

函館高専 正員 ○ 芦立 俊厚
東洋建設(株) 中川 剛
北海道開発庁 高山 雅彦

1. はじめに

水の微生物汚染による水系伝染病の発生は上水道のほぼ全国的な普及にもかかわらず、配水管網末端での細菌の after growth やビル・団地等の受水槽での汚染事故、THM対策の一環としてとられる塩素注入量の削減等を背景にむしろその潜在的な可能性を増しつつある。またウイルスやキャンピロバクターなどによる感染症の多発から、これら病原体の水系への汚染対策も緊急の課題である。一方、代表的細菌指標である大腸菌群は糞便汚染との1:1の対応に疑問が持たれ、糞便性大腸菌(FC)の切り替えが各方面で検討されている。すなわち、水の微生物指標とそれによる監視体制を再検討すべき時期が到来している。多くの側面から問題点を摘出して検討すべきことは言うまでもないが、試験の迅速化もこの分野で切実に求められていることである。本報告は最低でも24時間を要するFC試験を7時間に短縮し、試料の糞便汚染の有無・程度を即日知ることができるよう性を検討したものである。

2. 研究方法

7時間FC試験法 本法(以下 m-7-h FC法と略し、得られた結果を7-h FCと表わす)は表-1に示す組成の培地を用いメンブランフィルタ法でFCを求める方法である。m-FC broth baseを用いる方法(以下 m-

表-1 m-7-h FC 培地の組成

Component	Amt
Protease peptone no.3	5.0g
Yeast extract	3.0g
Lactose	10.0g
D-Mannitol	5.0g
Sodium chloride	7.5g
Sodium lauryl sulfate	0.2g
Sodium deoxycholate	0.1g
Bromocresol purple, free acid	0.35g
Phenol red, water soluble	0.3g
Agar	15.0g
Distilled water	1000.0ml
Final pH	7.3

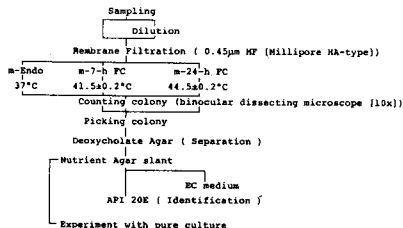


図-2 実験のフローシート

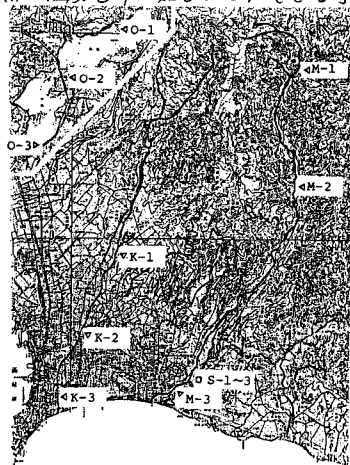


図-1 試料採取地点

24-h FC法と略し、得られた結果を24-h FCと表わす)と大きく異なる点は培養温度(44.5℃に対して41.5℃)と培養時間(24時間に対して7時間)である。また培地の組成もFCの短時間での増殖を図るため Mannitolが新たに加えられている。

試料採取と実験方法 m-7-h FC法の妥当性を検討するために、できるだけタイプの異なる水系から試料水を採取して実験を行った。採水地点を図-1に示した。採取した試料水について図-2に示すフローシートに従って実験を行った。

3. 実験結果と考察

種々の試料について7-h FC と24-h FCを対

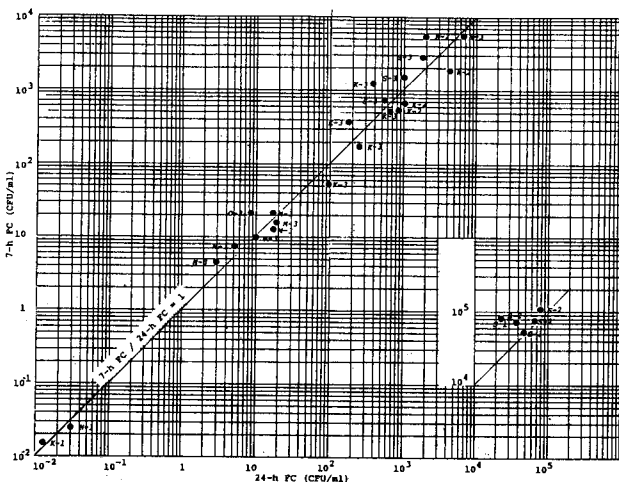


図-3 7-h FC と24-h FCとの関係

比して示したのが図3である。両者は細菌試験としてはほぼ一致した結果といってよいほど近接した値をとり、各地点毎の時期的な変動もきわめて小さい。

表-2 7-h FC の色調と大きさによる分類

Colony color & size	No. picked	E. coli
Yellow-Large	18	17
Yellow-Medium	26	26
Yellow-Small	11	7
Clear	4	3
	59	53

