

## 其他水系统研究与应用

张雅梅,代雪宁,杨文畅,等. 建筑热水系统中的军团菌赋存水平及影响因素[J] 净水技术, 2022, 41(6): 118-124.

ZHANG Y M, DAI X N, YANG W C, et al. Occurrence level and influencing factors of *Legionella* spp. in building hot water supply system[J]. Water Purification Technology, 2022, 41(6): 118-124.



扫我试试?

## 建筑热水系统中的军团菌赋存水平及影响因素

张雅梅<sup>1</sup>,代雪宁<sup>1</sup>,杨文畅<sup>2</sup>,李伟英<sup>1,2,\*</sup>

(1. 同济大学环境科学与工程学院,上海 200092;2. 同济大学长江水环境教育部重点实验室,上海 200092)

**摘要** 建筑热水系统水质微生物安全,对公众健康至关重要。文中介绍了我国华东地区某宾馆建筑热水系统研究结果,采用常规水质指标检测及 q-PCR 定量分析,了解建筑热水系统中军团菌(*Legionella* spp.)的存在水平、时空分布特征及其影响因素。建筑热水系统的军团菌检出率为 100%,含量为  $1.57 \times 10^4 \sim 3.55 \times 10^5$  copies/mL;嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)检出率为 50%,含量为 33.45~259.00 copies/mL,其中热交换器中含量最高;宾馆热水温度低、浑浊度高是造成军团菌含量增加、嗜肺军团菌检出的重要原因;磷可能是军团菌的限制性生长因素。因此,通过适当提高热交换器热水供应温度、降低水的浑浊度、控制水中磷的含量等措施可有效控制军团菌生长繁殖,保障水质生物安全。

**关键词** 宾馆 热水 军团菌(*Legionella* spp.) 嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*) 水质生物安全

**中图分类号:** TU822 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-0177(2022)06-0118-07

**DOI:** 10.15890/j.cnki.jsjs.2022.06.016

## Occurrence Level and Influencing Factors of *Legionella* spp. in Building Hot Water Supply System

ZHANG Yamei<sup>1</sup>, DAI Xuening<sup>1</sup>, YANG Wenchang<sup>2</sup>, LI Weiyong<sup>1,2,\*</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China;

2. Key Laboratory of Yangtze River Water Environment, Ministry of Education, Tongji University, Shanghai 200092, China)

**Abstract** Microbiological safety of building hot water supply system is vital for public health. The results of this study of a hotel building hot water supply system in East China was explained. Conventional water quality indicators and the q-PCR quantitative analysis were used to investigate the occurrence level, temporal and spatial distribution, and influencing factors of *Legionella* spp. in the building hot water supply system. Results showed that the detection rate of *Legionella* spp. was 100%, with a concentration of  $1.57 \times 10^4 \sim 3.55 \times 10^5$  copies/mL. The detection rate of *Legionella pneumophila* was 50%, with a concentration of 33.45~259.00 copies/mL. The highest concentration of *Legionella pneumophila* was in the heat exchanger. The increase of *Legionella* spp. concentration and the existence of *Legionella pneumophila* were ascribed to the low hot water temperature and high turbidity in the hotel. Phosphorus may be the restrictive growth factor of *Legionella* spp. Therefore, the effective control of the *Legionella* spp. growth and reproduction, and the guarantee of biological safety could be possibly achieved by enhancing the hot water supply temperature of the heat exchanger, reducing the turbidity and limiting the concentration of phosphorus of the water.

[收稿日期] 2021-09-18

[基金项目] 国家自然科学基金(51979194);中国工程院重点咨询项目(kz0040020210450);福州市供水系统水质稳定特性及对策研究(kh0040020203000)

[作者简介] 张雅梅(1997—),女,硕士,研究方向为建筑供水系统生物膜及水质生物安全,E-mail:1090649851@qq.com。

[通信作者] 李伟英(1968—),女,正高级工程师,E-mail:123lwyktz@tongji.edu.cn。

**Keywords** hotel hot water *Legionella* spp. *Legionella pneumophila* biosafety of water quality

建筑供水系统由建筑冷水系统和建筑热水系统组成,作为供水“最后一公里”的重要组成部分,其水质安全与居民健康息息相关。新冠疫情暴发以来,饮用水水质生物安全得到了更广泛的关注和重视。建筑供水系统中水流停滞时间长、供水管道直径较小、管道末梢水中消毒剂含量低,为微生物提供了适宜的生长条件<sup>[1-2]</sup>,而建筑热水系统的水温相比冷水系统更适宜微生物生长<sup>[3]</sup>,增加了水质生物风险。因此,建筑热水系统成为微生物及病毒传染的主要途径之一,由此带来的水质安全问题时有发生。

