

給配水システムにおけるレジオネラ感染リスク管理のための望ましい水質要件の抽出

Elucidation of appropriate water qualities for managing infection risk by *Legionella* spp. in drinking water distribution systems

京都大学大学院 工学研究科 助教 中西 智宏

(研究計画ないし研究手法の概略)

レジオネラ属菌は一部が人に重篤な肺炎やポアンティック熱を引き起こす日和見感染菌であり、給配水管内の生物膜に生息することがある。レジオネラに対する最も基本的な対策は給水栓での残留塩素濃度の確保だが、制御に必要な十分な残留塩素濃度については議論されていないのが現状である。本研究は、定量的微生物リスク評価(Quantitative Microbial Risk Assessment; QMRA)手法によってレジオネラによる感染リスクを定量化し、残留塩素濃度とリスクの定量的な関係を踏まえて必要な残留塩素について議論することを目的とした。

そこで、まず給配水管内でのレジオネラの挙動を図1のように単純化し、その過程を室内実験と数理モデルによって表現した。その後、モデル計算と QMRA 手法を組み合わせ、レジオネラのリスクを制御可能な残留塩素濃度について考察した。

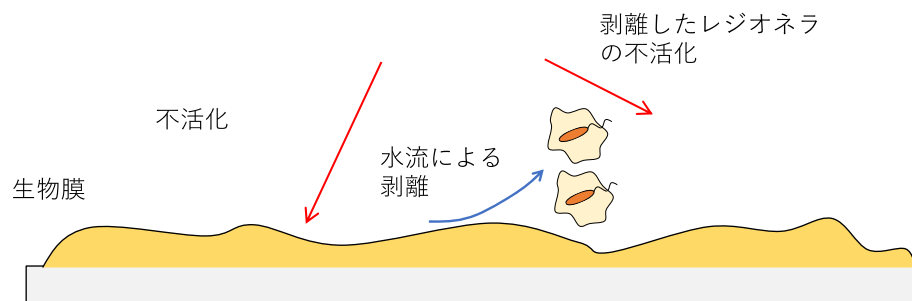


図1 本研究で想定する給配水管内でのレジオネラの挙動

(実験調査によって得られた新しい知見)

1. 給配水管内におけるレジオネラの挙動に関する室内実験

まず、給配水管内の水理条件を再現可能なアナニューリアクター (Model 1320LS, Biosurface Technologies) 3 台にエポキシ樹脂粉体塗膜製の試験片を装着し、淀川流域の浄水場における原水 (淀川表流水) を通水することで、レジオネラを含む生物膜を作り出した (図 2(1))。得られた生物膜に対して、生物膜の塩素消毒実験、生物膜の剥離実験、剥離して水中に懸濁した生物膜の塩素消毒実験を行った。

生物膜の消毒実験 (図 2(2)) では、残留塩素濃度 2 mg/L と高い塩素濃度でも有意な不活化がみられなかった (データ不掲載)。そのため、残留塩素による生物膜の直接的な不活化効果は見込めないことが分かった。

