対象とする微生物とその検査法

大阪大学大学院医学系研究科
変革的感染制御システム開発学寄附講座/感染制御学講座
大阪大学感染症総合教育研究拠点(CiDER)
大阪大学医学部附属病院感染制御部
山本　剛

1926年　大腸菌群を協定上水試験法の附則として採用

1932年　大腸菌の判定基準（常水判定基準及試験方法）が設けられた

1950年　水道協会協定の上水判定標準と日本薬局方による常水判定標準が厚生省の飲料水検査指針に統一
・「一般細菌数は１ml中100を超えてはならない」ことが定められた。

1966年　水質基準に関する省令（厚生省令第11号）で「大腸菌群は検出してはならない」ことを規定

1978年
「第4条に基づく水質基準に関する省令」（厚生省令第56号）それまでの普通寒天培地から標準寒天培地に変更された。
・培地の組成が統一
・糞便性細菌の検出に適した培地から従属栄養細菌の検出に向けた修正

第６回厚生科学審議会生活環境水道部会水質管理専門委員会資料

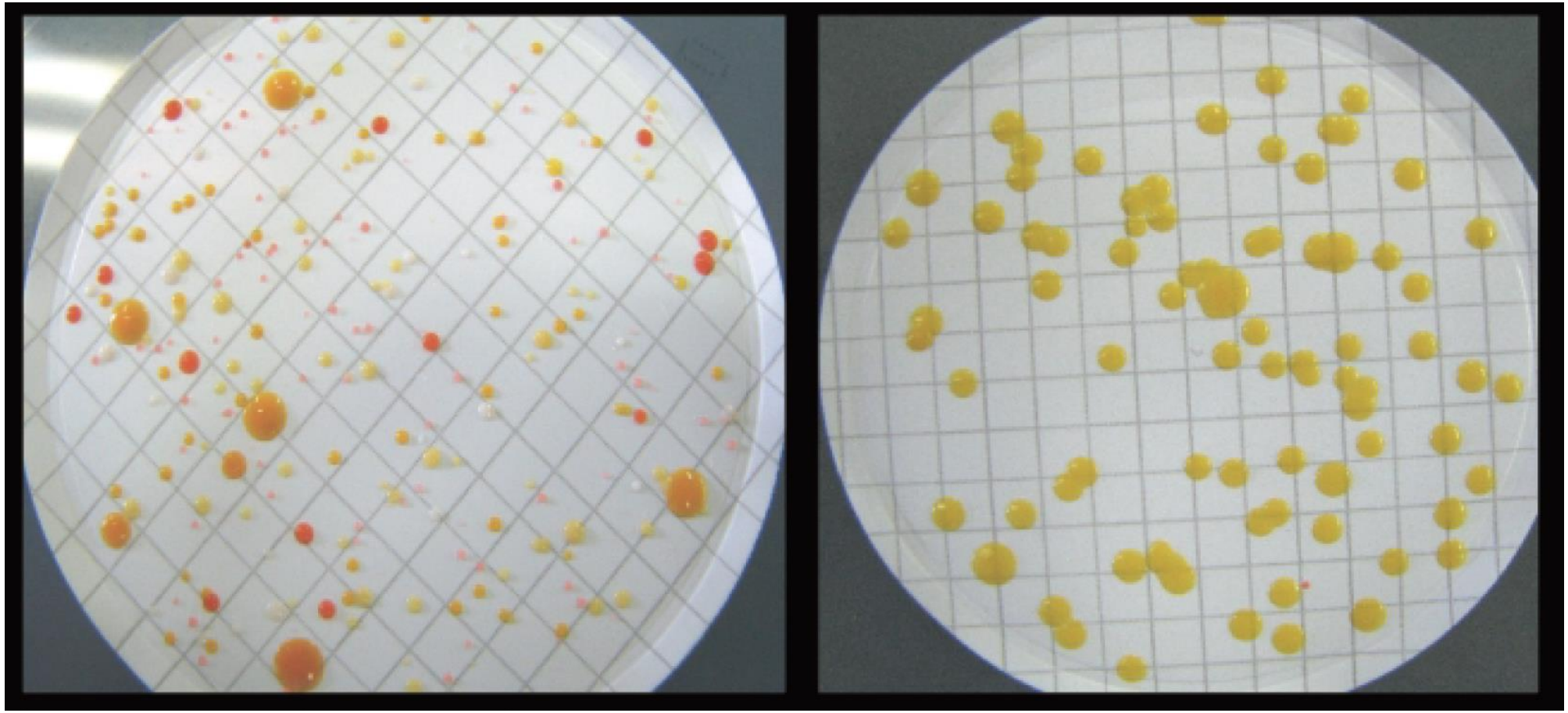
病院内の給水・給湯水における微生物汚染調査

R2A培地 （水道法、従属栄養細菌）	標準寒天培地 （水道法、一般細菌）	NAC寒天培地 （NHS *Pseudomonas*属菌培地）	GVPCα寒天培地 （レジオネラ症防止指針推奨培地）
Methylobacterium spp.	*Methylobacterium* spp.	*Methylobacterium* sp.	*Legionella pneumophilia*
Sphingomonas paucinmobilis	*Sphingomonas paucinmobilis*		
Alcaligenes xylosoxidans	*Alcaligenes xylosoxidans*	*Alcaligenes xylosoxidans*	
Enpedobacter brevis	*Enpedobacter brevis*	*Agrobacterium radiobacter*	
Chryseobacterium meningosepticum	*Chryseobacterium meningosepticum*	*Burknolderia cepacia*	
Acinetobacter lwoffii	*Enterobacter cloacae*	*Pseudomonas aeruginosa*	
Alcaligenes spp.	Gram Negative Rod	*Pseudomonas fluorescens*	
Gram Negative Rod		*Pseudomonas stutzeri*	
		Pseudomonas spp.	
Bacillus spp.	*Bacillus* spp.,*Bacillus cereus*		
Staphylococcus epidermidis	*Staphylococcus epidermidis*		
糸状菌	糸状菌		
Mycobacterium mucogenicum			

環境感染 Vol.24 No.5 pp.303-311, 2009

水の検査に使う寒天培地

日本環境感染学会誌　2009 年 24 巻 5 号 p. 303-311



R2A寒天培地　　標準寒天培地

水の検査に使う寒天培地

培地の種類	R2A寒天培地	標準寒天培地	SCD寒天培地
カゼイン製ペプトン		5g	15g
カゼイン製・肉製ペプトン	0.5g		
大豆製ペプトン			5g
酵母エキス	0.5g	2.5g	
カザミノ酸	0.5g		
NaCl			5g
ピルビン酸Na	0.3g		
$MgSO4 \cdot 2H_2O$	0.05g		
$KH2PO_4$	0.3g		