军团菌(*Legionella* spp.)是一种革兰氏阴性的条件致病菌,具有耐热性和耐氯性,广泛存在于自然水体<sup>[4]</sup>及建筑供水系统中,可通过直接接触或吸入气溶胶方式侵入人体,引起2种呼吸道感染病:庞蒂亚克热和军团菌病<sup>[5]</sup>。1976年美国费城首次暴发军团菌病,2000年—2009年美国军团菌病报告病例呈上升的趋势<sup>[6]</sup>,我国自1982年在南京首次报告军团菌病例之后,在北京、广州等省市陆续有军团菌散发和小规模暴发病例报道。与人类患病最为密切相关的是嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*),90%的病例与其有关<sup>[7]</sup>。

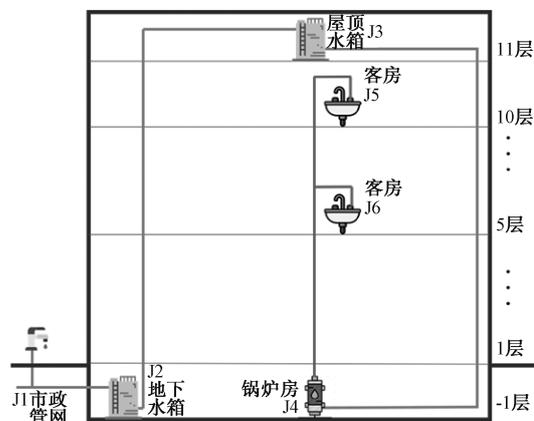
目前,国内外对建筑供水系统全流程中军团菌的分布了解尚不充分,在营养物质对军团菌影响研究方面,多集中于水中不同形式存在的碳源<sup>[8-9]</sup>,对氮和磷的关注较少。各建筑类型中,宾馆作为人流量较大的场所军团菌的检出率较高<sup>[10]</sup>。因此,本研究以华东地区实际宾馆(以下简称“J宾馆”)的建筑热水系统为研究对象,分析实际建筑热水系统中军团菌的时空分布特征,探究各水质指标对军团菌、嗜肺军团菌生长繁殖的影响,并通过正交试验探究营养物质对军团菌生长的影响,为研究建筑热水系统中军团菌存在规律以及末梢水生物安全保障提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 建筑热水系统概况及采样点布置

J宾馆共11层,其中1~4层为会议室、餐厅等,5~10层为客房,屋顶水箱置于11层,2台热交换器置于B1层。热水系统采用钢塑复合管。综合考虑建筑热水系统供水流程以及供水距离,共设置6个

取样点,如图1所示。



注:J1~J6—取样点位置,J1—市政管网,J2—地下水箱,J3—屋顶水箱,J4—热交换器,J5—10层的热热水末梢,J6—5层的热热水末梢

图1 取样点位置及编号

Fig. 1 Locations and Numbers System of Sampling Points

### 1.2 水质检测指标及方法

水质检测指标包括水温、总氯、pH、浑浊度、重金属及类金属指标,分别采用水银温度计、余氯分析仪、pH计、浊度仪以及电感耦合等离子质谱仪测定;溶解性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)采用总有机碳分析仪测定;总氮(total nitrogen, TN)的测定依据《水质 总氮的测定 碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法》(HJ 636—2012);可生物同化有机碳(assimilable organic carbon, AOC)以荧光假单胞菌P17和螺旋菌NOX为标准测试菌种,采用先后接种法测定;可生物利用磷(microbially available phosphorus, MAP)以荧光假单胞菌P17为标准测试菌种,采用流式细胞仪测定生物量。余氯和水温在现场测试,其余指标在水样运回至实验室后检测。

