

第 315 回雑誌会

(June. 21st, 2019)

(1) Hydroxyapatite powder cake filtration reduces false positives associated with halophilic bacteria when evaluating *Escherichia coli* in seawater using Colilert-18

Tsuchioka, H., Izumiyama, S., Endo, T., Wada, T., Harada, H. and Hashimoto, A.

Journal of Microbiological Methods, **159**, 69-74, (2019).

Reviewed by M. Katafuchi

大腸菌は、水の微生物学的品質を評価するために使用される重要なふん便指標細菌である。Colilert-18 法は、飲料水、入浴用水、および排水中の大腸菌を迅速かつ簡単に検出できるため、広く使用されている定量法である。しかしながら、Colilert-18 法は海水に対して偽陽性を示すため、信用度が低くなる。試料を希釈することで偽陽性を回避できるが、大腸菌の定量が困難になる。そこで本研究では、前処理としてヒドロキシアパタイト (HAP) 粉末を使用したケーキ濾過を行うことによって、水試料を希釈することなく偽陽性を避ける方法を検討した。試料は、河川水試料として広島県の 8 つの河川、および海水試料として広島湾の 9 地点から採取した。採取した河川水試料と海水試料について、前処理としてケーキ濾過を行う場合と行わない場合について、Colilert-18 法で計数した大腸菌濃度を比較した。また、未希釈海水試料とケーキ濾過を行った海水試料のトレイから、それぞれ 1 枚につき 5 つのウェル (全 45 個) を無作為に選択し、DNA 抽出後、PCR 法を用いて試料中の 16S rRNA 遺伝子から大腸菌を同定した。

河川水試料に対して Colilert-18 法で大腸菌を計数した結果、前処理としてケーキ濾過を行った河川水試料の大腸菌濃度は、ケーキ濾過を行わない場合の濃度とほぼ同様の結果を示した。これに対して、海水試料について、ケーキ濾過を行わずに未希釈海水試料の大腸菌を計数した場合には、9 つの試料全てが大腸菌陽性となり、大腸菌濃度は 86.2~387.3 MPN/100 ml の範囲であった。そこで、海水試料を 1/10 に希釈したところ、9 つの試料のうち 2 つのみから大腸菌が検出され、濃度は 10~52 MPN/100 ml の範囲となった。ところが、ケーキ濾過を行い、海水試料を判定した場合、大腸菌が 9 つの試料のうち 8 つから検出され、濃度は 0.1~17.89 MPN/100 ml の範囲であった。次に、DNA 抽出物について、PCR 法で大腸菌の 16S rRNA 遺伝子を解析した結果、ケーキ濾過を行わなかった 9 つの未希釈試料では、ウェル 45 個において、陽性を示した 39 個のウェルのうち、3 つのみが大腸菌として同定された。これに対して、ケーキ濾過を行った海水試料では、ウェル 45 個において、39 個の陽性を示すウェル全てが大腸菌として同定された。以上の結果から、前処理としてケーキ濾過を行うことによって、水試料を希釈せずに Colilert-18 法の偽陽性を避けられることがわかった。