溶性デンプン	0.5g		
ブドウ糖	0.5g	1g	
寒天	15g	15g	15g
寒天以外の分量	3.2g	8.5g	25g
栄養分	少	中	多
生育数	多	中	少

水道における一般細菌の位置付け

水処理工程における細菌学的な水質改善効果の判定等

・現存量（浄水の保有する生物（細菌）量）の指標
・塩素消毒の効果判定
・糞便汚染の指標

ろ過等の処理で除去できなかった残存細菌に、配管系を含む上水システム全体での微生物の再増殖した菌量も含まれる。

第６回厚生科学審議会生活環境水道部会水質管理専門委員会資料

従属栄養細菌

従属栄養細菌とは生育に有機物を必要とする多様な細菌のことで、浄水処理過程や消毒過程での細菌の挙動を評価するのに適している。
また、配水系における塩素の消失や滞留に伴い増加することから、配水系の微生物学的状態を把握するには有用である。

・糞便や下水等に見られる従属栄養細菌は比較的高栄養（現行の標準寒天培地）の培地に成育し、36℃付近で比較的速やかに生育する。
・環境由来の従属栄養細菌は生育し難く、増殖速度も遅い。

第６回厚生科学審議会生活環境水道部会水質管理専門委員会資料

大腸菌群

糞便汚染の代替指標菌
水系感染の原因菌は人を含む温血動物の糞便を由来とするため、大腸菌群を検知することで病原体混入の危険性を探知する
温血動物の腸管内に常在する菌の内で最も数の多い

*Escherichia*属、*Citrobacter*属、*Enterobacter*属、および*Klebsiella*属を含む腸内細菌目細菌

細菌類の構成比率は常に流動的である。したがって、大腸菌群には糞便汚染の指標性は低いという認識が今日の国際的な理解

第６回厚生科学審議会生活環境水道部会水質管理専門委員会資料

病院内の給水・給湯水における微生物汚染調査

R2A培地 （水道法、従属栄養細菌）	標準寒天培地 （水道法、一般細菌）	NAC寒天培地 （NHS *Pseudomonas*属菌培地）	GVPCα寒天培地 （レジオネラ症防止指針推奨培地）
Methylobacterium spp.	*Methylobacterium* spp.	*Methylobacterium* sp.	*Legionella pneumophilia*
Sphingomonas paucinmobilis	*Sphingomonas paucinmobilis*		
Alcaligenes xylosoxidans	*Alcaligenes xylosoxidans*	*Alcaligenes xylosoxidans*	
Enpedobacter brevis	*Enpedobacter brevis*	*Agrobacterium radiobacter*	
Chryseobacterium meningosepticum	*Chryseobacterium meningosepticum*	*Burknolderia cepacia*	
Acinetobacter lwoffii	*Enterobacter cloacae*	*Pseudomonas aeruginosa*	
Alcaligenes spp.	Gram Negative Rod	*Pseudomonas fluorescens*	
Gram Negative Rod		*Pseudomonas stutzeri*	
		Pseudomonas spp.	
Bacillus spp.	*Bacillus* spp.,*Bacillus cereus*		
Staphylococcus epidermidis	*Staphylococcus epidermidis*		
糸状菌	糸状菌		
Mycobacterium mucogenicum			