### 1.3 军团菌等微生物检测方法

采用实时荧光定量PCR检测建筑热水系统中的军团菌、嗜肺军团菌、哈曼属原虫(*Hartmannella vermiformis*)以及16S rRNA基因(表征总细菌数)。军团菌属和嗜肺军团菌采用Taqman探针法,总细菌和哈曼属原虫采用Sybr Green染料法。

### 1.4 统计分析方法

运用SPSS(version 25)软件进行统计学分析,采用非参数Kruskal-Wallis检验军团菌浓度随时间和空间变化的差异性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 建筑热水系统军团菌存在水平

分别在夏季和冬季采集水样,采用 q-PCR 定量

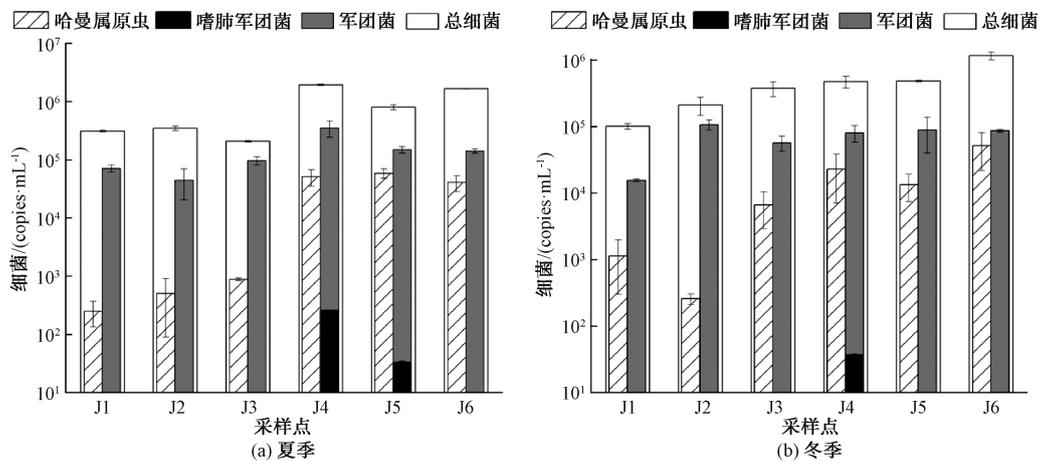


图2 J宾馆供水系统中细菌的赋存水平

Fig. 2 Bacteria Occurrence Levels in Water Supply System of Hotel J

高,在夏季尤为显著。军团菌和总细菌数随采样点位置变化不明显。军团菌含量在夏季时 ( $4.19 \times 10^4 \sim 3.55 \times 10^5$  copies/mL) 高于冬季 ( $1.57 \times 10^4 \sim 1.08 \times 10^5$  copies/mL)。饮用水中军团菌可能会引起感染的含量为  $3.5 \times 10^6 \sim 3.5 \times 10^8$  CFU/L<sup>[11]</sup>, J宾馆建筑热水系统的军团菌含量已经处于危险阈值内,应当引起注意。

嗜肺军团菌仅在热交换器及末梢水检出,含量为  $33.45 \sim 259.00$  copies/mL,热交换器中嗜肺军团菌浓度最高。建筑热水系统中哈曼属原虫浓度升高促进了嗜肺军团菌的生长,可能是因为哈曼属原虫促进嗜肺军团菌进入“活的但非可培养”(viable but non-culturable, VBNC) 状态,增强其对不利环境条件的抵抗能力<sup>[12]</sup>。夏季5层的末梢热水以及冬季10、5层的末梢热水的嗜肺军团菌浓度低于定量限,未在图中标记。由检测结果可知,末梢热水均受到嗜肺军团菌污染,虽然污染程度不高,但仍有再生长的风险。

### 2.2 常规水质指标及其对军团菌存在影响

对水温、总氯、pH、浑浊度检测与分析结果如图3所示。由图3(a)可知,J宾馆市政管网、水箱、热交换器和末梢热水的平均水温分别为 23.4、23.3、46.3 °C 和 40.0 °C。10层的末梢热水为 40.3~46.0

