

〔報告〕

# 大腸菌数及び大腸菌群数に関する試験方法の検討

木瀬 晴美\* 和波 一夫 石井 裕一 石井真理奈\*\*

(\*非常勤研究員 \*\*東京都環境局環境政策部)

## 1 はじめに

水環境における糞便汚染の有無を確認するために行うスクリーニング試験は比較的簡単な方法で検査できるのが望ましい。このような要件に対応できる細菌試験法として現在、BGLB最確数法による大腸菌群数試験(以下、BGLB法と表記する。)があり、公共用水域の環境基準項目とされている。しかしながら、BGLB法では糞便に関係のない水中や土壌中由来の細菌類も検出され、糞便性指標細菌試験法としての問題点も指摘されている。一方、糞便中の大腸菌群の90%以上を占める大腸菌は、大腸菌群を構成する細菌の中では環境由来株が最も少ない種であり、近年、簡便な大腸菌の測定法が確立したこともあり、糞便汚染の指標細菌として測定されるようになった。2003年の水道法水質基準改正では、大腸菌群が水質基準項目から削除され、大腸菌が追加された。今回、大腸菌数と大腸菌群数を同時に測定できる特定酵素基質培地のうち一般的に使用されている2種(ONPG-MUG法とクロモアガーECC法)を用いて河川と海域の試料を測定した。また、糞便性大腸菌群数を測定し、各測定結果を比較検討したので報告する。なお、大腸菌群、糞便性大腸菌群、大腸菌の集合概念は図1のように考えられる。

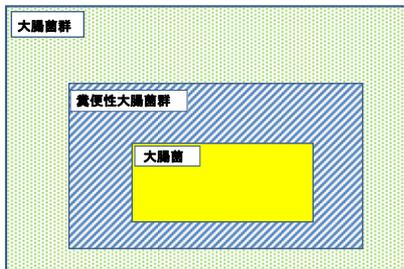


図1 大腸菌群等の集合概念

## 2 調査方法

### (1) 調査地点

河川については、江戸川の新葛飾橋、市川橋、江戸

川水門上の3地点で2009年5月から2010年3月にかけて採水した。海域については、お台場のSt.1:学校前、St.2:旧放流口前、St.3:渚中央部の3地点で2011年8月から2012年1月にかけて採水した。

### (2) 試験方法

大腸菌群、大腸菌はONPG-MUG法とクロモアガーECC法(以下、クロモアガー法と表記する。)で、糞便性大腸菌群はMFC寒天培地とメンブランフィルター法(以下、MFC法と表記する。)で測定した。

ONPG-MUG法は、大腸菌群を検出するための酵素基質として入っているONPG(o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド)を大腸菌群が特異的に保有する酵素(β-ガラクトシダーゼ)の分解活性により黄変するのを利用し、また大腸菌を検出する酵素基質として入っているMUG(4-メチルウムベリフェリル-β-D-グルクロニド)を大腸菌が特異的に持っている酵素(β-グルクロニターゼ)で分解させて生じる物質を紫外線照射による蛍光で確認する方法である。今回のONPG-MUG法では18時間で結果が出るIDEXX社製の測定キットを用いた。

クロモアガー法は、クロモアガー社製の特定酵素基質培地でIDEXX社製とは培地構成が異なり、大腸菌のコロニーは青色に発色し、大腸菌群は赤色に発色し明瞭に区別できる方法である。今回のクロモアガー法では疎水性格子付メンブランフィルター(HGMF)を用いて測定した。

MFC法は、水浴場基準の水質判定基準項目である糞便性大腸菌群数の測定で指定されている方法である。なお、MFC法とクロモアガー法は、24時間培養で判定する。

表1 試験方法と略称

測定菌種	測定方法	略称
大腸菌群、大腸菌	クロモアガーECC培地、HGMF使用	クロモアガー法
大腸菌群、大腸菌	特定酵素基質培地法(ONPG-MUG)、QIT-レイ使用	ONPG-MUG法
糞便性大腸菌群	MFC寒天培地、メンブランフィルター使用	MFC法

