

環境水の大腸菌の生残性について

木瀬晴美・和波一夫*・橋本旬也・石井裕一・安藤晴夫

(*現・東京都環境局自然環境部)

【要 約】環境水の大腸菌の生残性を把握するため、特定酵素基質培地法を用いて試料の経日変化試験を行った。大腸菌の生残率は試料保管の温度によって異なり、2日後の生残率が最も高かったのは4℃保管試料で、初日菌数の33～90%であった。20℃保管試料の生残率は11～52%であった。大腸菌の標準菌株を生理食塩水で解凍希釈した試料について環境水と同様な試験を行った結果、4℃で保管した標準菌試料は生残率が高く、2日後では生残率47～80%であった。一方、20℃以上で保管した標準菌試料は生残率が低く、2日後では生残率10%以下であった。大腸菌の生残率に水温が大きく影響することが推測された。

【目 的】

「大腸菌群」の水環境における生残性は、病原細菌を含むサルモネラ属の細菌とほぼ等しいか、やや高い傾向を示すといわれ、糞便汚染の評価指標として利用されている。ただし、大腸菌群には土壌由来のものも多く、環境水の糞便汚染を過大評価する恐れもある。一方、「大腸菌」はヒト糞便中の大腸菌群の90%以上を占める点、土壌由来の大腸菌は少ないという点から、ヒト糞便による汚染の指標性が高い。そのため現在、環境省は環境基準項目である「大腸菌群」を「大腸菌」に変更することを検討している。ここでは水環境に流入した「大腸菌」の生残性を把握するため、環境水と大腸菌の標準菌株を用いて試験を行ったので報告する。

【方 法】

特定酵素基質培地のクロモアガーECC培地でMF法により環境水試料の大腸菌を測定した。同法では、ファンネル及びフィルターホルダーを用い、直径47mm孔径0.45μmの界線入り滅菌済みメンブレンフィルターで検水をろ過した後、同フィルターを寒天培地に密着させた。その後、37℃で24時間培養し、青色に発色したコロニーを大腸菌とした。また、大腸菌の標準菌株(シスメックスバイオメリュー社)を用いて測定を行った。試料を保管温度4℃、20℃などで保管して、大腸菌数の経過日数による変化を把握した。一部の試料については、IDEXX社製のコリラート18による大腸菌数の測定、mFC培地でMF法による糞便性大腸菌群数の測定を行った。

【結果の概要】

- (1) ここでは生残率を「生残率(%)：試料保管経過日ごとの菌数／初日の菌数」とした。図1から図3により、2日後の大腸菌の生存率は4℃保管試料では初日菌数の33～90%、20℃保管試料では11～52%であった。
- (2) 初日の大腸菌数が比較的多い場合(6800CFU/100ml)、2日後には、保管温度が20℃では初日菌数の11%となり、25℃と30℃では6%と大腸菌数が著しく減少した(図3)。よって水温の高い夏季には、大腸菌数が高い流入水があったとしても、2日後には、10%程度に減少すると推測された。
- (3) 糞便性大腸菌群の4℃保管試料では2日後には25%の生残率に、20～30℃保管試料では10%以下になり、大腸菌と同様な生残率の変化が認められた(図4)。
- (4) 25℃保管試料の大腸菌群、糞便性大腸菌群は大腸菌とほぼ同じ生残率の変化であった(図5)。
- (5) 海水試料の場合、コリラート18はクロモアガーECCに比べて高い値を示すことがあるので、海水の影響をうけない多摩川・多摩川原橋の河川水を試料としたところ、コリラート18とクロモアガーECCによる大腸菌の生残率の経日変化は、ほぼ同じであった(図6)。
- (6) 図7と図8に標準菌株の経日変化を示した。4℃保管した標準菌の5回試験では、2日後の生残率は47～80%であり、20℃・25℃・30℃保管の標準菌の生残率は10%以下であった。標準菌も環境水と同様に保管温度が高いと生残率が低下する傾向が認められ、大腸菌の生残率に水温が大きく影響することが推測された。

