

## 東京湾内湾における衛生指標細菌の発生源の推定 ～簡易培地を用いた環境水中大腸菌数測定の実行～

石井裕一・渡邊圭司\*・田中仁志\*・岡崎伸哉\*\*・木村久美子\*\*・川合裕子\*\*

木瀬晴美・橋本旬也・安藤晴夫・棚島智恵子

(\*埼玉県環境科学国際センター、\*\*さいたま市健康科学研究センター)

\*\*\*\*\*

【要約】食品衛生分野で利用されている特定酵素基質を含む簡易培地での大腸菌数測定について、環境水への適用の可否を検討した。簡易培地による大腸菌数測定結果は、複数の特定酵素基質寒天培地の測定結果と高い相関性が示され、環境水中の大腸菌数測定にも適用可能であると判断された。

\*\*\*\*\*

### 【目的】

「公共用水域の水質汚濁に係る環境基準」において「生活環境の保全に関する環境基準」の1つとして大腸菌群数が規定されている。大腸菌群数の試験は作業が煩雑なうえに、土壌や水中の常在菌等の自然由来の細菌にも陽性反応を示すなど、ふん便汚染の指標としての問題点が指摘されており、環境省では、よりの確かな評価指標として新たに大腸菌数の導入を検討している。大腸菌数の測定には特定酵素基質培地法が導入される見通しであり、培地は市販の試薬から寒天培地を作成する方法が想定される。特定酵素基質を導入した簡易な検査キット等も複数種が市販されているが、操作性が良い反面、高価な製品が多くなっている。

本報告では、主に食品衛生分野で利用されている比較的安価な簡易培地（出来上がり培地）を用いた環境水中の大腸菌数測定について試行した結果を報告する。

### 【方法】

簡易培地はペトリフィルム SEC プレート（3M ジャパン）を用いた。本製品は特定酵素基質、冷水可溶性ゲル化剤を含む乾燥培地で、検水 1mL を直接プレートに滴下し、24 時間培養の後にコロニー数を計測するものである（直接接種法）。一般的に環境水中の大腸菌数測定は、適量の検水をメンブランフィルター上にろ過濃縮し特定酵素基質を含む寒天培地に貼り付け培養・コロニー数計測を行う（メンブランフィルター法）。ここではまず、SEC プレートへのメンブランフィルター法の適用可否を検討した。次に市販の特定酵素基質寒天培地を用いた大腸菌数測定結果との比較を行い、SEC プレートによる環境水中大腸菌数測定の実用性を検証した。

### 【結果の概要】

図 1 に SEC プレートによる大腸菌数測定における直接接種法とメンブランフィルター法との相関を示す。図中の破線は 1 : 1 の直線を示している。両手法による測定結果は概ね 1 : 1 の直線上にプロットされ、SEC プレートへのメンブランフィルター法の適用が可能であることが確認された。

培養温度と大腸菌測定結果との関係を図 2 に示す。比較のため、特定酵素基質寒天培地である ECC 培地（CHROMagar）および XM-G 寒天培地（ニッスイ）による測定結果も図示した。培養温度の上昇に伴い、増殖可能な細菌類の選択性が高まり菌数が減少することが確認された。特定酵素基質寒天培地については製品ごとに性能が異なるため測定結果にばらつきがあることが知られている。SEC プレートの培養温度は  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  または  $44 \pm 1^\circ\text{C}$  と指定されており、指定温度帯では特定酵素基質寒天培地と同程度の測定結果となることが確認された。

図 3 に SEC プレートおよび 3 種類の特定酵素基質寒天培地（ECC、XM-G および TBX（メルク））を用いた環境水中の大腸菌数測定結果の相関図を示す。培養温度は SEC プレートが  $44 \pm 1^\circ\text{C}$ 、特定酵素基質寒天培地は各試薬メーカー指定の温度とした。いずれの培地も相関係数は大きく（0.90 以上）、有意な相関性（ $p < 0.01$ ）が示された。以上の結果から、SEC プレートは環境水中の大腸菌数測定にも適用可能であると判断された。

