

異なる消毒処理における大腸菌損傷

Injury of *Escherichia Coli*. Inactivated by Different Disinfections

王 雪丹 大瀧 雅寛

Xuedan WANG and Masahiro OTAKI

(お茶の水女子大学大学院 人間文化研究科ライフサイエンス専攻)

1. 初めに

アメリカや日本の浄水処理では塩素注入によって消毒が行われているが、近年トリハロメタンなどの副生成物が問題となり、紫外線やオゾン等の代替消毒方法が注目され始めている。なお、ヨーロッパではオゾンの殺菌剤としての使用には長い歴史がある。

浄水処理した水や食品産業において、水の安全性を獲得するために、水質検査を行い水質基準を満たすように管理されている。しかし、もし消毒後に水質検査を通り抜け、かつ生存、回復するような病原細菌が存在すると、健康危害を引き起こす危険がある。従って微生物の損傷程度と測定方法の関係を把握しておく必要がある。

2. 微生物の損傷

微生物の損傷には、“致命的損傷”や“亜致命的損傷”が考えられる¹⁾。“致命的損傷”とは損傷を受け後、損傷を回復できず、世代交代もできず死に至る損傷とする。“亜致命的損傷”は損傷後に回復し世代交代が可能な損傷である。このような損傷が多いと消毒や殺菌(不活化)をした時点では細菌が検出されないという結果になるが、細菌に致命的損傷を与えていると判断となくなる。そこで、現在多く使われている塩素消毒や今後注目される紫外線やオゾン消毒方法において細菌に与える損傷の程度と回復性を測定方法も含めて把握することが重要である。

損傷の程度は非選択培地と選択培地を用いて推定できるという仮定がある。たとえば、選択培地にデソキシコーレイト寒天培地を用いた場合には、コロニーを形成できない大腸菌は、増殖能力を失活したか、乳糖分解能力を失活したことを示すが、非選択培地の場合では、増殖能力を失活したことを示す。従って、その二つの培地の差は乳糖分解

能力を失活したが増殖は可能であるような亜致命的損傷を示すことになる。また、回復については非制限的な条件で消毒後に1~3時間培養することで選択培地と非選択培地で培養した結果、選択培地で測定できる細菌数が増加し、非選択培地で測定する細菌数と一致したという報告²⁾がされている。

3. 各消毒方法における細菌に与える損傷の原理と特徴

(1) 塩素消毒

塩素消毒は現在最も多く使われている消毒方法である。細菌を不活化する原理としては、膜の酸化、蛋白質合成機能の破壊、染色体損傷など様々である。図1は窪(2006)から引用した塩素処理による大腸菌の不活化状況である。ここでCTは時間に対する塩素濃度変化の積算値

$$CT = \int_0^T C dt$$

C: 塩素濃度 (mg/l), T: 接触時間 (min)

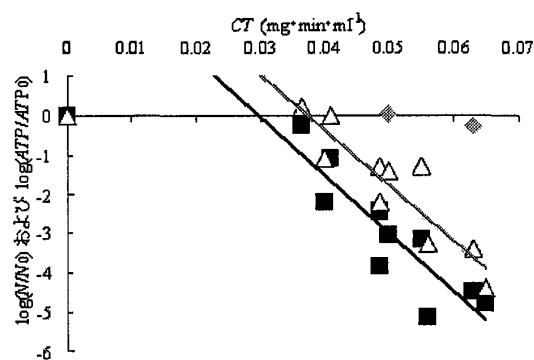


図1 塩素処理による大腸菌の不活化⁴⁾

△非選択培地 ■選択培地

同じCT値であっても、選択培地と非選択培地によって測定される生存率に差がある。この2つの培地によって測定される生存率の差は増殖できるが乳糖分解能力を失活した大腸菌の存在を示すものと考えられる。

(2) 紫外線消毒

紫外線のような電磁波は、波長の短い方がエネルギーが高くDNAなどの体の組織を破壊する。200～300 nmの波長光は生物の細胞内のDNAやRNAの構成塩基であるアデニン、チミン、シトシン、グアニン、ウラニンの炭素二重結合に吸収される。このエネルギーによって塩基が励起されると「架橋反応」が進み、T-T、U-Uといったピリミジンの不可逆的な同塩基対が形成し、その結果、遺伝子複製を阻止することにより増殖能力を失わせることになる。また、DNAは260 nm付近に吸収極大を持っているため、この付近の光は特にDNA損傷を引き起こし、非常に有害となる。

