

## 下水処理における消毒の評価手法としての大腸菌ファージ

○ 東京大学・学生会員・岡本真由子  
お茶の水女子大学・正会員・大瀧雅寛

### 1. はじめに

下水道からの放流水の基準値を決定し、管理体制を維持することは、病原微生物に感染する危険性を少なくし、生活環境を保全するために必要不可欠である。検査の対象となる微生物として病原微生物を直接測定することが最も理想的であるが、その場合の費用、時間、労力等を考慮すると非現実的であるので、その存在を示唆するような指標性となる代替微生物を用いて管理を行うことになる。指標としての代替微生物には 病原体が存在するところには必ず存在すること 病原体と同程度もしくはそれ以上の数が存在すること 糞便汚染を明確に示すこと 水処理及び消毒過程において、病原体と同程度もしくはそれ以上の耐性を持つこと 非病原性であり、簡便、迅速、廉価な方法であることが望ましい。という条件を満たしている必要がある。我が国では、下水放流基準における指標として大腸菌群を用いてきたが、糞便汚染だけでなく環境由来の病原微生物の存在や細菌だけでなくウイルスや原虫による水系感染症も顕在化し、大腸菌群のみで代替指標とする現在の方法で充分かどうかについての検討が行われている。<sup>1)</sup> 本研究では下水処理場から放流される大腸菌ファージの代替指標性の検討を行うことを目的とし、その存在量及びUV消毒耐性について調べた。

### 2. 実験方法

#### 2-1 各微生物指標の存在濃度測定

試料には、東京都23区内にある4つの下水処理場（A,B,C,D処理場）の消毒前二次処理水を用い、これらの採水試料中の各微生物指標の存在濃度を調べた。調査は平成13年9月から12月にかけて行った。細菌指標として大腸菌群を用い、存在濃度はデスオキシコーレイト塩培地を用いた二重寒天法<sup>2)</sup>により測定した。ウイルス指標として大腸菌ファージを用いた。この場合宿主菌として、*E.coli* K12 F<sup>+</sup>(A/λ)とWG5を使用した。前者はF特異性RNAファージ及び体細胞ファージの一部が検出され、以後*E.coli* K12ファージと呼ぶ。後者は体細胞ファージのみが検出され、以後WG5ファージと呼ぶ。試料は二層寒天法<sup>2)3)</sup>(1ml法、10ml法)により測定した。

#### 2-2 紫外線照射(UV)による消毒実験

市販の低圧UVランプ（20W 東芝製）を用いスターラーで攪拌しながら、一定量の試料に紫外線を照射した。また試料の紫外線吸光度及び濁度を測定した。それぞれ吸光度計（島津紫外可視分光高度計UV-160A 島津製作所製）、濁度計（携帯用2100P型濁度計 HACH社製）を用いて測定した。

#### 2-3 単離培養ファージの不活化実験

実験の結果から*E.coli* K12ファージはUV照射時間が長いほど不活化速度が遅くなる現象が見られた。その原因の1つとしてUV耐性が高いファージの存在があると考えられる。そこで紫外線を一定量以上照射した後でもブラックを形成した試料からそのシャーレ上のブラックを無菌的に採取し、大腸菌ファージ用液体培地に寒天ごと懸濁させよく攪拌し、大腸菌を用いて培養した後、0.45 μmのフィルターで大腸菌を除去して高濃度ファージ溶液を作った。濃度を測定し適宜希釈して、単独に紫外線照射実験を行った。<sup>4)</sup>

### 3. 実験結果及び考察

#### 3-1 各微生物指標の存在濃度の比較

調査期間中の大腸菌群と*E.coli* K12ファージの存在濃度の相関を図1に*E.coli* K12ファージとWG5ファージの存在濃度の相関を図2に示す。図1より相関係数が0.689であることから、大腸菌群と*E.coli* K12ファージは弱い相関であり、また近似曲線の左上にデータがいくつか見られることから、大腸菌群が少なくても*E.coli* K12ファージが多い場合があることを示唆している。また図2よりWG5ファージと*E.coli* K12ファージは非常に強い相関が見られた。このことから大腸菌群と大腸菌ファージは排出源もしくは下水中の挙動が異なるため弱い相関となったと考えられ、一方*E.coli* K12ファージとWG5ファージは異なるファージを検出しているが、強い相関が見られたということは異なるファージであってもその排出源及び下水中の挙動が同じであることが示唆される。