### 3 結果

#### (1) 大腸菌群数の相関関係

図 2-1、2-2 に江戸川 3 地点 45 検体とお台場 3 地点 42 検体の大腸菌群数についてクロモアガー法と ONPG-MUG 法との相関関係を示した。江戸川、お台場とも正の相関性を示したが、お台場においては江戸川に比べるとバラツキが大きく、特にクロモアガー法で比較的低い値のときにその傾向が強かった。

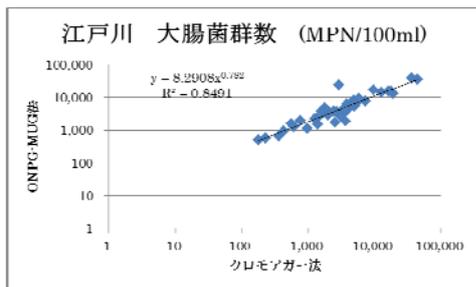


図 2-1 江戸川 大腸菌群数の相関関係

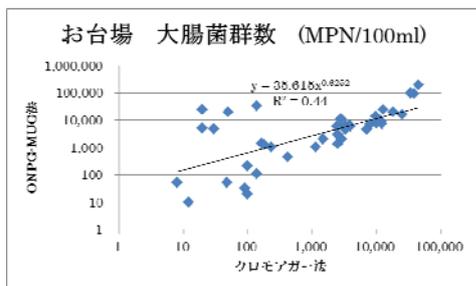


図 2-2 お台場 大腸菌群数の相関関係

#### (2) 大腸菌群数の経月変化

図 3-1、3-2 にクロモアガー法と ONPG-MUG 法による大腸菌群数の経月変化を示した。江戸川ではクロモアガー法と ONPG-MUG 法の大腸菌群数を比較すると ONPG-MUG 法の値が 10 倍以上高かったのは 45 検体中 1 検体のみで、両方法でほぼ同じような経月変化パターンを示した。それに比較するとお台場では ONPG-MUG 法が 10 倍以上高かったのは 42 検体中 8 検体あり、特に 8 月 15 日と 9 月 12 日の 6 試料では ONPG-MUG 法での大腸菌群数の値はクロモアガー法の 100 倍～1000 倍であった。このようにお台場の試料については ONPG-MUG 法とクロモアガー法の値が乖離することが認められた。なお、後述する糞便性大腸菌群数は 8 月 15 日と 9 月 12 日の 6 試料はクロモアガー法の大腸菌群数と同様に低い値であった。