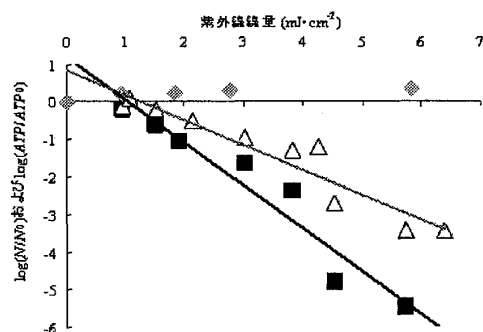


図2 低圧UVランプによる大腸菌の不活化⁴⁾

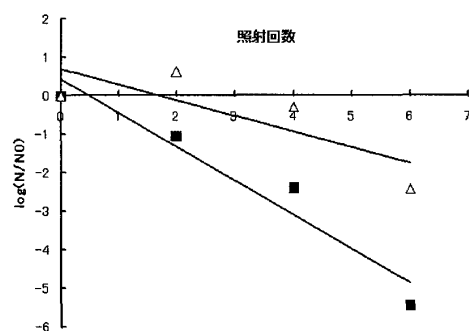


図3 パルスランプによる大腸菌の不活化

△非選択培地 ■選択培地

図2は主に254 nmの波長をもつ低圧UVランプによる大腸菌の不活化率を示したものであり⁴⁾。図3は200～800 nmの広波長を持つパルスランプによる大腸菌の不活化率を示したものである。両方とも選択培地と非選択培地によって測定される生存率に差がある。この差は塩素消毒の場合と同様に、増殖できるが乳糖分解能力を失活した大腸菌の存在を示すものと考えられる。

(3) オゾン消毒

オゾンによる殺菌は「溶菌」と呼ばれ強力な酸化作用により細菌の細胞膜(リン脂質と蛋白質)が破壊または分解され、細胞内の成分が外に漏出して死滅するとされる。下の写真のように細菌の細胞壁が破壊される。

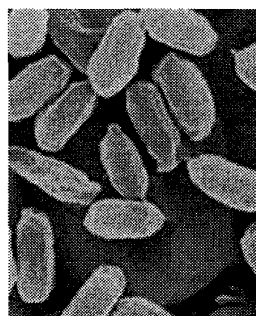


図4 オゾン処理前

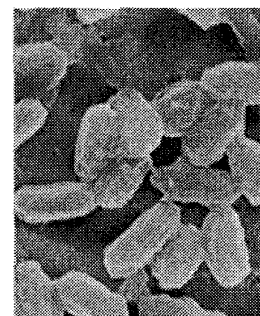


図5 オゾン処理後

またはオゾン分解機構からシトシン、ウラシル及びチミンのピリミジン核では5、6位の二重結合がアデニン及びグアニンのプリン核では4、5位の二重結合がオゾンによって攻撃を受け、環が開裂すると言う報告がある。

しかし、オゾン消毒による損傷は可逆的であるという報告もあるので、今後の実験で損傷を受けた大腸菌の増殖について調べていきたいと考えている。

4. まとめ

現在良く使われている消毒方法による損傷細菌について述べた。回復可能な損傷細菌は消毒後の水質検査を通り抜いた後に、健康危害を引き起こす危険がある。今後は各種損傷の回復を調べ、損傷細菌の生成、損傷の類別、回復の条件について調べていく。消毒後の損傷細菌の生成がもっとよく把握できれば、公衆衛生上の危険性をより詳細に確定することができよう。

5. 参考文献

- 1) Rita R.Colwell,D.Jay Grimes,培養できない微生物,学会出版センター
- 2) Mossel,D.A. and P.van Netten.1984.Harmfuleffects of selective media on stressed microorganisms:nature and remedies,p.329-371.In M.H.E.Andrew and A.D.Russel(ed),*The Revial of injured microbes*.AcademicPress,London,United Kingdom
- 3) 市橋正光,佐々木政子,“生物の光傷害とその防御機構”,公立出版(2000)
- 4) 窪華奈子 平成17年度 修士論文