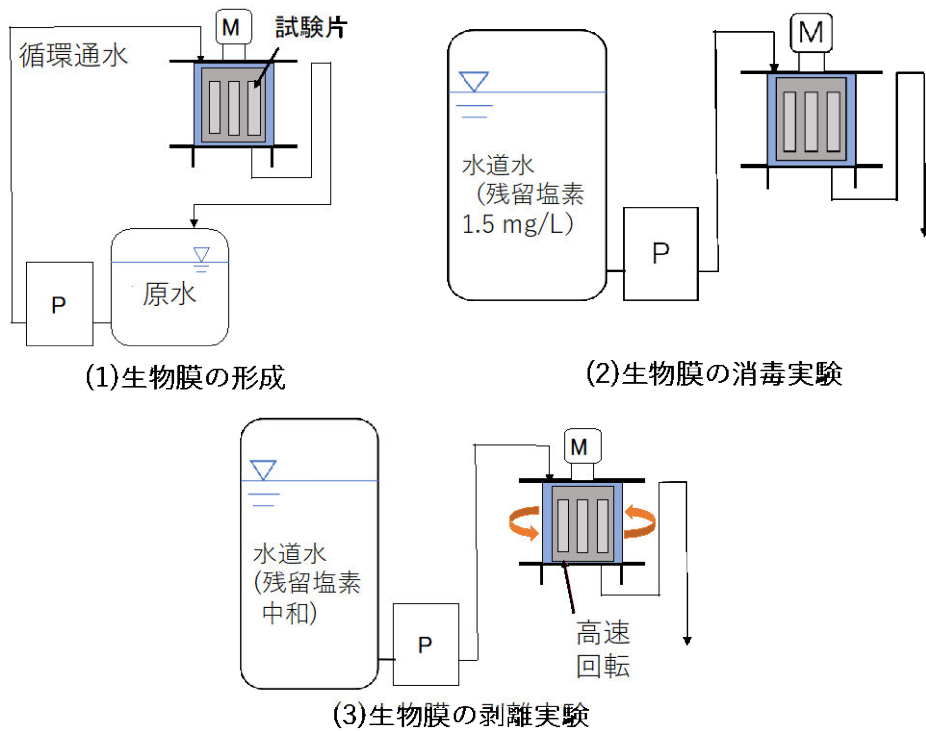


図 2 アンヌラーリアクターを用いた生物膜形成と生物膜の消毒/剥離実験の概要

続いて、生物膜の剥離実験の結果を図 3 に示す。内径 20 mm の給水管に水道水を約 0.5 m/s の流速で流した場合を再現しながら生物膜に水流によるせん断力を与えた(図 2(3))ところ、生物膜中の全細菌 (16S rDNA 濃度) とレジオネラ属菌の遺伝子数は図 3 のように減少した。いずれの回でも 3 時間程度で全細菌とレジオネラ密度は急激に減少し、その後減少速度は緩やかとなった。特に 3 時間経過後のレジオネラの減少幅は 2 回目の方が 1 回目よりも 1.9 log₁₀ 程度大きかった。これは実験に供した生物膜の形成期間が異なり (1 回目 : 13 日間、2 回目 75 日間)、水流によるせん断力に対する生物膜の剥離特性が異なったためと考えられる。これら実験 2 回分の開始後 0~3 時間の結果に対する線形近似によって、以下の式(1)で表される 1 次の剥離速度定数 k_d を 0.023, 0.047 min⁻¹ と推定できた。

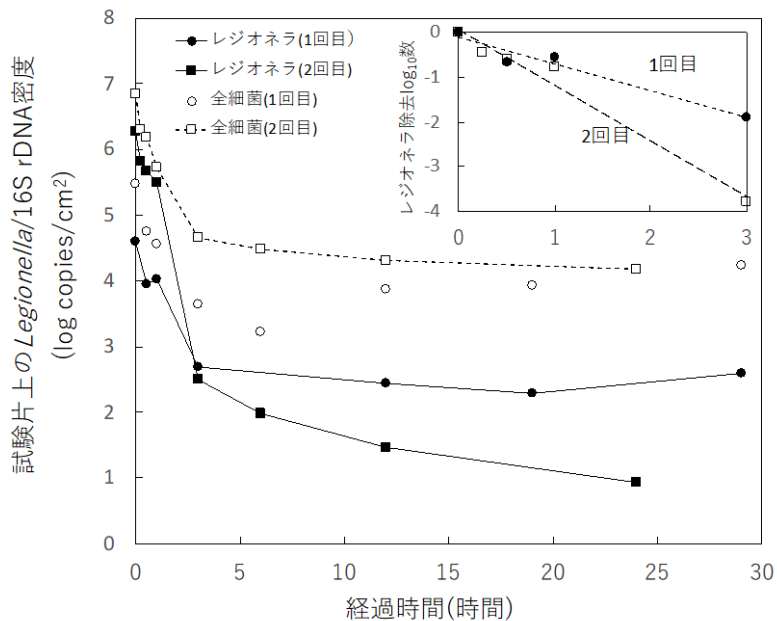


図 3 生物膜の剥離実験結果 (図中右上は初期のレジオネラ除去 log₁₀ 数)

$$\ln \frac{C_b}{C_{b,0}} = -k_d \cdot t \quad (1)$$

ただし、 C_b : 生物膜中のレジオネラ密度 (log copies/cm²)、 $C_{b,0}$: 生物膜中の初期レジオネラ密度 (log copies/cm²)、 t : 経過時間(min)である。