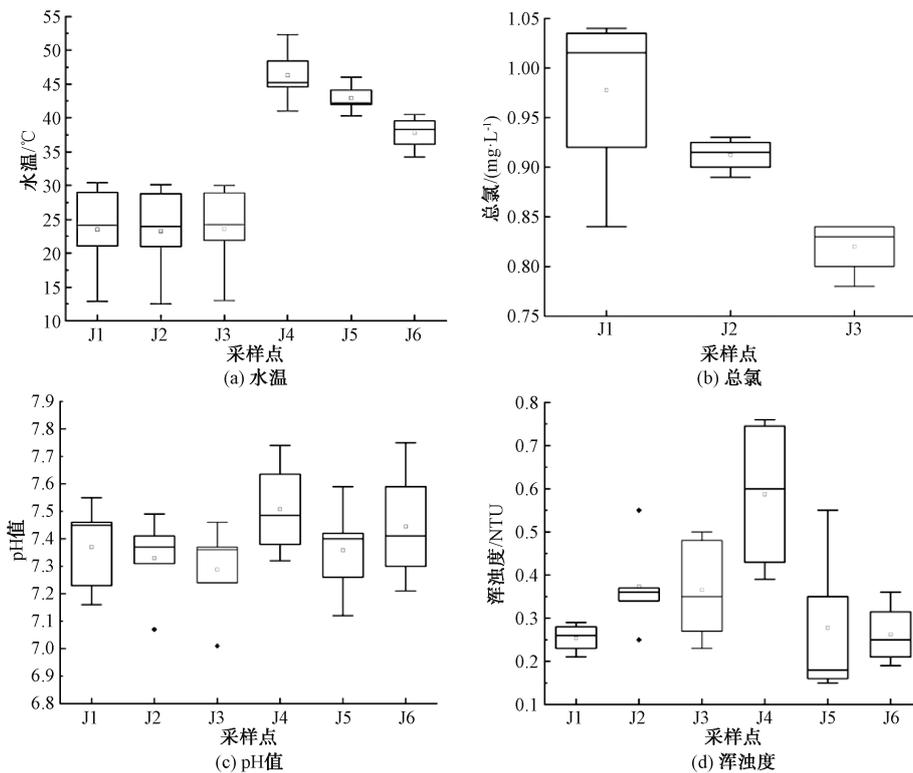
检测建筑热水系统中军团菌的污染程度,结果如图2所示。

J宾馆建筑热水系统军团菌和哈曼属原虫检出率为 100%,哈曼属原虫在热交换器后浓度显著升

高,5层的末梢热水在 34.2~40.5 °C,处于军团菌适宜生长温度范围。由 2.1 节可知,J宾馆热交换器以及末梢水受到了军团菌、嗜肺军团菌的污染,而在冷水中未检测到嗜肺军团菌。因此,水温是影响军团菌(尤其是嗜肺军团菌)繁殖的重要因素。10层的热水末梢嗜肺军团菌浓度较高,Proctor 等<sup>[8]</sup>研究也表明在热水系统中,当温度为 41 °C 时嗜肺军团菌浓度达到峰值。《生活热水水质标准》(CJ/T 521—2018)规定热水温度应大于 46 °C,本研究中 J宾馆出于防止住客烫伤以及用水舒适性的考虑,热交换器出水温度较低,导致用水末梢热水水温均不满足要求。因此,应适当提高热交换器及末梢热水温度,以降低嗜肺军团菌浓度。

J宾馆总氯在各采样点差异显著 ( $P = 0.029 < 0.050$ ),J宾馆未采用二次消毒措施,总氯随供水距离的增加明显降低,热交换器后水中总氯含量接近为 0。总氯的迅速衰减也是 J宾馆热水系统中军团菌浓度较高的原因之一。

由图 3(b)~图 3(c)可知,J宾馆的 pH 值为 7.01~7.75,浑浊度全年在 1 NTU 以下,均满足《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)要求。值得关注的是,热交换器浑浊度最高,而嗜肺军团菌浓度也最高,因此,浑浊度可能是促进嗜肺军团菌生长繁殖的重要因素之一。



注: J4~J6 采样点总氯质量浓度接近 0, 低于仪器定量限, 故未在图中标出

图 3 J 宾馆供水系统中常规理化指标变化

Fig. 3 Changes of Conventional Physical and Chemical Indices in Water Supply System of Hotel J

