

대장균-효소기질정성법
(*Escherichia coli*-Enzyme Substrate Method)

2024

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 수돗물, 먹는물공동시설 등에 존재하는 대장균을 분석할 때 검사결과의 정확성과 통일성을 제공하는 데 필요한 제반사항을 규정함을 목적으로 한다.

1.2 적용범위

이 시험기준은 「먹는물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙」 제2조의 규정에 따른 수돗물, 먹는물공동시설 등의 수질검사에 적용한다.

1.3 “내용 없음”

2.0 용어정의

2.1 대장균

총대장균군에 속하면서 베타-글루쿠론산 분해효소(β -glucuronidase)의 활성을 가진 세균을 말한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 피펫 또는 자동피펫

부피 1 mL ~ 25 mL인 눈금피펫이나 자동피펫(플라스틱피펫팁 포함)으로서 멸균된 것을 사용한다.

3.2 마개 달린 유리시험관 또는 유리용기

고압증기멸균이 가능하며 투명한 재질의 마개가 달린 약 125 mL 부피의 유리시험관이나 유리병 또는 이에 상응하는 용기를 사용한다. 또한 자외선 아래에서 형광을 띠지 않아야 한다.

3.3 배양기

배양온도를 $(35.0 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ 로 유지할 수 있는 것을 사용한다.

3.4 자외선 램프

365 nm ~ 366 nm(6와트) 범위의 파장 조사가 가능해야 한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

효소기질이용 시약은 대장균이 분비하는 베타-글루쿠론산 분해효소(β -glucuronidase)에 의해 형광을 나타내는 기질을 포함해야 하며, 시험관법 또는 막여과법을 이용하여 대장균을 분석하는 방법과 동등 또는 그 이상의 신뢰성 있는 상용화된 제품을 사용한다.
[주 1] 보관 조건, 유효기간 및 사용방법 등은 제조사의 설명서를 따른다.

4.2 “내용 없음”

5.0 시료채취 및 관리

5.1 멸균된 시료용기를 사용하여 무균적으로 시료를 채취하고 즉시 시험해야 한다. 즉시 시험할 수 없으면 빛이 차단된 1 °C ~ 5 °C 냉장 보관 상태에서 30시간 이내에 시험해야 한다.

5.2 잔류염소가 존재하는 경우, 잔류염소 제거를 위한 시약은 잔류염소 4 mg/L 이하인 시료 1 L 기준으로 멸균한 티오황산나트륨 용액 (80 g/L) 1 mL에 준하는 양을 첨가하며, 잔류염소의 농도에 따라 첨가량을 조절한다.

5.3 수도꼭지에서 시료를 채취할 때는 수도꼭지를 틀어 수돗물을 2분 ~ 3분간 흘려버린 후 채취한다. 수도꼭지에 연결된 부착물은 제거하고 깨끗한 형짚이나 휴지로 이물질 을 닦아낸 후 시료를 채취한다. 필요하면 가스버너 등으로 수도꼭지 입구를 충분히 소독 한다.

6.0 정도보증/정도관리(QA/QC)

6.1 이 시험기준을 처음 실시하거나 사용하던 제품, 시약 등이 바뀔 때마다 시험관법 또는 막여과법을 이용하여 대장균을 분석하는 방법과 동등 또는 이상의 결과값을 확보한 후에 실험을 진행한다.

6.2 양성대조군과 음성대조군 시험을 동시에 실시하여야 하며, 양성대조군은 *Escherichia coli* 표준균주를 사용하고, 음성대조군은 멸균 회석액을 사용하도록 한다.

7.0 분석절차

7.1 “내용 없음”

7.2 시험방법

7.2.1 효소기질정성법에 따른 대장균 시험은 총대장균군의 효소기질정성법과 동일한 방법으로 시험하고 자외선 램프(365 nm ~ 366 nm, 6와트)를 사용하여 암실에서 형광을 관찰해 MUG(4-methyl-umbelliferyl-β-D-glucuronide)에 따른 형광이 관찰되면 대장균 양성으로 판정한다.

7.2.2 모든 시험은 음성대조군 시험을 동시에 실시하여 음성대조군 시험결과는 음성으로 나왔을 때만 유효한 결과값으로 판정한다.

8.0 결과보고

8.1 결과 표기

대장균이 검출되지 않으면 ‘불검출/100 mL’로, 검출되면 ‘검출/100 mL’로 표기한다.

9.0 참고자료

9.1 Standard Method 9223, 23rd edition, Enzyme substrate coliform test(2017).

9.2 HPA National Standard Method, W18, Enumeration of coliforms and *Escherichia coli* by IDEXX(Colilert 18) Quanti-TrayTM(2005).

9.3 일본 상수시험방법 8.2.2.1, 대장균 특정효소기질배지법(2001).

10.0 “내용 없음”