環境感染 Vol.24 No.5 pp.303-311, 2009

製薬用水（常水）

日本薬局方の医薬品各条で規定されており、第４条に基づく水質基準に適合した水のこと。工業用水や井戸水は各施設で適切な管理を実施する。一時保管する場合は微生物の増殖を抑えるように管理すること。

原薬中間体

製薬用水（精製水）

「精製水」は、原水として「常水」を用い、必要な前処理を経て、イオン交換，蒸留，逆浸透（RO）、又は分子量約 6000 以上の物質を除去できる限外ろ過（UF）などを単独であるいは組み合わせて用いたシステムにより製造する。イオン交換，RO又は限外ろ過により製造するときは、微生物の増殖抑制を図るか又は定期的な殺菌処理を行う。

なお、「滅菌精製水（容器入り）」は、「精製水」を密封容器に入れて滅菌したもの、又はあらかじめ滅菌した「精製水」を無菌的な手法により無菌の容器に入れた後、密封したものである.

点眼剤，眼軟膏剤、液剤，カプセル剤，顆粒剤，懸濁剤・シロップ剤など

製薬用水（注射用水）

「注射用水」は，「常水」にイオン交換，逆浸透等による適切な前処理を行った水又は「精製水」の，蒸留又は超ろ過（RO/UF）により製造する。

・蒸留法からの製造：飛沫同伴による汚染が起こらないように留意する。

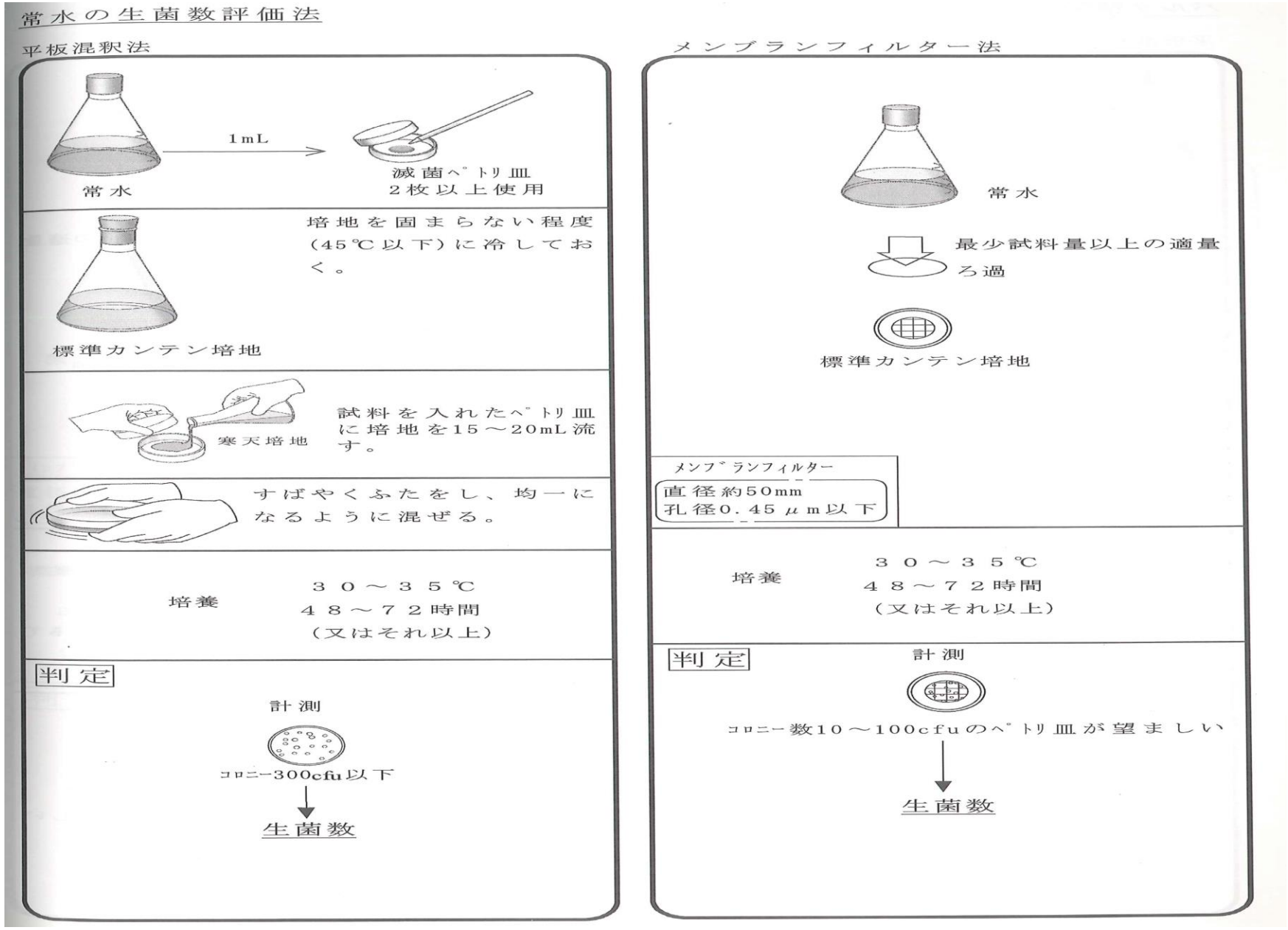
・超ろ過法により製造：蒸留法により製造した水と同等の品質の水が恒常的に製造されることが保証される必要がある。