重金属及类金属检测结果表明, J 宾馆铜的质量浓度为 83.69~127.26  $\mu\text{g/L}$ , 在热交换器中含量较高。Song 等<sup>[13]</sup>研究表明 200~800  $\mu\text{g/L}$  的铜能有效杀菌, 本研究中铜的质量浓度较低, 未表现出对军团菌生长的抑制作用。砷的质量浓度在 0.30~2.15  $\mu\text{g/L}$ , 铅质量浓度在 0.06~1.10  $\mu\text{g/L}$ , 两者均满足《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006) 中质量浓度 < 10  $\mu\text{g/L}$  的要求。

碳、氮、磷是微生物生长必要的营养元素, 建筑给水系统属于贫营养环境, 营养基质很可能成为微生物生长的限制性因素。本研究选取 DOC、AOC、TN 以及 MAP 作为水质检测指标, 其中 AOC、MAP 为水质生物稳定性指标, 检测结果如图 4 所示。

由图 4(a)~图 4(b) 可知, J 宾馆 DOC 质量浓度在 1.67~3.60  $\text{mg/L}$ 。夏季的屋顶水箱中 DOC 浓度最高, 表明夏季屋顶水箱受到了有机物污染。TN 质量浓度在 5.19~8.67  $\text{mg/L}$ , 统计学分析表明 J 宾馆 DOC、TN 与季节、采样点间差异均不显著。

市政供水管网水中 AOC 较低且比较稳定, 建筑

内部水中 AOC 波动较大, 平均质量浓度在 97~209  $\mu\text{g/L}$ , 如图 4(c) 所示。Zhang 等<sup>[14]</sup>研究表明, AOC 质量浓度低于 135  $\mu\text{g/L}$  时, 可有效抑制异养菌再生。因此, J 宾馆建筑热水系统生物稳定性较差。如图 4(d) 所示, MAP 随供水距离增加呈现平稳降低的趋势, 热水末梢 MAP 较低, 可能与细菌生长消耗 MAP 有关。水中营养物质对军团菌生长繁殖的影响将在 2.4 小节阐述。

J 宾馆热水系统的异养菌平板计数(HPC)如图 5 所示。《生活热水水质标准》(CJ/T 521—2018) 中规定水中 HPC  $\leq 500 \text{ CFU/mL}$ , 除冬季 5 层的末梢热水 HPC 超标 (503  $\text{CFU/mL}$ ) 之外, 其余采样点的 HPC 均符合规范要求, 但末梢热水的 HPC 显著高于其余采样点, 应引起关注。

