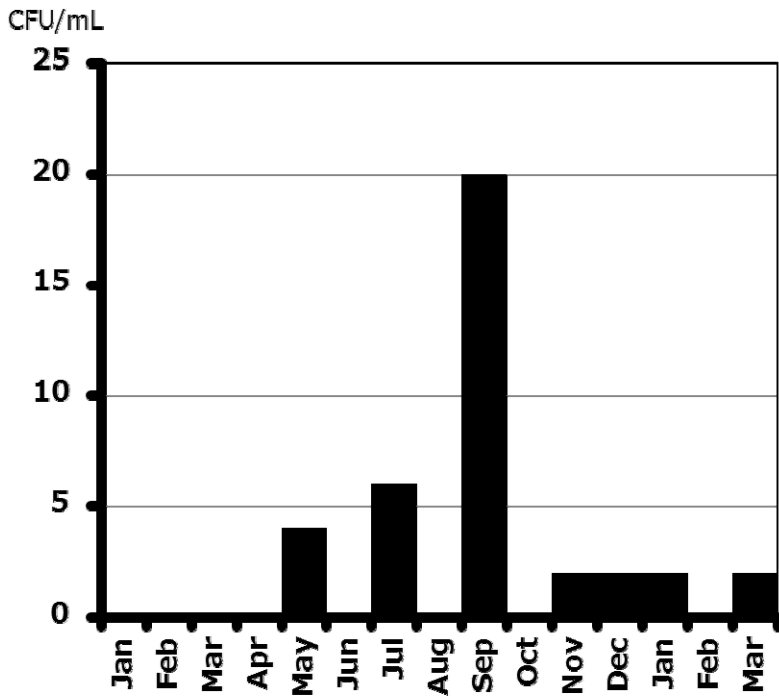


図1 2015～2016年の従属栄養細菌の推移

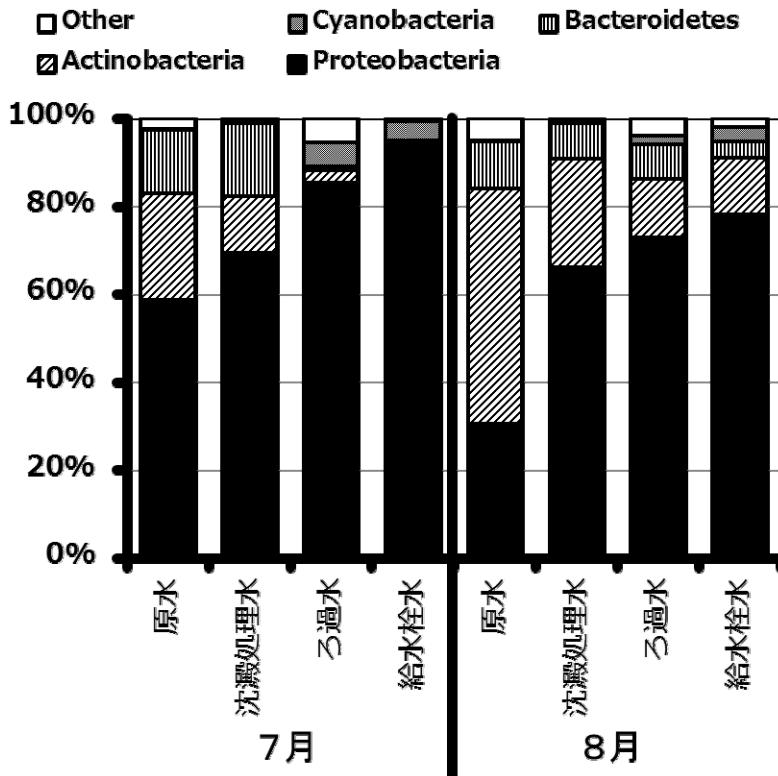


図2 2015年7月、8月の門レベル細菌相の比較
数値は総リード数に占める割合 (%)

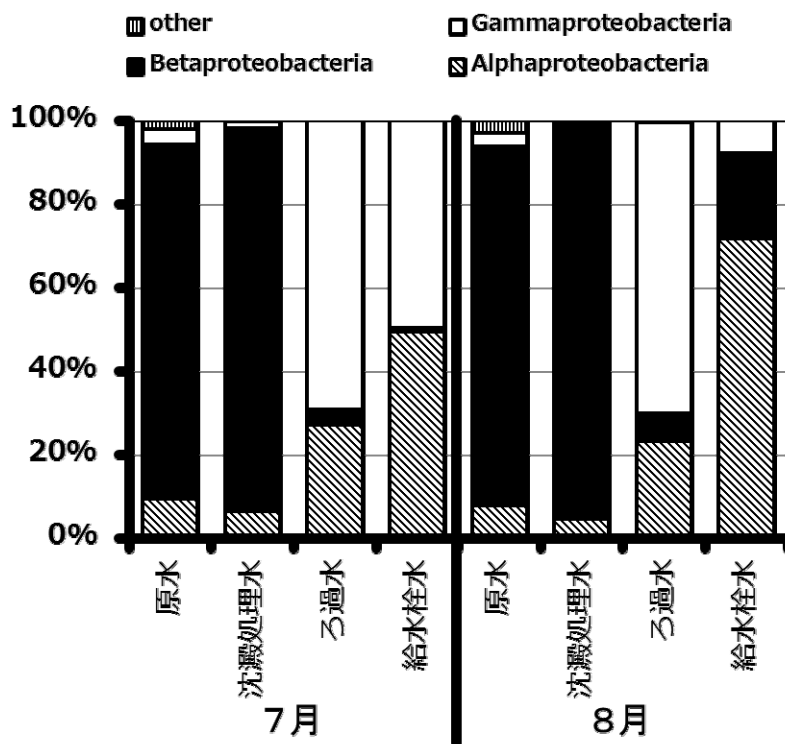


図3 2015年7月、8月のプロテオバクテリア門の綱レベル細菌相の比較
数値は総リード数に占める割合 (%)

表1 プロテオバクテリア門で特徴的な挙動を示す細菌

Proteobacteria				7月		8月	
				ろ過水	給水栓水	ろ過水	給水栓水
Class	Order	Family	Genus				
Alphaproteobacteria	Rhizobiales			0.8%	44.2%	2.6%	66.6%
Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Enhydrobacter	14.4%	46.0%	29.0%	1.9%
Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Limnohabitans	1.3%	0.6%	2.5%	13.4%
Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae		0.1%	2.1%	0.0%	0.9%
Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	0.1%	0.0%	0.3%	2.3%