・逆浸透膜又は限外ろ過膜を単独であるいは組み合わせて用いた注射用水製造：前処理装置を含む製造システム全体によって保証されること。

注射剤、点眼剤、眼軟膏剤など

製薬用水の生菌数評価法

製薬用水	常水	精製水	注射用水
計測方法	平板混釈法 またはメンブランフィルター法	平板混釈法 またはメンブランフィルター法	メンブランフィルター法
最小試料量	1mL	1mL	1mL
検査用培地	R2A寒天培地 標準寒天培地	R2A寒天培地	R2A寒天培地
培養温度	R2A寒天培地 20～25℃、 または30～35℃ 標準寒天培地　30～35℃	20～25℃、 または30～35℃	20～25℃、 または30～35℃
培養期間	R2A寒天培地 4～7日、 またはそれ以上 標準寒天培地 48～72時間	4～7日、 またはそれ以上	4～7日、 またはそれ以上
評価法	100/mL （標準寒天培地）	100/mL （R2A寒天培地）	10/mL （R2A寒天培地）


常水の生菌数評価法
平板混釈法
1mL
常水
滅菌ペトリ皿
2枚以上使用
培地を固まらない程度
(45℃以下)に冷しておく。
標準カンテン培地
試料を入れたペトリ皿
に培地を15～20mL流
す。
寒天培地
すばやくふたをし、均一に
なるように混ぜる。
培養
30～35℃
48～72時間
(又はそれ以上)
判定
計測
コロニー300cfu以下
生菌数
メンブランフィルター法
常水
最少試料量以上の適量
ろ過
標準カンテン培地
メンブランフィルター
直径約50mm
孔径0.45μm以下
培養
30～35℃
48～72時間
(又はそれ以上)
判定
計測
コロニー数10～100cfuのペトリ皿が望ましい
生菌数

作り直し

培地の性能試験

R2A寒天培地

Methylobacterium extorquens : NBRC 15911
Pseudomonas fluorescens : NBRC 15842，ATCC 17386など

「精製水」中で飢餓状態にした菌液を更に「滅菌精製水」で希釈し，生菌数50 ～ 200 CFU/mLの菌液を調製する．使用するR2Aカンテン培地に1 mLを接種し，20 ～ 25℃で4 ～ 7 日間培養するとき，十分な接種菌数の回収が認められなければならない.

培地の性能試験

標準寒天培地

黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）：ATCC 6538，NCIMB 9518，CIP 4.83 又は NBRC 13276
緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）：ATCC 9027，NCIMB 8626，CIP 82.118 又は NBRC 13275
大腸菌（*Escherichia coli*）：ATCC 8739，NCIMB 8545，CIP 53.126 又はNBRC 3972

調製した菌液を使用する標準カンテン培地に 1 mL を接種し，30 ～ 35℃で 48 時間培養するとき，十分な接種菌数の回収が認められなければならない.

表 2　生菌数測定

初流水

採取場所			R2A 培地				標準寒天培地				NAC 寒天培地				GVPCα 寒天培地			
			1 st	2 nd	3 rd	4 th	1 st	2 nd	3 rd	4 th	1 st	2 nd	3 rd	4 th	1 st	2 nd	3 rd	4 th
病棟	場　所	水　質	CFU/mL				CFU/mL				CFU/mL				CFU/dL			
A	病室 1	給水	120	290	90	970	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	病室 2	給水	70	690	300	700	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	無菌室	冷水	3110	3950	170	680	153	3880	—	7.2	0.19	0.77	—	0.05	—	—	—	—
		給湯水	1010	2200	2.7	800	50	360	—	320	—	—	—	—	—	—	—	—
	浴室	シャワー 1	3.7	11.6	21.3	1740	—	130	0.1	100	0.01	—	—	0.32	—	—	—	—
		シャワー 2	3000	8090	3690	4190	130	70	380	390	—	—	0.02	—	—	—	—	—
B	手洗い 1	給湯水	980	1020	1080	600	1.7	120	90	110	0.01	—	—	—	—	—	—	—
	沐浴	給湯水	350	880	150	1260	10	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	手洗い 2	給湯水	570	560	170	10.9	0.2	4.4	26	7.1	—	—	—	—	—	—	—	—
	手洗い 3	給湯水	1110	1530	1310	1820	100	370	120	450	—	—	—	0.18	—	—	—	—
	作業用	給水	120	20	90	40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		給湯水	0.8	90	40	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C	手洗い	給水	2470	1240	2220	5230	140	78.6	8.1	660	1.2	0.27	—	0.01	70	140	200	70
	作業用 1	給水	0.3	43.8	15.6	860	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		給湯水	18.8	970	3340	690	0.4	60	10	290	—	—	—	—	—	—	—	—
	作業用 2	給水	18.8	1700	2990	2480	—	180	520	1290	—	—	—	0.09	—	—	—	—
		給湯水	1160	700	610	1170	140	95	320	570	0.25	—	—	—	—	—	—	—
	浴室	シャワー 1	250	3080	550	1760	5.6	290	—	630	—	—	—	—	—	—	—	—
		シャワー 2	1550	170	9.5	640	540	—	—	—	18.7	—	—	—	—	—	—	—

