

VII-83

消毒下における被ストレス細菌（大腸菌群）の挙動

函館工業高専環境都市工学科 正会員 芦立 徳厚
 国立公衆衛生院水道工学部 正会員 相沢 貴子
 国立公衆衛生院水道工学部 正会員 真柄 泰基
 函館工業高専環境都市工学科 木田 清美

1. はじめに

塩素消毒はもちろん、塩素に代わる各種の消毒法においても、消毒に対して耐性の高い指標細菌が求められている。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ることを昨年度の年講等で指摘した^{1) 2)}。

被ストレス細菌 (stressed bacteria) 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。被ストレス細菌は、普通の培養条件では、細胞組織や新陳代謝系の損傷によって成長やコロニーを形成することが困難なため、通常の細菌試験法では、存在している細菌の10%から多いときは90%も検出されない試料が存在することもあるといわれている。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を用いると、同じ指標細菌でも、相対的に消毒耐性の高い指標細菌を手に入れたことになる可能性が生まれてくる。昨年は、ふん便性大腸菌群の被ストレス細菌を中心に報告したが、本年は大腸菌群の被ストレス細菌について、得られた知見を報告する。

2. 実験方法

塩素、二酸化塩素の消毒実験の手順は前年度と同様である。大腸菌群の従来法として、m-Endo培地 MF法(以下、m-Endo法あるいは、m-Endo m. と略称)を用いた。大腸菌群の被ストレス細菌を検出する試験法として、m-T7寒天培地を用い35℃、24hr培養する方法(m-T7法あるいは m-T7 m. と略称)を採用した。各培地に出現したコロニーが、確かに大腸菌群であるか否かを確認するため、コロニーを白金線で釣菌し、BGLB培地とダーラム管の入った試験管に移植して、35℃、48hr培養した。大腸菌群であるか否かの確認は、BGLB培地における増殖の有無とダーラム管内のガス発生の有無によった。

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大腸菌群の従来法と被ストレス細菌も検出する方法について同時に実験した結果を、図1～4に示した。m-T7法で検出された大腸菌群には、従来法のm-Endo法で検出される大腸菌群に加えて、被ストレス大腸菌群が含まれているわけであるから、当法で検出された大腸菌群を総大腸菌群(T-TCと略す)と呼ぶことにする。一方、被ストレス大腸菌群数(S-TCと略す)は、m-T7法の検出菌数からm-Endo法の検出菌数を差し引くことによって求めることができる。各図には二法による大腸菌群の減少経過とS-TCの占める割合の変化が示されている。いずれの図でも、接触時間0分すなわち消毒剤と接触する前の段階で、被ストレス細菌がかなりの割合を占めていることが示されている。このことは昨年度も指摘したように、試料に用いている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 0.5ppm 添加の場合(図1)、接触時間60分での不活化率は、m-T7法が47%、m-Endo法が44%と低く、被ストレス細菌の占

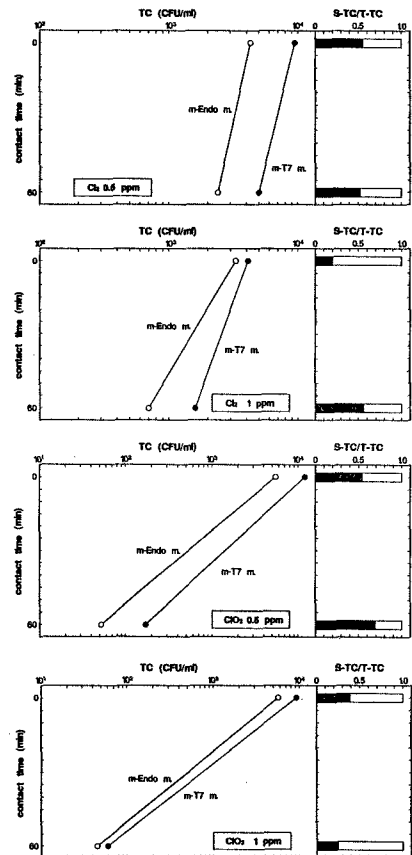


図1～4 塩素、二酸化塩素の消毒経過

める割合（S-TC/T-TC）は、消毒前後で0.55、0.52と変わらなかった。一方、塩素 1 ppm添加の場合（図2）、不活化率は61%、79%と上昇し、S-TC/T-TCは0.20から0.56に増加した。

二酸化塩素 0.5ppm 添加の場合（図3）、接触時間60分の不活化率は、m-T7法が98.6%、m-Endo法が99.1%で、被ストレス細菌の占める割合は0.54から0.69に変化した。一方、二酸化塩素 1ppm 添加の場合（図4）、不活化率はm-T7法が99.4%、m-Endo法が99.2%とほとんど変わらなかったが、被ストレス細菌の比率は0.39から0.25に減少した。