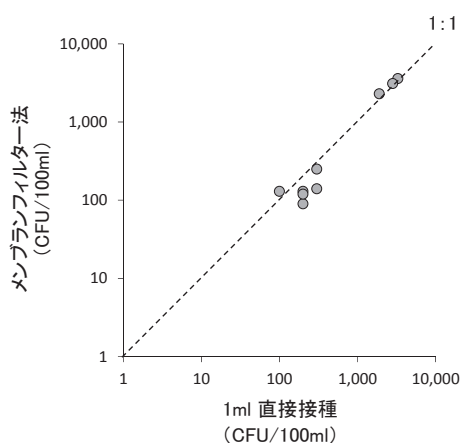


図1 SECプレートによる大腸菌数測定における直接接種法とメンブランフィルター法との関連  
両手法の測定結果は概ね1:1の関係(図中の破線)にあり、SECプレートへのメンブランフィルター法の適用  
が可能であることが確認された。

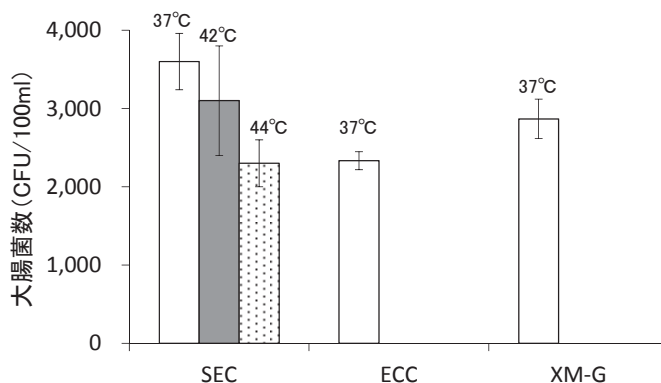


図2 培養温度がSECプレート測定結果に及ぼす影響(エラーバーは標準偏差 n=3)  
温度上昇に伴い選択性が高まり、菌数が減少することが確認された。42°CでXM-G寒天培地と同程度、44°Cで  
ECC培地と同程度の値となっていた。(ECC培地およびXM-G培地は37°Cで培養)

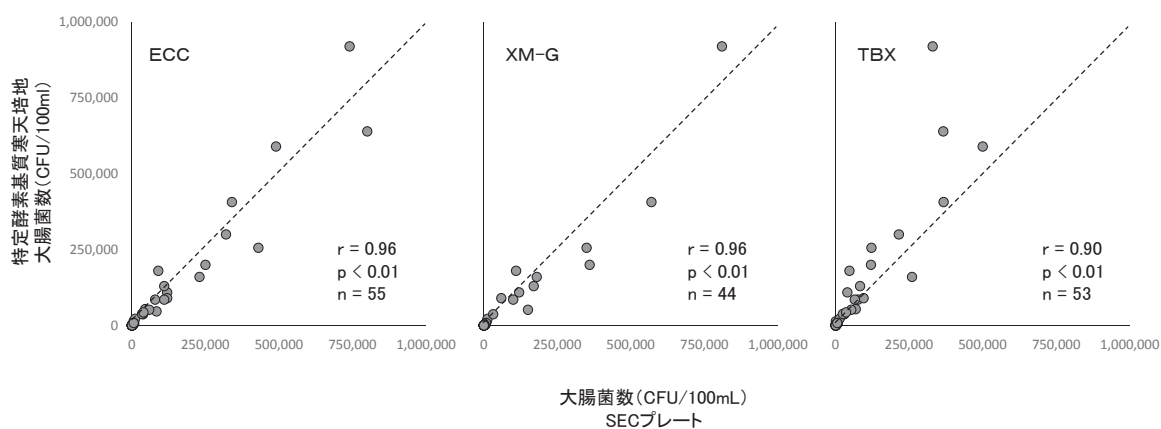


図3 SECプレート法と特定酵素基質寒天培地法との大腸菌数測定結果の比較(破線は1:1の直線)  
SECプレートおよび3種類特定酵素基質寒天培地による大腸菌数測定結果は、いずれも有意な相関性を示し  
たことから、SECプレートの環境水への適用は可能であると考えられた。