1 L フラッシング後

A: 20℃（±１℃）

B: 30℃（±１℃）

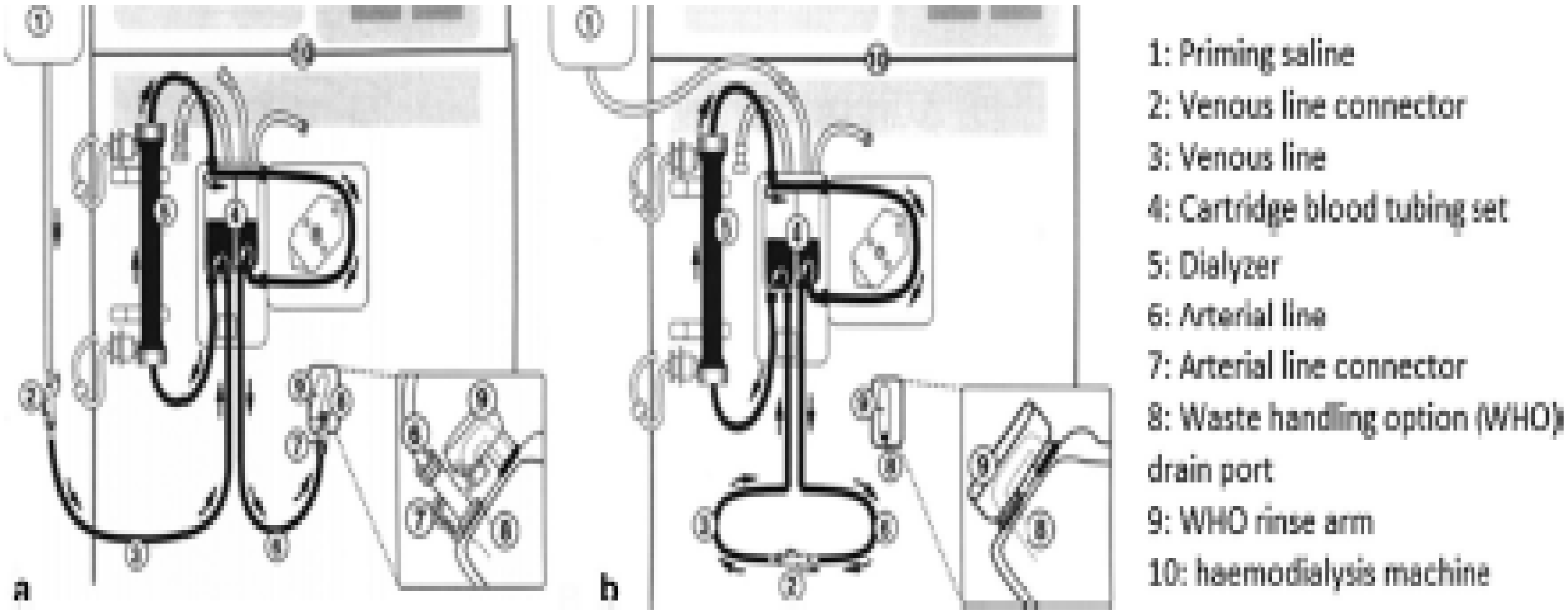
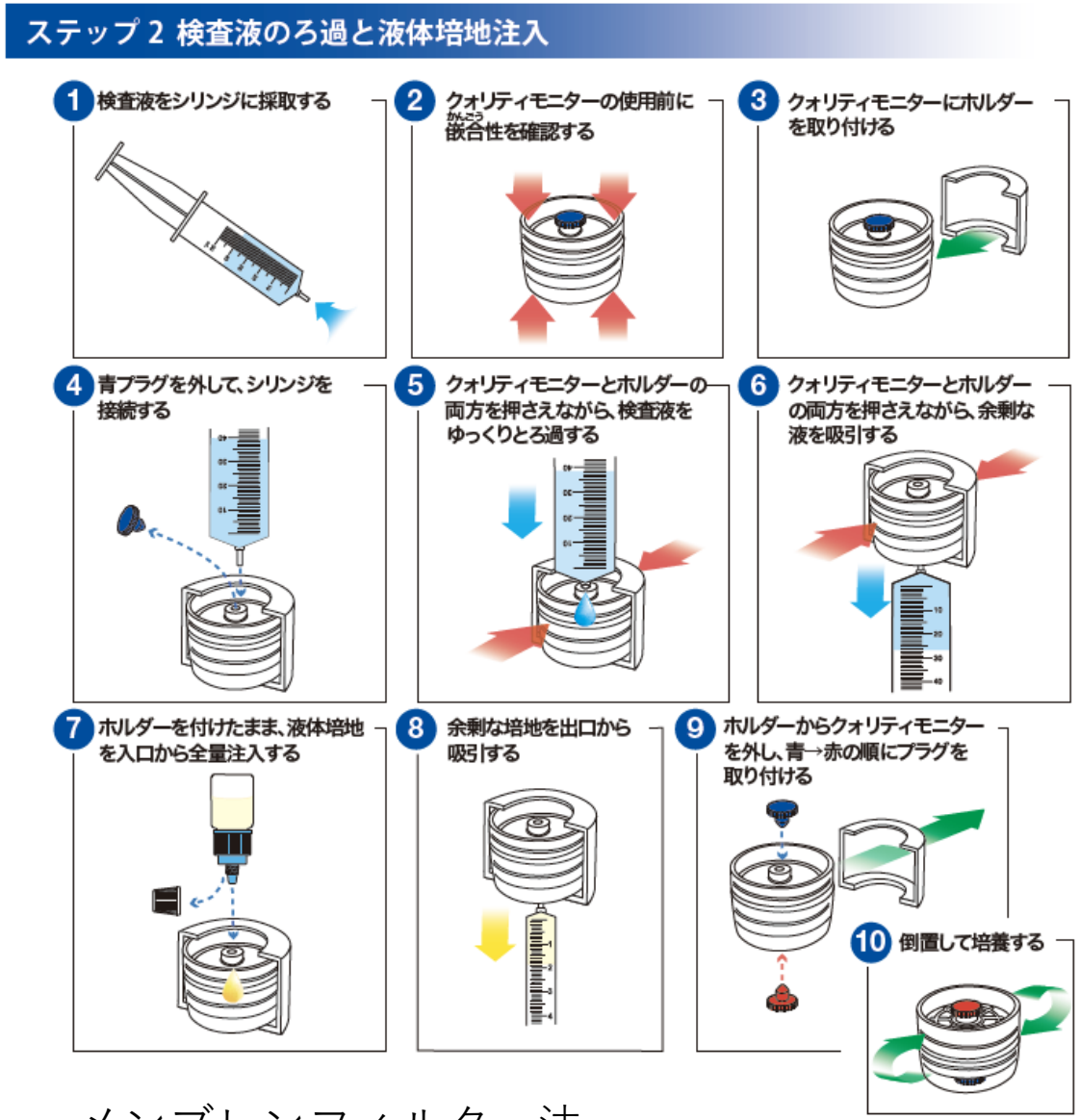