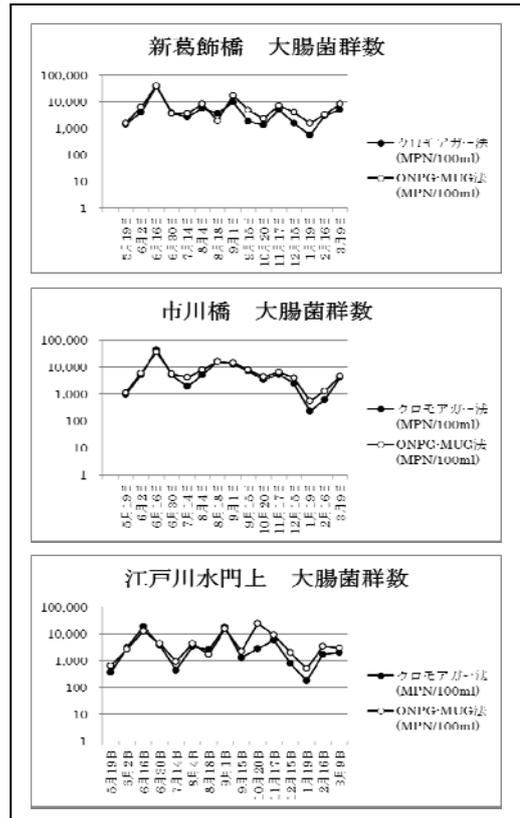


図3-1 江戸川 大腸菌群数の経月変化

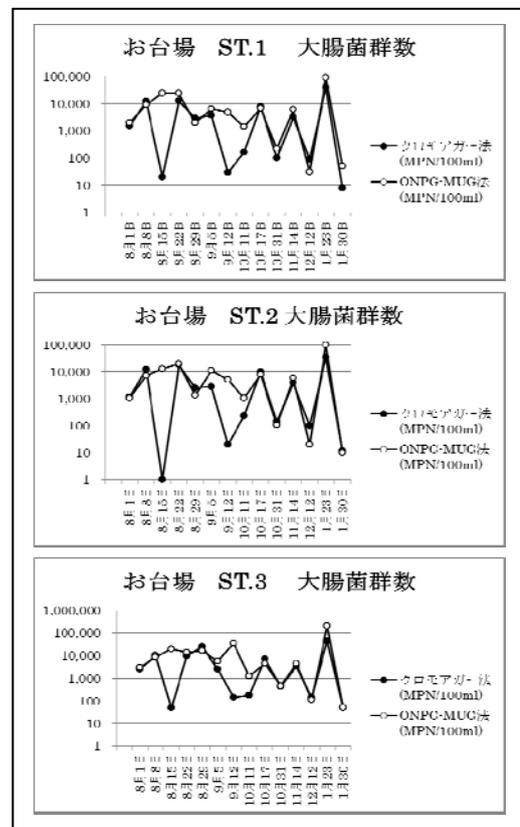


図3-2 お台場 大腸菌群数の経月変化

(3)大腸菌の相関関係

図4-1、4-2に江戸川とお台場の大腸菌についてクロモアガー法とONPG-MUG法との相関関係を示した。江戸川とお台場のそれぞれの相関係数は、ほぼ同じであった。

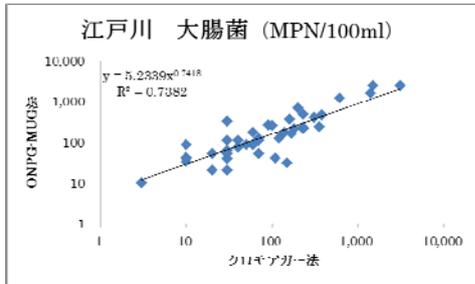


図4-1 江戸川 大腸菌数の相関関係

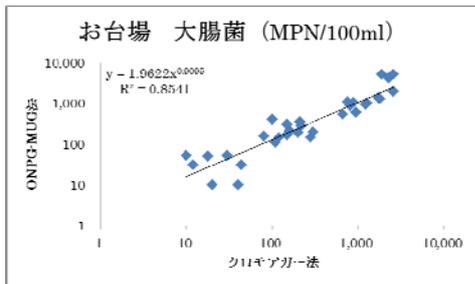


図4-2 お台場 大腸菌数の相関関係

(4)大腸菌数と糞便性大腸菌群数との比較

図5-1、5-2にクロモアガー法とONPG-MUG法による大腸菌数及びMFC法による糞便性大腸菌群数の経月変化を示した。

江戸川では1試料以外、糞便性大腸菌群が一番高い数値を示した。お台場のSt. 1、St. 2では8月15日と9月12日には大腸菌は、クロモアガー法では全く検出されないにもかかわらず、ONPG-MUG法では50~300MPN/100mlも検出された。また、その二日間はONPG-MUG法による大腸菌は糞便性大腸菌群よりも2倍~15倍も高い数値が検出された。

(5)大腸菌群数と大腸菌数

図6-1、6-2に江戸川におけるクロモアガー法ONPG-MUG法による大腸菌群数と大腸菌数の経月変化を示した。

大腸菌群数に占める大腸菌の割合は、大腸菌群数が1000MPN/100ml以上の場合には江戸川3地点で、クロモアガー法では平均3% (検体数N=37、各検体の値=0.4~16%)、ONPG-MUG法では平均4% (N=41、0.2~32%) とほぼ同じ割合であった。別報<sup>1)</sup>で示したように、お台場3地点で、