以上の被ストレス細菌の比率の変動はおおまかに、比率の変動がほとんど無い場合（塩素 0.5ppm）、比率が増加する場合（塩素 1 ppm、二酸化塩素 0.5ppm）、比率が減少する場合（二酸化塩素 1 ppm）の三つに分類することができる。このことは、消毒剤のある濃度レベルから被ストレス細菌が増加し始めるが、あるレベルを超えると大部分の大腸菌群を被ストレス細菌の状態に留めずに、完全に死に至らしめることを示唆している。

以上の考察は、大腸菌群の被ストレス細菌試験法であるm-T7法で検出された細菌が真の大腸菌群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。塩素、二酸化塩素ともそれぞれ0.5ppm、1 ppm添加したときの結果を、図5～8に示した。各図とも、BGLB培地で増殖しガスを発生した場合は+、増殖のみ場合は±、増殖等が認められなかった場合を－で示している。

塩素、二酸化塩素との接触の前の段階（図中ではB）について検討してみると、m-Endo培地については、金属光沢のある暗赤色コロニー（以下M色と略す）と金属光沢のない暗赤色コロニー（同D色）は+（陽性）の割合が高く、赤色（同R色）コロニーは±や－（陰性）の占める割合が大きい。今回の確認試験の手順から、+のみが大腸菌群と判断され、－はもちろん±も大腸菌群でないと判断される。したがって、m-Endo培地においてはM色とD色のコロニーの合計を大腸菌群数とする考えは、M色、D色にも±や－が存在するが、R色に+が存在することである程度相殺されることと、安全側に考えることを優先すると妥当な結論であろう。

同様にm-T7については、黄色（同Y色）コロニーの大部分は陽性で被ストレス細菌を含む大腸菌群と考えてよい。周辺が紫の黄色コロニー（同YV色）については陽性・陰性がほぼ半々に分かれ判断が難しいが、安全側からみればカウントすべきであろう。紫色（同V色）コロニーは大部分が±か－の陰性なので計数から除外してよいだろう。

各図において、消毒前と消毒後（図中ではA）の分類結果を比較してみると、塩素については、添加濃度が異なっても、両培地とも全体的には消毒前と消毒後に大きな違いが無く、塩素はコロニーの判定基準に大きな影響を与えないと言えよう。二酸化塩素については、0.5ppm添加の場合は、両培地とも傾向に大きな違いは無いが、1 ppm添加におけるm-T7培地の場合、YV色、V色のコロニーにおいて、消毒前は陽性、陰性が半々であったものが、消毒後は陽性が検出されずすべて陰性となった。これは二酸化塩素の強力な殺菌力が影響している可能性がある。

本研究は、H7年度卒研究生であった笹森紀孝（現、[株]マダ）堀井敏（現、[株]建設工業[株]）、吉住 努（現、[株]I&I）、高橋 靖（現、[株]）、の各氏の協力を得た。記して謝意を表する。

【引用文献】1) 芦立他：土木学会第50回年講，II-B-521，1042-1043，1995 2) 芦立：第3回北大衛生工学シンポジウム論文集，2-3，101-106，1995

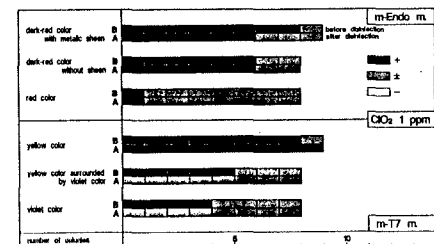
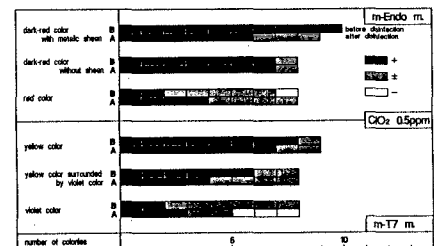
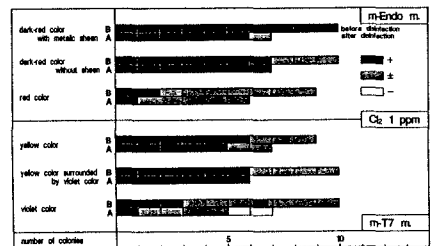
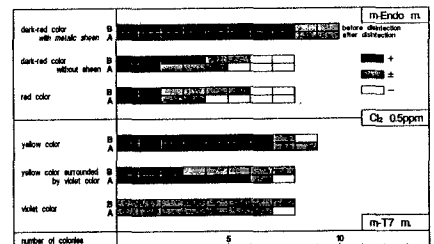


図5～8 消毒前後のコロニーの確認結果