### 2.3 热水系统生物膜及其对水样中军团菌存在影响

在夏季采集生物膜样品, 采用 q-PCR 定量检测建筑热水系统中军团菌等细菌, 结果如图 6 所示。

生物膜中军团菌的检出率为 100%, 含量为

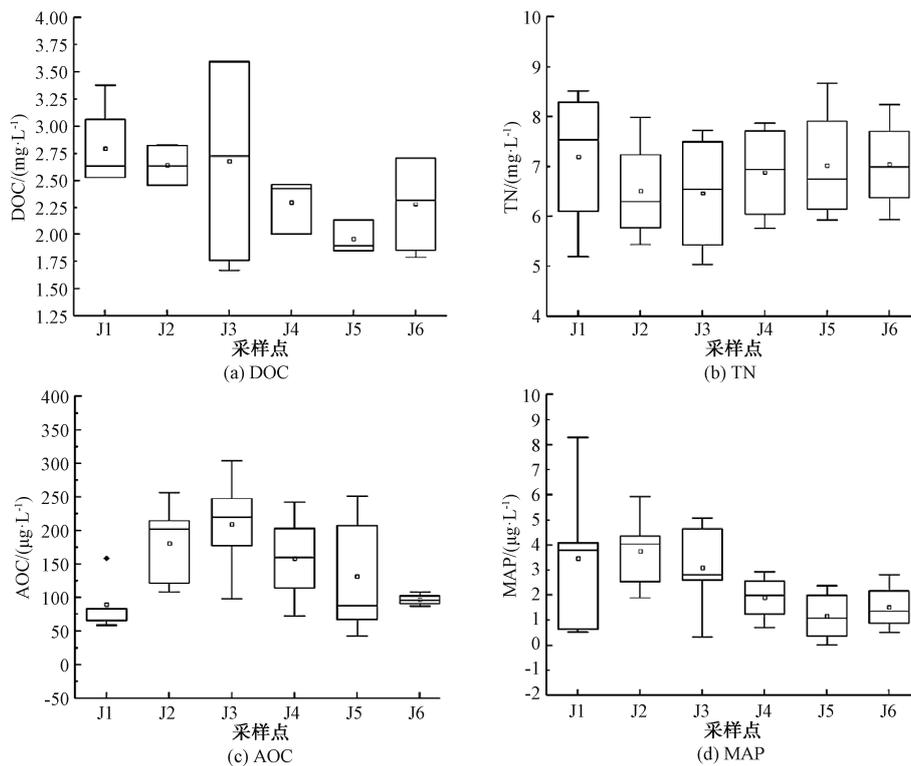


图4 J宾馆供水系统中营养基质变化

Fig. 4 Changes of Nutrient Substrates in Water Supply System of Hotel J

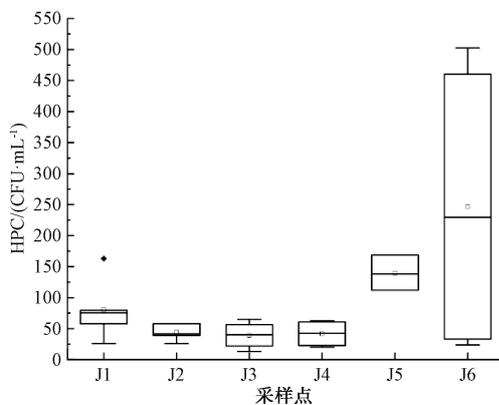


图5 J宾馆供水系统中 HPC 变化

Fig. 5 Changes of HPC in Water Supply System of Hotel J

$3.08 \times 10^4 \sim 1.07 \times 10^7$  CFU/cm<sup>2</sup>。在冷水管壁生物膜中未检出嗜肺军团菌;在热交换器和热水系统末梢管壁生物膜中均检出嗜肺军团菌,与 2.1 小节中检测结果一致,再次表明水温是军团菌生长繁殖的重要影响因素。

生物膜中的生物量较大,且有一部分持续处于 VBNC 状态<sup>[6]</sup>,存在潜在微生物风险。饮用水管壁

生物膜中军团菌可能引起感染的含量为  $7.8 \times 10^5 \sim 7.8 \times 10^8$  CFU/cm<sup>2</sup><sup>[11]</sup>,由图 6 可知,J 宾馆生物膜中的军团菌含量处于引起感染的浓度范围内,生物膜中的军团菌会释放到水中,带来水质生物安全隐患。应当引起重视,及时采取相应措施,如定期清洗水箱、热交换器等,可以有效降低军团菌和嗜肺军团菌在热水系统中的含量<sup>[15]</sup>。

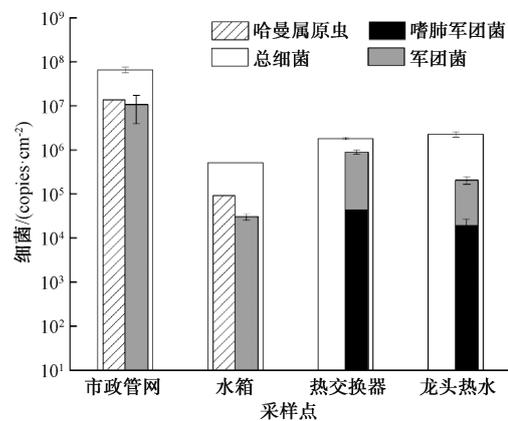


图6 J宾馆供水系统生物膜中细菌的赋存水平  
Fig. 6 Occurrence Levels of Bacteria in Biofilm in Water Supply System of Hotel J

### 2.4 营养物质对军团菌生长影响试验

本研究根据建筑热水系统的实际水样监测数据,为探究不同温度下营养物质对微生物生长的影响,进行四因素三水平的正交试验,各因素试验水平

如表 1 所示。提取建筑热水系统的细菌,按照表 2 进行 9 组试验,采用 q-PCR 技术检测 9 组试验培养后混合液的 16S rRNA 基因(表征总细菌)、嗜肺军团菌和军团菌,检测结果如图 7 所示。