さらに、生物膜からの剥離物に対して塩素消毒実験を行った。これは、生物膜を構成する細菌群が水流によって剥離する際、生物膜成分等を伴って集塊物として水中に放出されると考えられ、塩素によるレジオネラの消毒効果はこの集塊物の影響を受けると考えられたためである¹⁾。そこで、水流によって剥離されたレジオネラの不活化速度をより実際に近い形で把握するため、生物膜の剥離物に対して消毒実験を行った。具体的には、PBSで満たしたアニュラーリアクター内で生物膜形成させた試験片を高速回転させて生物膜を剥離・懸濁させ、得られた懸濁液に対してバッチ式で塩素処理を行い、時間的に従属栄養細菌/レジオネラ属菌の培養と残留塩素濃度の測定を行った。その結果を図4に示す。20~30 mg・min/L程度のCT値で2~3 log₁₀程度の急激な不活化が確認され、その後不活化のカーブは緩やかとなった。レジオネラは元の生物膜における存在量が小さかったため、消毒後の検体からは培養法で検出できなかった。そこで、剥離後のレジオネラの不活化速度は上述の従属栄養細菌の結果で代替することとした。レジオネラの不活化は式(2)

$$\ln \frac{C_v}{C_{v,0}} = -k_{Cl_2} \cdot C_{Cl_2} \cdot t \quad (2)$$

で表される Chick-Watson 式に従うと仮定した。ここで、 C_v : 水中の生レジオネラ数(cells/L)、 $C_{v,0}$: 初期の生レジオネラ数(cells/L)、 k_{Cl_2} : 不活化速度定数(L・min⁻¹mg⁻¹)、 t : 経過時間(min)である。図4の右上に示すように、直線的に不活化 log₁₀ 数が増加する CT 値の範囲 (0~30 mg・min/L (1回目)と 0~20 mg・min/L (2回目)) で線形近似し、 k_{Cl_2} の値を 0.21、0.25 L・min⁻¹mg⁻¹と推定できた。

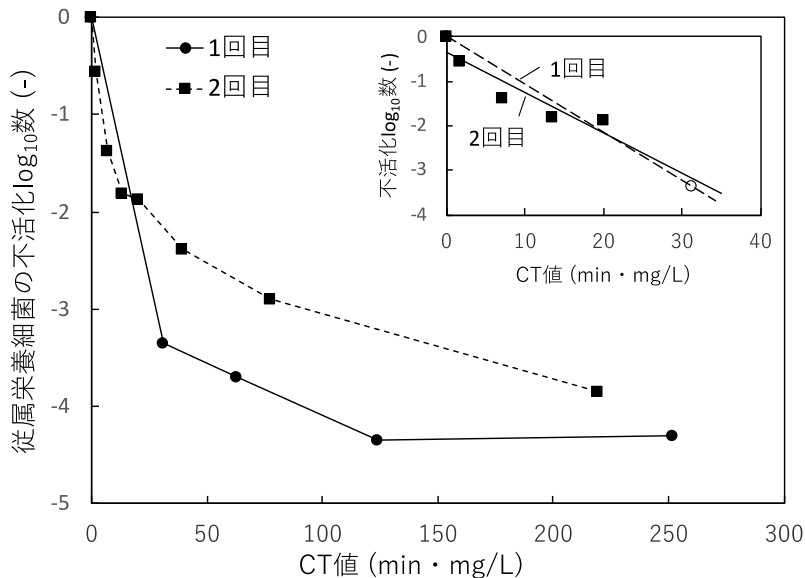


図4 生物膜の剥離物に対する消毒実験結果 (図中右上は消毒初期における直線近似)

最後に、上記の実験結果を踏まえて給配水管内でのレジオネラの挙動を定式化した。仮想的な給水管(内径 20 mm、長さ 1 m)における押し出し流れを想定し、まず管内の任意の場所