m-7-h FC 法においては、黄色のコロニーが多く出現し無色や稀に紫色のものも現れる。このコロニーの色調や大きさを大まかに分類して E. coli の占める割合を示したのが表-2 である。E. coli が黄色のコロニーを形成するのは lactose や mannitol を分解して生成した酸によって bromocresol purple が変色するためであるが無色のコロニーの大部分も E. coli ということは培養時間が短いため BCP を変色させるまでの酸が生成されない状態と推測される。この結果から m-7-h FC 法で出現したコロニーは色調や大きさにかわらずすべて FC と見做して大過ないであろう。次に 7-h FC を API 20E で分類同定し、水系ごとにまとめた結果を表3に示した。いずれの水系も非糞便性細菌の出現する割合は低く、m-7-h FC と法が E. coli の選択性の高い試験法であることを示している。

表-3 7-h FC 構成菌の分類同定結果

	Kamiyukawa S.T.P.	R. Kameda	L. Ohnuma	R. Matsukura	Total
No. picked	17	22	7	13	59
<i>Escherichia coli</i>	17	21	6	9	53
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	1	2	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	1	1
<i>Serratia liquefaciens</i>	0	0	0	1	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	1	0	0	1

次に API 20E による分類同定の結果得られた細菌株を用いて m-7-h FC 法の妥当性を検討した。実験は各種の保存菌株も Nutrient Agar slant で増菌し、その一白金耳量をリン酸緩衝溶液に均一に懸濁させたものを試料とした。試料に含まれる細菌株の総菌数を求めるために m-Endo 法も、また m-7-h FC 法と対比するために m-24-h FC 法を同時に試験した。結果を図4に示した。m-7-h FC 法において E. coli 以外の菌種の増殖は一例のみで、本法の持つ E. coli の選択性の高さはこの結果からも明らかである。存在する E. coli を余さず検出しているについては、m-Endo 法より求めた総菌数と比較するとかなり近接しているものの若干少なめとなっている。これは細菌株の活性状態が必ずしも一様とは限らないので、高温培養で一部の不活性部分が脱落したものと考えられる。

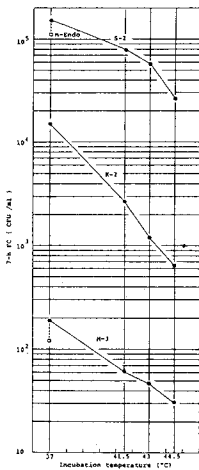


図-5 m-7-h FC 法に及ぼす培養温度の影響

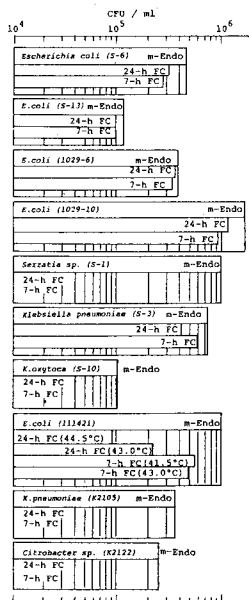


図-4 細菌株による検討

41.5°C という培養温度は FC のみを増殖させるという選択性の確保と短時間で肉眼視できるコロニーを形成させるための増殖促進との妥協の産物のように見える結果としてそうであるうか。二、三の試料水について m-7-h FC 法の培養温度を変えて試験した結果を図5に示した。培養温度の上昇とともに検出コロニーが減少する傾向は明白である。しかし 41.5°C 以外の培養温度ではコロニーのサイズがきわめて小さく計数は困難であった。従って FC も計数可能な大きさのコロニーに短時間に増殖させるには 41.5°C が望ましく、また先の検討から 41.5°C という培養温度は E. coli の選択性に問題なしという結果が得られているので、当初の培養条件が最も望ましいといえることができる。

4. おわりに

FC 試験を7時間に短縮する m-7-h FC 法についてその妥当性を種々の側面から検討した結果、7時間で計数可能なコロニーが形成され、FC の選択性も十分満足すべきものであった。本法を用いれば、勤務開始時に試験をして培養を開始すると通常の勤務時間内に試料の糞便汚染の有無・程度を十分な精度で知ることができる。

<参考文献> 1) D. J. Reasoner et al.; Appl. Environ. Microbiol. 38, 229 (1979) 2) 芦田徳厚他; 環境衛生学 193 229 (1985)