

II - 521

消毒効果判定における被ストレス細菌の評価

函館工業高専土木工学科 正員 芦立 徳厚
 国立公衆衛生院水道工学部 正員 相沢 貴子
 国立公衆衛生院水道工学部 正員 真柄 泰基
 函館工業高専土木工学科 木田 清美

1. はじめに

塩素消毒はもちろん、その問題点を解決すべく検討されている各種の代替消毒法においても、消毒に対して耐性の高い病原体（ウイルス、原虫等）が確実に死滅しているか否かを明示できる指標細菌が求められている。著者らはこれに適う指標細菌として R2A培地を用いた有機栄養細菌をあげ、一般細菌もそれに代わりうることを明らかにしている。しかし、病原体の多くは腸内から排泄されているので、腸内細菌のなかで消毒耐性の高い指標細菌があればより望ましいことになる。これに適う可能性のあるものとして、被ストレス細菌を含めて検出する指標細菌試験法があげられる。

被ストレス細菌とは、様々な物理的・化学的条件によって圧迫を受けたり損傷したりしている細菌で未だ死には至っていない細菌をさしている。普通の培養条件では、細胞組織や新陳代謝の損傷によって成長や、コロニーを形成することはできないため、存在している細菌の10%から多いときは90%も検出されないこともあるといわれている。消毒操作は細菌にとってまさに典型的なストレスであるので、消毒後の水には多くの被ストレス細菌が含まれている可能性が高い。したがって、被ストレス細菌を含めて検出する指標細菌試験法によって、相対的に消毒耐性の高い指標細菌を手に入れる可能性が生まれてくる。本研究は以上の観点から、被ストレス細菌の評価を試みたものである。

2. 実験方法

塩素、二酸化塩素の消毒実験の手順は前報と同様である¹⁾。細菌試験は、従来法として、大腸菌群（以後TCと略す）がm-Endo培地MF法、ふん便性大腸菌（FC）はm-FC培地MF法によった。被ストレス細菌を検出する試験法として、TCについてはm-T7寒天培地を用い35℃、24hr培養、FCについてはm-FC寒天培地を用い35℃、2hr培養後、44.5℃、22hr培養（S-m-FC法）をそれぞれ行った後、出現したコロニーをカウントした。各培地に出現したコロニーが、それぞれ確かにTC、FCであることを確認するため、図1示す手順に従って実験を行った。図に示す条件で培養後、増殖の有無とダーラム管によるガス発生の有無を観察した。

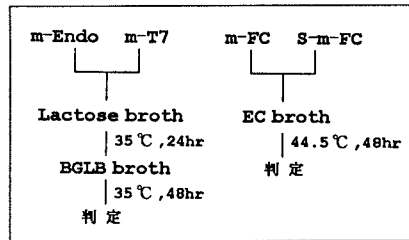


図1 コロニー確認のための実験手順

3. 実験結果と考察

塩素消毒と二酸化塩素消毒の消毒経過をFCについて示したのが、図2、3である。S-m-FC法で検出されたFCには従来法のm-FC法で検出されるFCに加えて、被ストレスFCが含まれているわけであるから、当法で検出されたFCを総ふん便性大腸菌（T-FCと略す）と呼ぶことにする。一方、被ストレスふん便性大腸菌数（S-FCと略す）は、S-m-FC法の検出菌数からm-FC法の検出菌数を差し引けばよいことになる。両図には二法によるFCの減少経過と被ストレスFCの占める割合の変化が示されている。両図とも、接触時間0分すなわち消毒剤と接触する前の段階でも、被ストレス細菌がかなりの割合を占めていることを示している。このことは、下水中の細菌の一部が何らかのストレスの履歴をもって処理場に流入してくることを物語っている。塩素 1ppm 添加の場合、m-FC法では、半対数グラフ上でFCはほぼ直線的に減少してゆくが、S-m-FC法では、減少が緩慢な方向に変化している。その原因は時間の経過とともにS-FCの割合が増加するからで、60分後にはT-FCの93%にも達している。一方、二酸化塩素 1ppm 添加の場合、接触時間5分でです

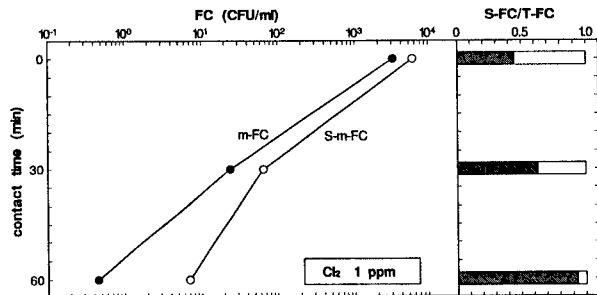


図2 塩素 1ppm添加の消毒経過

に検出限界ぎりぎりの菌数まで減少する傾向は、m-FC法、S-m-FC法とも大差なく、S-F Cの占める比率も60分後には3割以下であった。この両者の差は、両消毒剤の消毒力の違いが生み出しているものと思われる。このことは、塩素の場合、細菌を死滅させたつもりでも多くの被ストレス細菌が残存している可能性があるのに対し、同濃度の二酸化塩素の場合、その強力な殺菌力から、細菌を被ストレス細菌の状態に留めず死滅に至らしめることを物語っている。