において生物膜から剥離したレジオネラの濃度 C_T を以下の式(3)に従って表現した。なお、この濃度 C_T は生死を区別しない全レジオネラ濃度を意味する。

$$\frac{\partial C_T}{\partial t} = -u \cdot \frac{\partial C_T}{\partial x} + SA \cdot k_d \cdot C_{b,0} \cdot \exp(-k_d \cdot t) \cdot CF \quad (3)$$

ここで、 C_T : 時刻 t 、位置 x におけるレジオネラ濃度(死菌含む) (cells/L)、 u : 管内流速 (m/s)、 SA : 給水管単位体積辺りの内面積 (200 m⁻¹)、 $C_{b,0}$: 流速増加開始時の給水管内面のレジオネラ密度 (cells/cm²)、 CF : 単位換算用の定数(1/6)である。 u はシャワー利用時の典型的な流量から 0.5 m/s と設定した。 $C_{b,0}$ は 0.1 cells/cm² と設定し、その全てが生菌状態(感染能を有する)と仮定した。上述のように、生物膜の塩素による不活化は確認されなかったため、モデル上でも剥離前の生物膜中レジオネラは不活化されないものとした。 k_d として 0.023, 0.047 min⁻¹の値を用いて計算したところ、図 5 (a)のように剥離したレジオネラの管出口での濃度変化を推定できた。続いて、流速増加して時間 t 後に排出された水道水は時間 t だけ塩素消毒されたものと仮定し、剥離したレジオネラ濃度 C_T のうちの生菌状態のレジオネラ濃度 C_v を以下の式(4)に従って推定した。 k_{Cl_2} には消毒実験で得られた 0.21、0.25 L・min⁻¹mg⁻¹を用い、残留塩素濃度 C_{Cl_2} は 0.5 mg/L (一定) とした。

$$C_v = C_w \cdot \exp(-k_{Cl_2} \cdot C_{Cl_2} \cdot t) \quad (4)$$

k_d 、 k_{Cl_2} の全てのパラメータセットを用いて蛇口での生菌状態のレジオネラ濃度変化を推定した結果、図 5 (b)のようになった。給水管内のレジオネラ存在量($C_{b,0}$)が 0.1 cells/cm²の場合、管出口におけるレジオネラ生菌数は最大で 0.01~0.03 cells/L 程度となり、その後水道水の使用に伴って下がっていった。

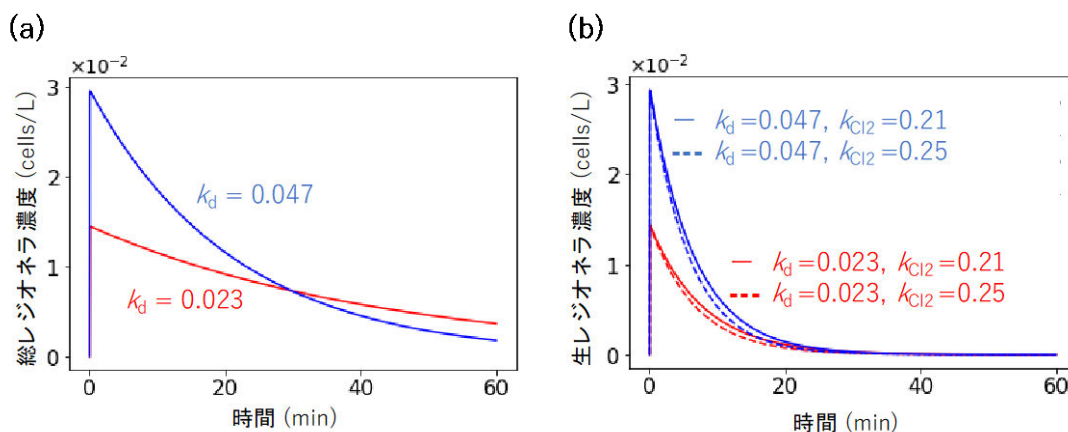


図 5 各速度定数によって推定されたシャワー水中のレジオネラ濃度変化 ((a): 全レジオネラ濃度、(b): 生菌状態のレジオネラ濃度)