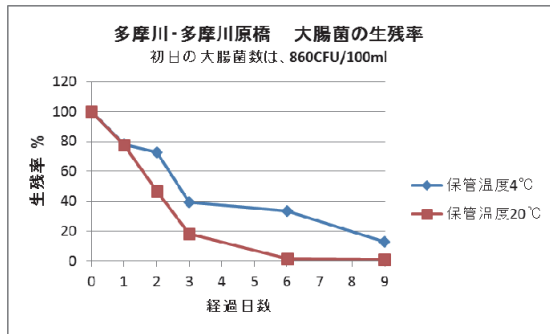


図1 多摩川の大腸菌の生残率

4°C保管より20°C保管の方が大腸菌は早く減少する

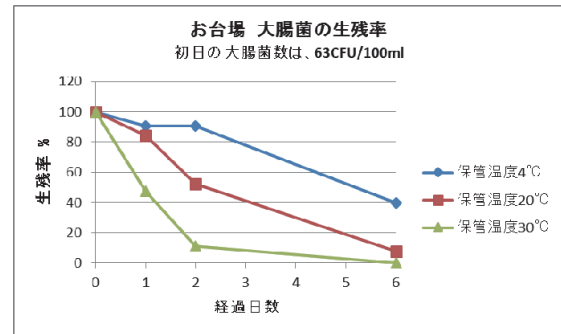


図2 海浜公園の大腸菌の生残率

保管温度が高いほど大腸菌は早く減少する

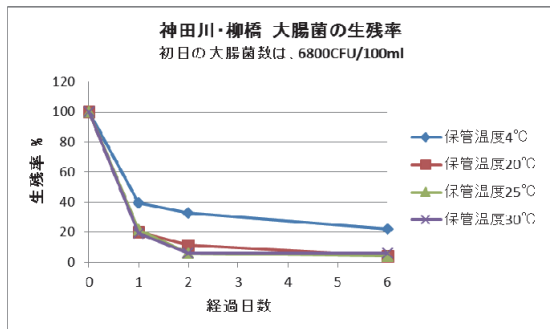


図3 神田川の大腸菌の生残率

4°C保管以外は2日後には著しく減少する

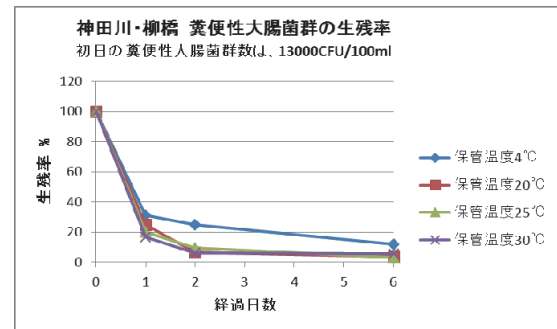


図4 糞便性大腸菌群の生残率

20~30°C保管では2日後10%以下になる

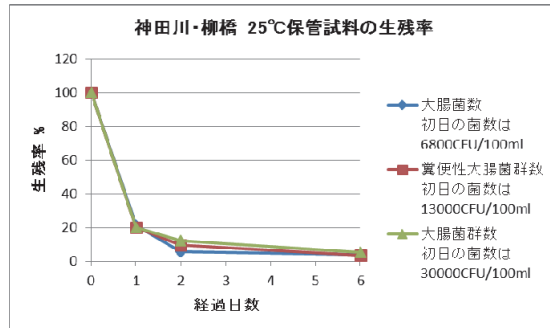


図5 25°C保管の大腸菌等の変化

25°C保管ではどの菌もほぼ同じ生残率

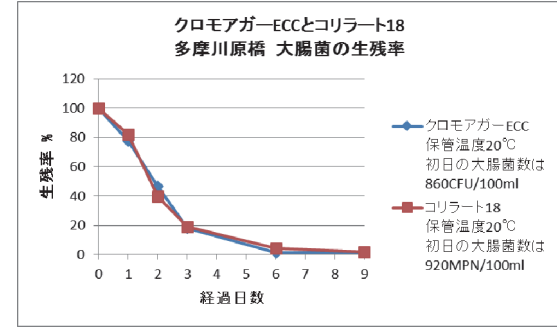


図6 2方法による大腸菌の生残率

2方法での生残率はほぼ同じ

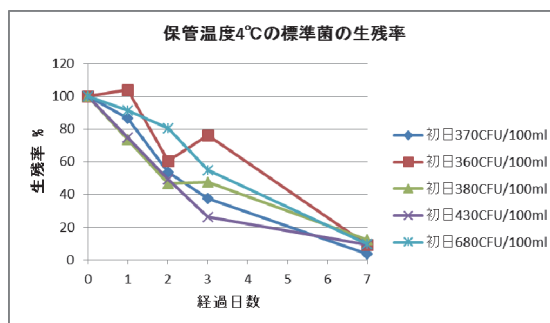


図7 4°C保管の標準菌の生残率

4°C保管では2日後の生残率は47~80%

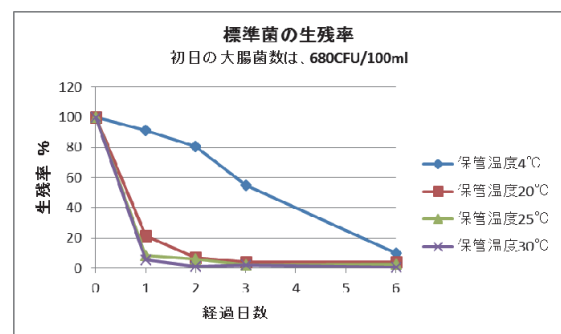


図8 各温度保管の標準菌の生残率

20~30°C保管では2日後の生残率は10%以下