Fig. 2 A diagram of components of a hemodialysis system, illustrating blood pathway. **a** Configuration of tubing for priming of blood pathway with sterile saline. **b** Configuration of tubing for recirculation of priming saline [20]



メンブレンフィルター法

シート状培地

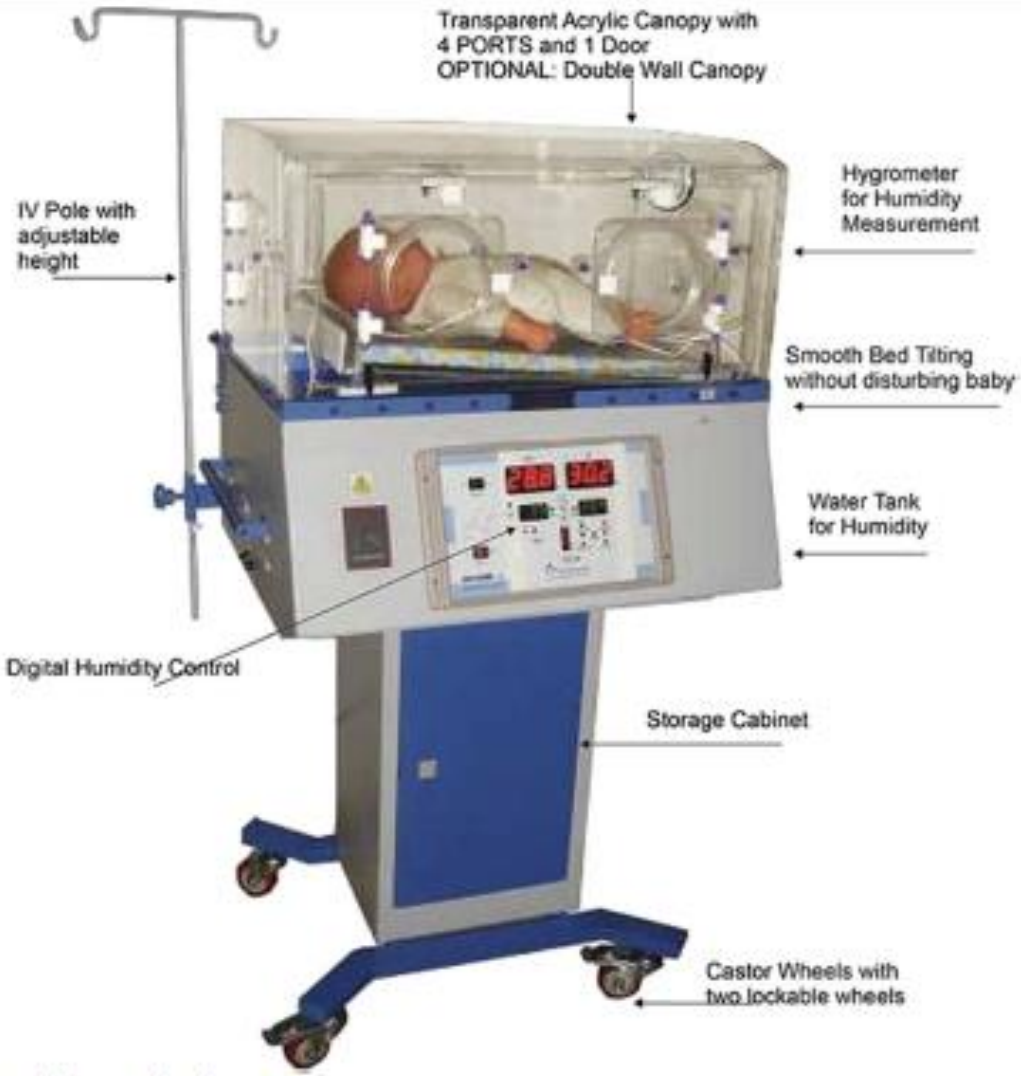


Fig. 3 An example of a neonatal incubator [30]