2. レジオネラの挙動モデルとQMRAモデルを用いた残留塩素濃度の目標値に関する考察

上述の仮想的な給水管(内径 20 mm、長さ 1 m)において、レジオネラ生菌数が 0.1 cells/cm²、残留塩素濃度が 0.5 mg/L の場合をベースケースとして、定量的微生物リスク評価(QMRA)を実施した。QMRAとは、水中の病原体濃度から曝露シナリオに応じてヒトの体内への摂取量を計算し、用量-反応関係からその病原体への感染確率を推定する手法である。曝露シナリオについては、レジオネラの感染リスクが最も高いと言われるシャワー利用時のエアロゾル

吸引を仮定した。ベースケースにおいて、仮想的な給水管から排出された水道水を用いてシャワー利用した際の感染確率と、毎日シャワー利用を続けた際の年間感染確率を図6にそれぞれ示す。年間感染確率は平均値で 6.73×10^{-3} /人・年となり、WHO の推奨する許容リスクレベル (10^{-4} /人・年) を超過した。これより、ベースケースのような汚染状態の給水管では、 0.5 mg/L の残留塩素濃度をもってしても感染リスクを十分に低減できないことが分かる。

続いて、図7にベースケースからレジオネラ存在量(左)と残留塩素濃度(右)を変化させた場合の年間感染確率を示す。許容リスクレベル (10^{-4} /人・年) を満たすためには、残留塩素濃度 0.5 mg/L の場合には給水管内でレジオネラを $1.4 \times 10^3 \text{ cells/cm}^2$ まで低減する必要があるという試算となった。また、レジオネラ存在量 0.1 cells/cm^2 のもとで必要な残留塩素濃度は 4.0 mg/L と非常に高濃度な値が推算された。以上のように、給水管内でのレジオネラの挙動を QMRA モデルに組み込むことで、残留塩素濃度などの水質条件と感染リスクとの対応関係を推定できたことが本研究の最大の成果である。しかし、上記の試算結果(特に残留塩素濃度の目標値)はあまりに高く、実際の目標レベルよりも大幅に過大評価している可能性が高いため、得られたデータの解釈と取り扱いには注意を要する。本研究の実験〜リスク評価の過程では、レジオネラ含有生物膜を河川水で作製した点や、給水管内のレジオネラの塩素接触時間の推定方法など、リスクの過大評価につながる仮定が数多くなされている。今後は実験方法の改良等によってこれらの点を精査し、より正確なリスク評価につなげたい。