以上の考察は、S-m-FC法で検出された細菌

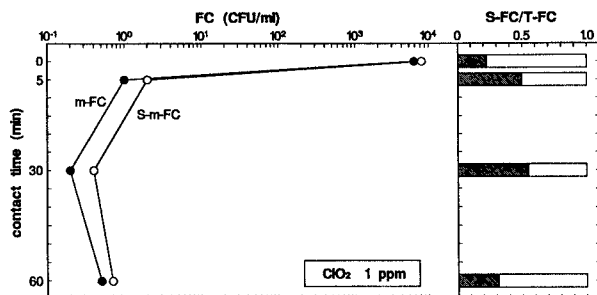


図3 二酸化塩素 1 ppm添加の消毒経過

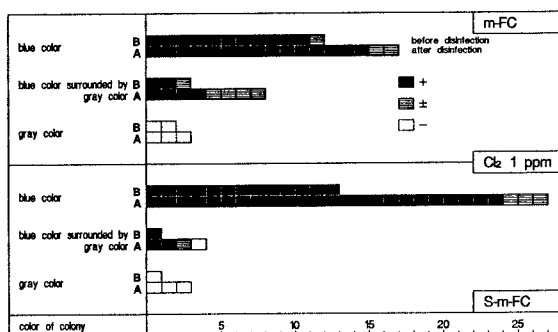


図4 塩素消毒下のコロニーの確認結果

が真のふん便性大腸菌であることが前提であるので、そのことを確認する必要がある。図1に示す手順に従って得られた結果を図4、5に示した。E C培地で増殖し、ガス発生した場合は+、増殖のみでガス発生が無かった場合は±、増殖の認められなかった場合は-で結果を示している。m-FC培地の場合、通常は青色または灰色の周辺部を持った青色のコロニーをFCとしてカウントしているが、これに灰色のコロニーを加えて検討した。塩素 1 ppm添加の結果をみると、S-m-FC法については、消毒前後に関わらず、青色を含むコロニーはほぼFCとみなしてよいという傾向に変わりはない。消毒後に若干±や-が増えているが、同時に行ったm-FC法の結果でも青色を含むコロニーに若干±が含まれており、FC検出法としての妥当性において、S-m-FC法に問題はないと考えられる。ところが、二酸化塩素を 1 ppm添加した場合の様相はかなり異なるものとなった。すなわち、消毒前は塩素の場合とほぼ同じであったが、消毒後青色コロニーにFC-がかなり現れたり、灰色コロニーにFC+が現れたりという現象が現れた。これは、S-m-FC法だけの現象でなく、m-FC法でも同様であった。このことは、二酸化塩素の強力な酸化力が細菌の酸生成能に影響を与えている可能性を示唆しており、コロニーの判定基準に問題を投げかけている。

二酸化塩素消毒については、大腸菌群でも同様な結果が得られている（図6）。特に、消毒後のm-Endo法において、非定型の赤色コロニーの中に大量のT C+が現れる結果となった。いずれにしても、消毒法を変更するときは、採用する指標細菌の判定基準まで立ち入って検討することが事前に必要ということがいえよう。

最後に、被ストレス細菌検出法は、従来の指標細菌検出法を上回る菌数を検出する能力があり、それなりに有効だが、有機栄養細菌や一般細菌のレベルには及ばない²⁾。今後、対象とする水の種類や消毒法によって指標細菌をどのように選択し組み合わせよいかが課題となる。本研究は、H 5年度卒研生 今岡 孝(現、宮城建設工業[株])、大館 渉(現、北海道建設コンサルタント[株]) 両氏の協力を得た。記して謝意を表する。

【参考文献】1) 芦立他：土木学会第48回年次学術講演会，II-562, 1220-1221, 1993 2) 芦立他：土木学会第49回年次学術講演会，II-B-486, 972-973, 1994

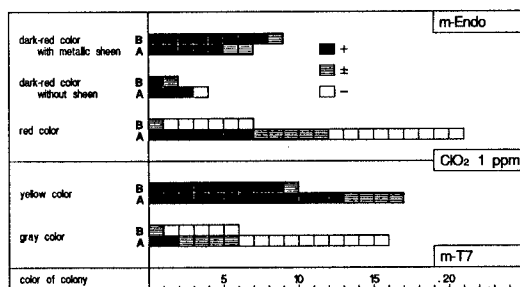


図6 二酸化塩素消毒下のコロニーの確認結果