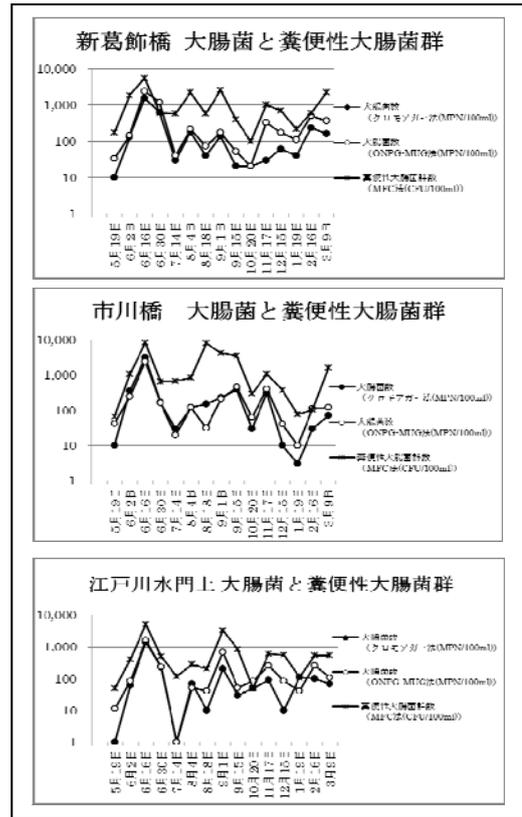


図5-1 江戸川 大腸菌と糞便性大腸菌群の経月変化

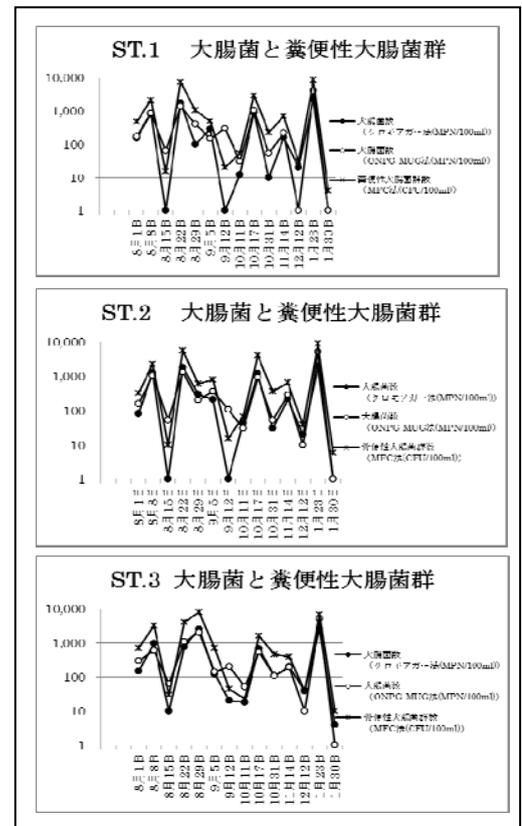


図5-2 お台場 大腸菌と糞便性大腸菌群の経月変化

クロモアガー法では平均 8% (N=24, 3.5~14%)、ONPG-MUG 法では平均 7% (N=33, 0.3~20%) であった。

#### 4 おわりに

クロモアガー法と BGLB 法、ONPG-MUG 法と BGLB 法による大腸菌群数の関係については、既報<sup>2)</sup>で報告した。ここではクロモアガー法と ONPG-MUG 法の両法を比較した。江戸川はクロモアガー法と ONPG-MUG 法の測定値は高い相関性があるが、お台場は試料によってバラツキがあった。一般的には糞便性大腸菌群のほうが大腸菌よりも多く検出されるはずであるが、前述したようにお台場の 8 月 15 日と 9 月 12 日の試料は逆転した。井山ら<sup>3)</sup>は、海水を常在場所とする *Vibrio* 属が大腸菌群と同様に ONPG を代謝し陽性反応を示すことがあることを報告している。2005 年度に行ったお台場の測定結果<sup>4)</sup>も同様な現象が認められており、ONPG-MUG 法による海水測定では、他の測定法を併用して測定結果を評価することが必要である。