キーワード：代替指標、大腸菌ファージ、紫外線消毒耐性

連絡先：お茶の水女子大学 人間文化研究科

〒112-8610 東京都文京区大塚2-1-1 Tel)03-5978-5748 Fax)03-5978-2049

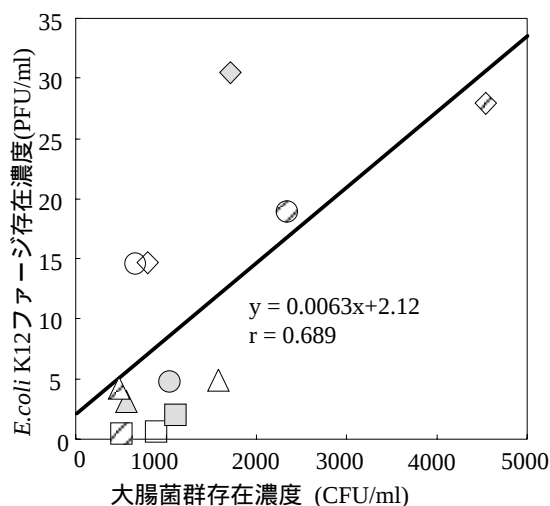


図1 下水二次処理水中の大腸菌群と  
*E. coli* K12ファージの存在濃度の相関  
○:A, △:B, □:C, ◇:D処理場

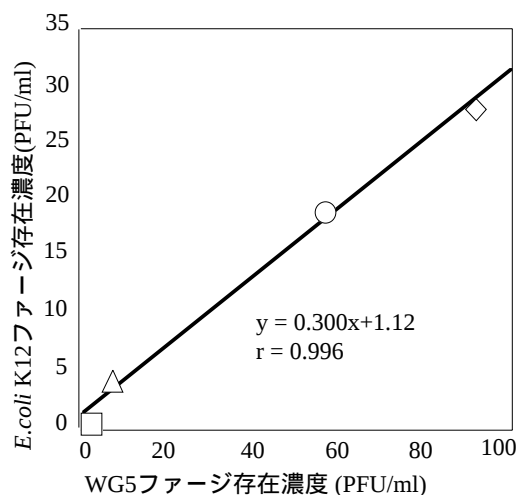


図2 下水二次処理水中のWG5ファージと  
*E. coli* K12ファージの存在濃度の相関  
○:A, △:B, □:C, ◇:D処理場

### 3 - 2 UV消毒実験における不活化速度の比較

各微生物指標の不活化速度係数の平均値を表1に示し、一例としてA処理場(12/11)のUV不活化の比較を図3に示す。大腸菌群とWG5ファージの不活化速度がほぼ同じで*E. coli* K12ファージの不活化速度は最も小さく、UV耐性が大きいことが分かった。これは調査期間中のどの処理場の試料についても同じ傾向であった。

表1 各微生物指標の不活化速度係数の平均値及び95%信頼区間

| 指標                     | 平均値( $\text{cm}^2/\text{mWs}$ ) |
|------------------------|---------------------------------|
| 大腸菌群                   | $0.47 \pm 0.18$                 |
| <i>E. coli</i> K12ファージ | $0.090 \pm 0.019$               |
| WG5ファージ                | $0.50 \pm 0.088$                |

### 3 - 3 ファージ単離培養

テーリングを起こしていたシャーレ上のブラック及びテーリングを起こしていなかったブラックからそれぞれ単離したファージはほぼ同じ不活化速度係数(平均値= $0.10 \pm 0.010$ )だった。またこれはテーリングを起こしていない*E. coli* K12ファージの不活化速度係数(=0.089)とも近い値だった。従ってUV耐性の高いファージの存在によるテーリングの発生は証明できなかった。実際UV耐性の高いファージは存在するのであるが、単離したファージがたまたまUV耐性の低いファージであったことも考えられるが、そうでないとすればファージ自身の凝集効果や共存する濁質に吸着したための遮光による影響が考えられる。

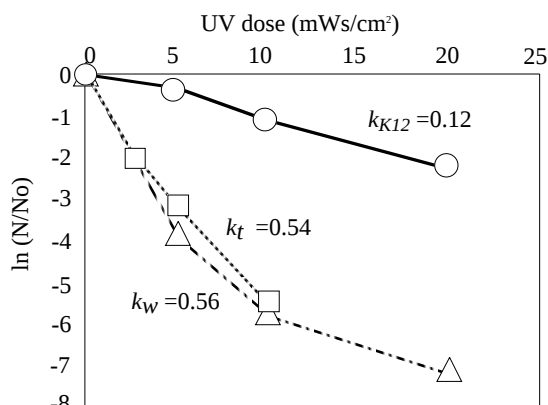


図3 A処理場(12/11)における各微生物指標の不活化  
○: *E. coli* K12ファージ, △: WG5ファージ  
□: 大腸菌群,  $k$ : 不活化速度係数

### 4. まとめ

大腸菌群はどの処理水においても、ある程度の存在量が確保され、これまで多くの場合病原細菌の検出と同時に検出されていることや、長年この代替指標によって管理・維持されて衛生状態が維持されているという点からも細菌指標として不可欠である。しかし今回の結果により大腸菌群の挙動とファージの挙動は高い相関がないため、ウイルス指標として充分かどうか疑問が残る。また*E. coli* K12ファージはUV耐性は高いものの初期濃度が少ないため存在量が安定せず、一方WG5ファージは初期濃度は多いがUV耐性は低いことが分かった。

#### 【参考文献】

- 1) 金子光美他「水質衛生学」技報堂出版, 1997
- 2) 「上水試験方法」日本水道協会, 1993
- 3) "WATER QUALITY-DETECTION AND ENUMERATION OF BACTERIOPHAGES" ISO/FDIS 10705-2 Amended version February 1999
- 4) 神子直之、大垣眞一郎「環境微生物工学研究法」技報堂出版, 土木学会衛生工学委員会編, 1993