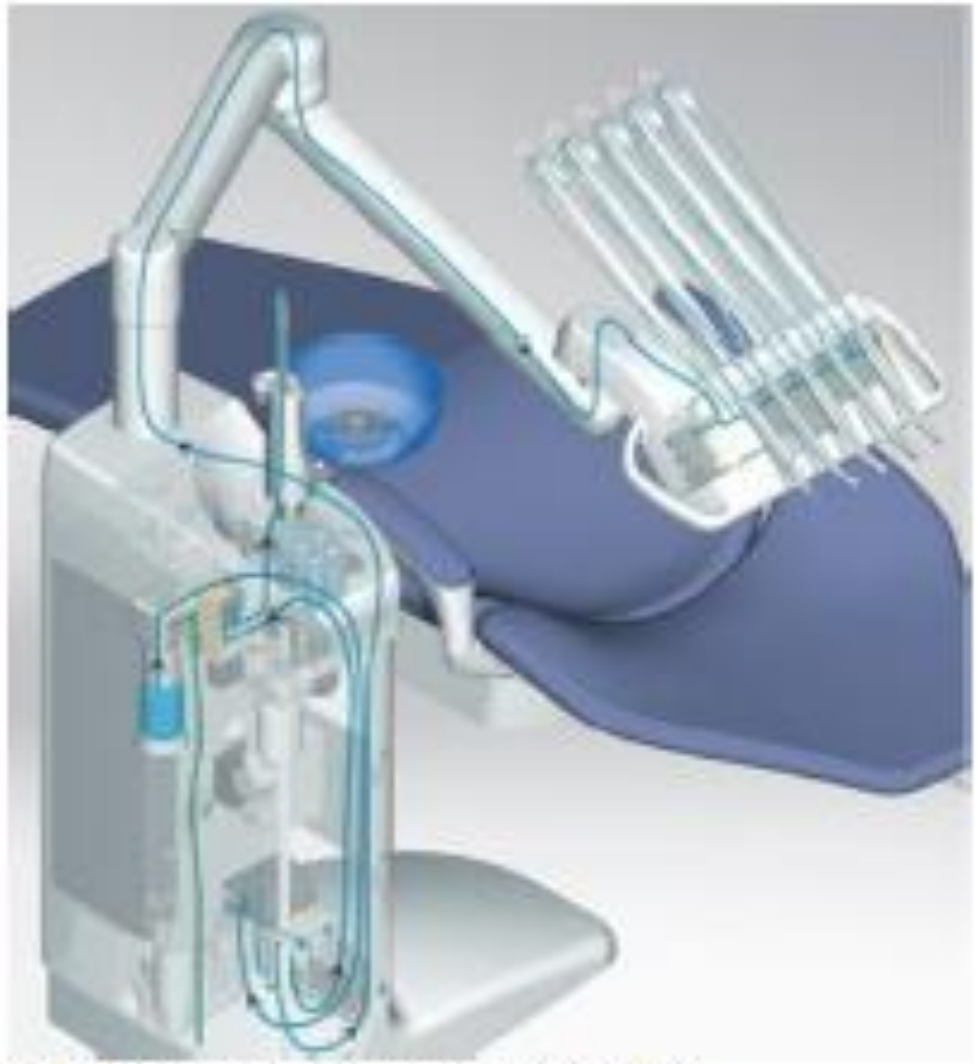
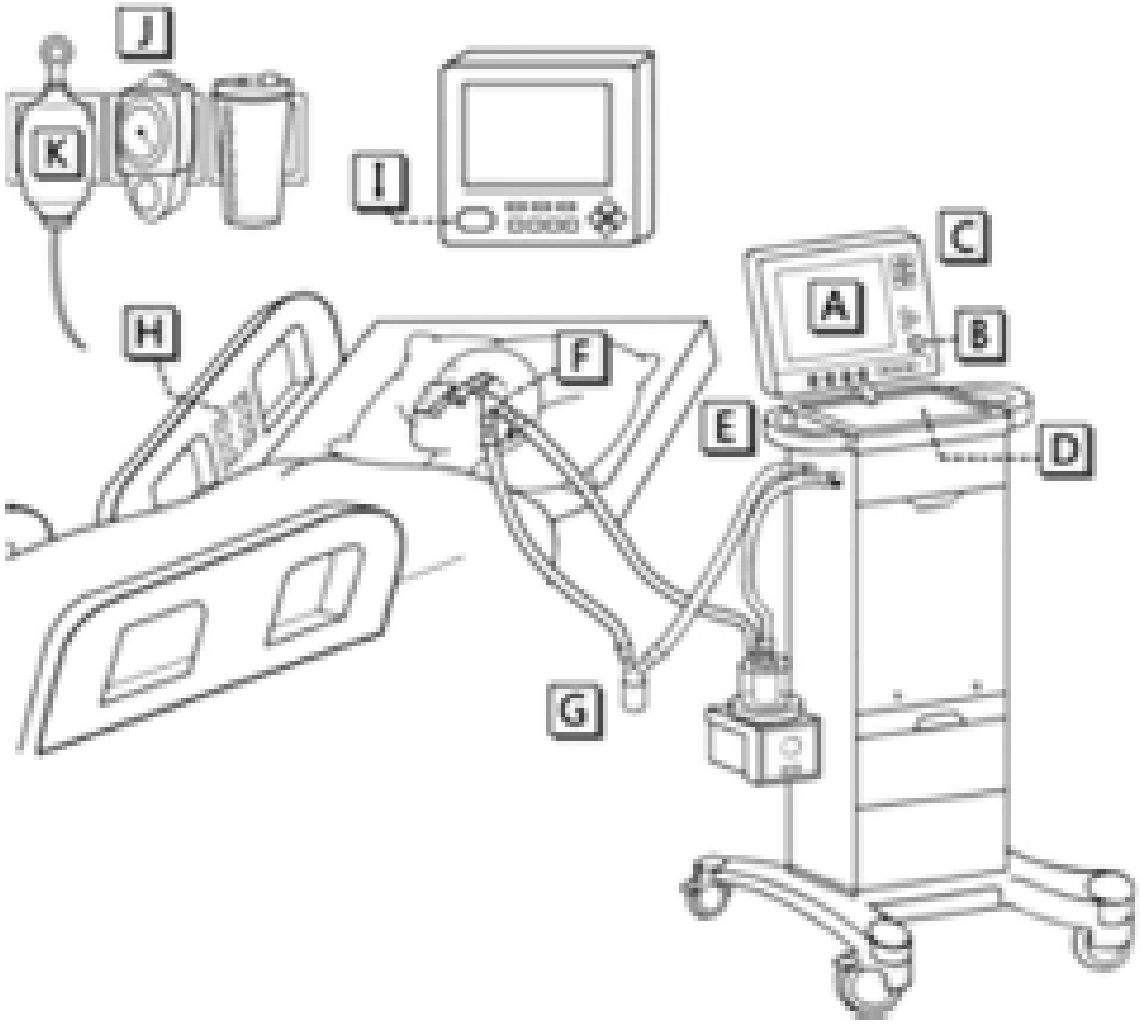


Fig. 4 An example of a dental unit waterline [42]



A: faceplate
B: shuttle button
C: silence button
D: ventilator plate
E: handrail
F: Y-piece
G: water trap
H: bedrail buttons
I: monitor buttons
J: suction system switch
K: resuscitator

Fig. 6 An example of a ventilator circuit system set-up. The water trap is indicated by G [96]