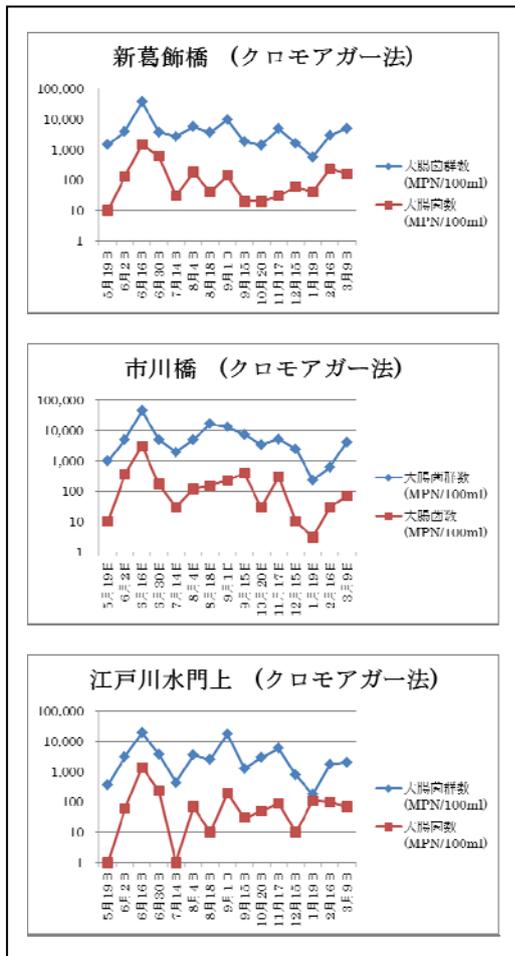


図 6-1 大腸菌群数と大腸菌の経月変化

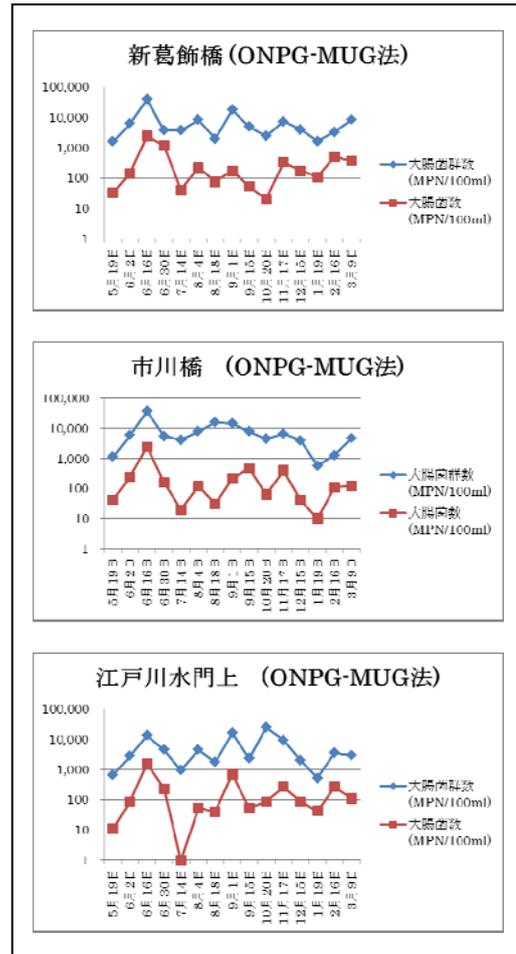


図6-2 大腸菌群数と大腸菌の経月変化

#### 参考文献

- 1) 和波一夫, 石井裕一, 木瀬晴美: お台場の糞便性大腸菌群数等の変化, 東京都環境科学研究所年報2012, pp.96-98
- 2) 石井真理奈, 和波一夫, 木瀬晴美: 都内河川の大腸菌群数に関する研究, 東京都環境科学研究所年報 2010, pp.31-37
- 3) 井山洋子, 磯部順子: コリラート・MWによる海域水の大腸菌群測定について, 富山衛研年報 第18号, pp.143-150 (1995)
- 4) 和波一夫, 竹内健, 保坂三継, 佐藤綾子, 亀井理恵: 親水性水域の大腸菌群数等に関する研究, 東京都環境科学研究所年報2006, pp.137-143