表 1 正交试验因素水平

Tab. 1 Orthogonal Experiment Factor Level

水平代码	(A)温度/°C	(B)碳源质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	(C)氮源质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	(D)磷源质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
1	40	50	10	3
2	50	150	40	7
3	60	300	70	10

表 2 正交试验安排

Tab. 2 Orthogonal Experiment Schedule

试验组号	(A)温度/°C	(B)碳源质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	(C)氮源质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	(D)磷源质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
1	40	50	10	3
2	40	150	40	7
3	40	300	70	10
4	50	50	40	10
5	50	150	70	3
6	50	300	10	7
7	60	50	70	7
8	60	150	10	10
9	60	300	40	3

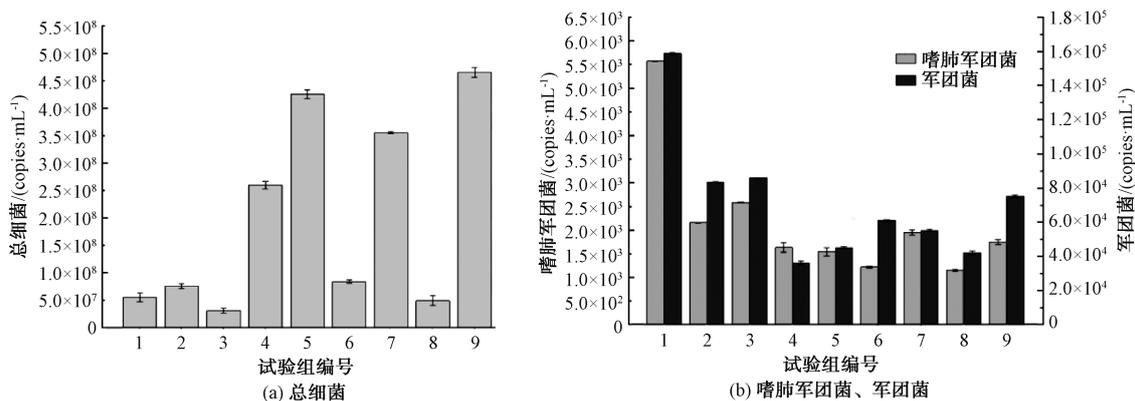


图 7 不同温度及营养条件下总细菌、军团菌、嗜肺军团菌变化

Fig. 7 Changes of Total Bacteria, *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* under Different Temperatures and Nutrient Conditions

对正交试验结果进行极差分析表明,总细菌数影响因素排序为:温度>氮源>磷源>碳源,其中温度、氮源和磷源对总细菌的影响程度相差不大,而碳源的影响最小。在温度为 40 °C 下,总细菌的含量最

低,为  $3.13 \times 10^7 \sim 7.59 \times 10^7$  copies/mL,温度为 60 °C 下总细菌含量最高,可达  $4.66 \times 10^8$  copies/mL。这表明宾馆热水系统中存在部分耐热的细菌,可在较高的热水温度(50~60 °C)下生存,且生长速率较

快<sup>[16]</sup>,使总细菌数增高。

嗜肺军团菌影响因素排序为温度>碳源>磷源>氮源,温度对嗜肺军团菌生长的影响最大,其他3种因素对嗜肺军团菌的影响程度相差不大。

军团菌影响因素排序为温度>磷源>氮源>碳源,磷可能是军团菌属某些其他菌群的限制性生长因素。由不同试验组间的对比来看,嗜肺军团菌和军团菌属的变化趋势相似,表明军团菌属的菌群受环境影响的情况趋于一致。军团菌与嗜肺军团菌最大值均为1号样本,且与HPC的最佳组合保持一致,这可能是由于军团菌属的细菌与水中其他多种微生物存在共生关系。

### 3 结论

本研究主要得出以下结论。

(1)J宾馆建筑供水系统(给水系统和热水系统)军团菌检出率为100%,给水系统中未检出嗜肺军团菌,但热水系统中嗜肺军团菌检出率为50%,其中热交换器中嗜肺军团菌污染最严重,应及时采取增加清洗频率等措施,保障热水水质生物安全。