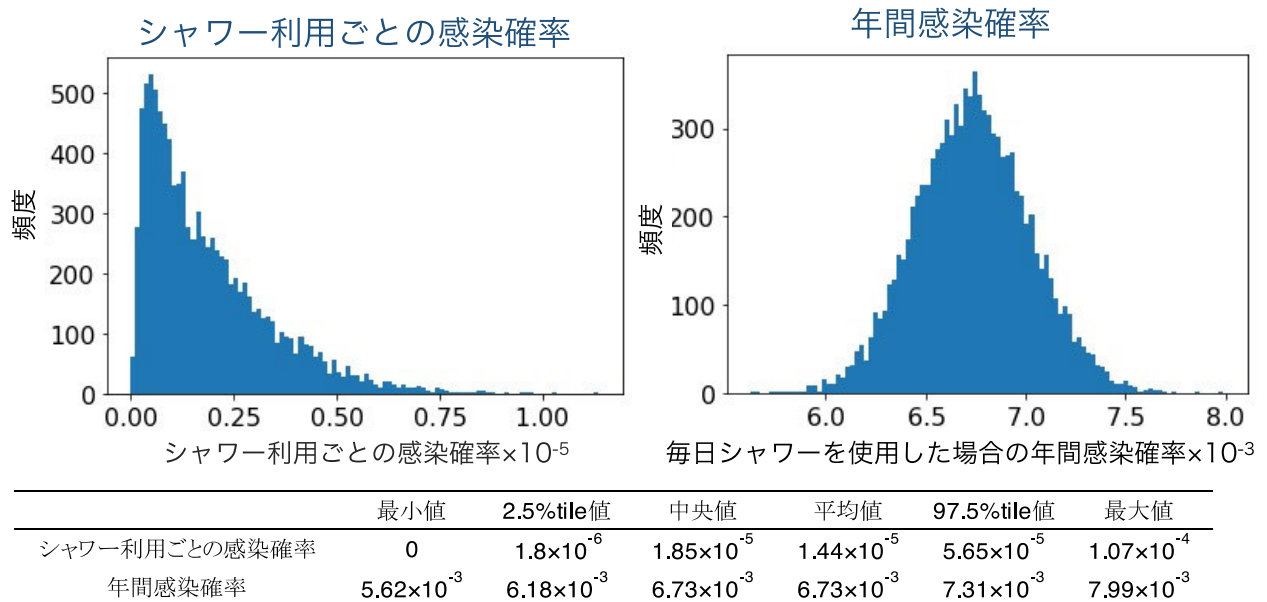


図6 レジオネラ存在量 0.1 cells/cm^2 、残留塩素濃度 0.5 mg/L の場合のシャワー利用ごとの感染確率(左上)と年間感染確率(右上)、およびそれらの統計値(下表)

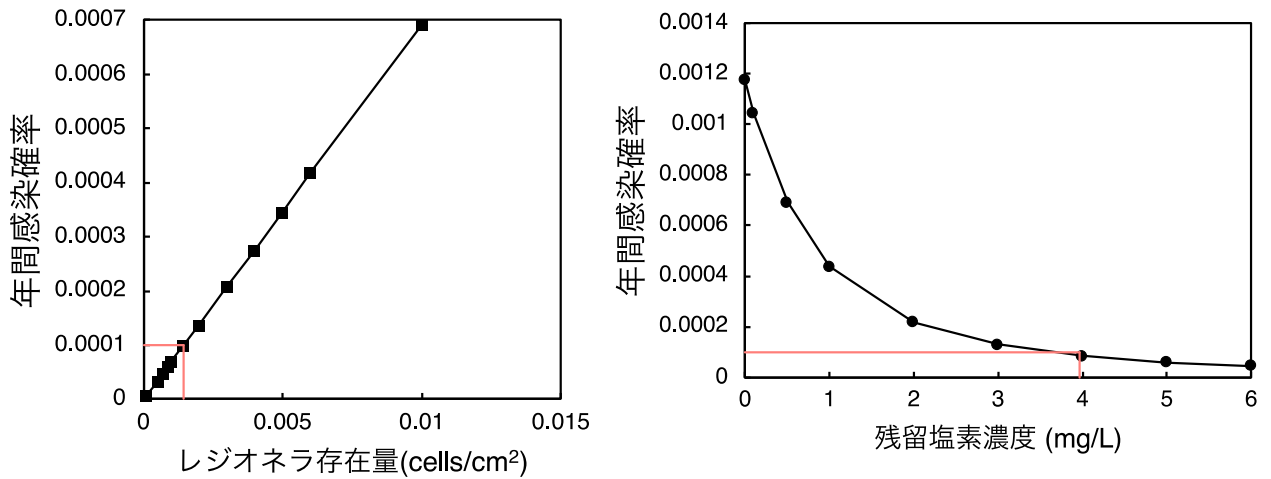


図 7 ベースケース（レジオネラ存在量 0.1 cells/cm²、残留塩素濃度 0.5 mg/L）からレジオネラ存在量（左）と残留塩素濃度（右）を変化させた場合の年間感染確率

参考文献

1) Xue, Z., Sendamangalam, V. R., Gruden, C. L., & Seo, Y. (2012). Multiple roles of extracellular polymeric substances on resistance of biofilm and detached clusters. *Environmental science & technology*, 46(24), 13212-13219.

（ 発 表 論 文 ）

青井裕亮, 中西智宏, 伊藤禎彦：レジオネラ感染リスクからみた給配水システムにおける残留塩素濃度の目標値に関する基礎的検討, *環境衛生工学研究*, Vol.35, No.3, pp.121-123, 2021.