(2)温度和浑浊度是影响军团菌生长繁殖的重要因素,建议适当提高热交换器热水温度、降低水的浑浊度以及在屋顶水箱加注适量消毒剂,以控制军团菌生长繁殖。

(3)磷是军团菌的限制性生长因素。

### 参考文献

- [1] LIU L Z, XING X C, HU C, et al. One-year survey of opportunistic premise plumbing pathogens and free-living amoebae in the tap-water of one northern city of China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 77: 20–31. DOI: 10.1016/j.jes.2018.04.020.
- [2] ZLATANOVIC L, VAN DER HOEK J P, VREBURG J H G. An experimental study on the influence of water stagnation and temperature change on water quality in a full-scale domestic drinking water system [J]. *Water Research*, 2017, 123: 761–772. DOI: 10.1016/j.watres.2017.07.019.
- [3] NESCIERECKA A, JUHNA T, HAMMES F. Identifying the underlying causes of biological instability in a full-scale drinking water supply system [J]. *Water Research*, 2018, 135: 11–21. DOI: 10.1016/j.watres.2018.02.006.
- [4] PARTHUISOT N, WEST N J, LEBARON P, et al. High diversity and abundance of *Legionella* spp. in a pristine river and impact of seasonal and anthropogenic effects [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(24): 8201–8210. DOI: 10.1128/AEM.00188-1.
- [5] LECHEVALLIER M W. Occurrence of culturable *Legionella pneumophila* in drinking water distribution systems [J]. *AWWA Water Science*, 2019, 1(3). DOI: 10.1002/aww2.1139.
- [6] KIRSCHNER A K T. Determination of viable legionellae in engineered water systems: Do we find what we are looking for? [J]. *Water Research*, 2016, 93: 276–288. DOI: 10.1016/j.watres.2016.02.016.
- [7] 李欢, 赵建夫, 王虹. 饮用水输配系统中条件致病菌的健康风险和生长因素 [J]. *中国给水排水*, 2017, 33(10): 41–45.
- [8] PROCTOR C R, DAI D, EDWARDS M A, et al. Interactive effects of temperature, organic carbon, and pipe material on microbiota composition and *Legionella pneumophila* in hot water plumbing systems [J]. *Microbiome*, 2017, 5. DOI: 10.1186/s40168-017-0348-5.
- [9] WILLIAMS K, PRUDEN A, FALKINHAM J, et al. Relationship between organic carbon and opportunistic pathogens in simulated glass water heaters [J]. *Pathogens*, 2015, 4(2): 355–372. DOI: 10.3390/pathogens4020355.
- [10] PAPANAKIS A, CHOCHLAKIS D, SANDALAKIS V, et al. *Legionella* spp. risk assessment in recreational and garden areas of hotels [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018, 15(4). DOI: 10.3390/ijerph15040598.
- [11] SCHOEN M E, ASHBOLT N J. An in-premise model for *Legionella* exposure during showering events [J]. *Water Research*, 2011, 45(18): 5826–5836. DOI: 10.1016/j.watres.2011.08.031.
- [12] DEY R, RIEGER A, BANTING G, et al. Role of amoebae for survival and recovery of 'non-culturable' *Helicobacter pylori* cells in aquatic environments [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2020, 96(10). DOI: 10.1093/femsec/fiaa182.
- [13] SONG Y, PRUDEN A, EDWARDS M A, et al. Natural organic matter, orthophosphate, pH, and growth phase can limit copper antimicrobial efficacy for *Legionella* in drinking water [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(3): 1759–1768. DOI: 10.1021/acs.est.0c06804.
- [14] ZHANG J, LI W Y, WANG F, et al. Exploring the biological stability situation of a full scale water distribution system in south China by three biological stability evaluation methods [J]. *Chemosphere*, 2016, 161: 43–52. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.06.099.
- [15] RHOADS W J, BRADLEY T N, MANTHA A, et al. Residential water heater cleaning and occurrence of *Legionella* in Flint, MI [J]. *Water Research*, 2020, 171: 115439. DOI: 10.1016/j.watres.2019.115439.
- [16] HENNE K, KAHLISCH L, HOFLE M G, et al. Seasonal dynamics of bacterial community structure and composition in cold and hot drinking water derived from surface water reservoirs [J]. *Water Research*, 2013, 47(15): 5614–5630. DOI: 10.1016/j.watres.2013.06.034.