

# 腸球菌および糞便性大腸菌群の海域 における汚染指標性の比較検討

国府島 泉\*・平井 義一・塩出 純二  
寺坂 薫・岡部 昭延\*\*・金政 泰弘

岡山大学医学部細菌学教室（主任：金政泰弘教授）

\*就実短期大学

\*\*香川医科大学微生物学教室

（昭和60年6月1日受稿）

Key words: Enterococcus, Fecal coli form,  
Water pollution, Biological indicator

## 緒 言

われわれは公共用水の水質汚染指標菌としての大腸菌群の不合理性を、基礎的研究ならびに野外調査に立脚して指摘してきた。そして大腸菌群に代わる指標菌として腸球菌をとりあげて、その有用性について検討を行ってきた<sup>1)~8)</sup>。

一方、環境庁は1983年（昭58）9月8日付で、「水浴に供される公共水域の水質等の実態調査

に係る調査方法の改定について」という通達を各省庁に行った（環水管132号）<sup>9)</sup>。それによると海水浴場の水質検査に、従来の大腸菌群（基準値1,000MPN/100ml以下）に代って糞便性大腸菌群測定を行うよう通達している。そして糞便性大腸菌群数の目標値は100/100ml以下、許容限度1,000/100ml、暫定目標400/100ml以下と規定している。

そこでこの通達を踏まえて、海域における糞



図1. 調査地点図

便性大腸菌群測定を行うとともに、かねてからわれわれの推奨している腸球菌測定を併行して行い、両測定法のルチンでの適用性ならびに汚染指標の有用性の面で比較検討した。

#### 材料および方法

1984年(昭59)4月～6月にかけて、岡山県東部の海水浴場を中心に10地点において調査した(図1)。牛窓、西脇、宝伝の各海水浴場、さらに海水浴が可能である西宝伝、漁港である子

父雁、東宝伝、狭い水道を結ぶ前島フェリーの発着場、大きな港である牛窓港、田畑が近くまである地磯の久々井、吉井川の河口に近い西大寺造船前である。

採水方法は、清浄なひも付き布バケツ(ひもの長さ5m)で表水をくみ取り、清浄なポリビンに採水した。

腸球菌数の測定には、BTBアザイドデキストロース培地を自製し<sup>10)</sup>、水浴中で100°C30分間滅菌したものを用いた。検水は3段階10倍希釈系

表1. 海水からの腸球菌、糞便性大腸菌群の検出状況(1984年)

調査地点	調査月日, 時間	水温 °C	腸球菌数 MPN/100ml	糞便性大腸菌群数 個/100ml	腸球菌数 / 糞便性大腸菌群数
牛窓海水浴場	5.22 9:50	17.5	20	2	10.00
	5.29 10:45	19.5	330	36	9.17
	6.12 11:40	21.5	490	100	4.90
	6.26 12:20	24.0	2,400	840	2.86
前島フェリー発着場	5.29 10:40	18.5	330	16	20.63
	6.12 11:35	20.5	490	80	6.13
	6.26 12:10	22.0	460	44	10.45
牛窓港	4.24 8:40	11.0	5,420	1,220	4.44
	5.22 9:35	17.0	460	480	0.96
	5.29 10:30	18.5	170	66	2.58
	6.12 11:25	20.5	20	10	2.00
	6.26 12:00	23.0	490	174	2.82
西脇海水浴場	5.29 10:15	18.5	1,300	60	21.67
	6.26 11:40	22.0	460	42	10.95
子父雁	5.22 9:10	16.0	20	4	5.00
	5.29 10:05	18.0	80	38	2.11
	6.12 10:55	21.0	790	220	3.59
東宝伝	5.22 9:00	16.5	170	28	6.07
	5.29 9:55	18.0	700	160	4.38
	6.12 10:50	21.0	790	24	32.92
	6.26 11:25	23.0	3,480	900	3.87
西宝伝	5.29 9:50	18.0	230	80	2.88
	6.26 11:15	23.0	130	8	16.25
宝伝海水浴場	5.22 9:45	16.5	50	40	1.25
	5.29 9:40	18.0	20	6	3.33
久々井	6.26 10:55	24.5	2,400	2,400	1.00
西大寺造船前	5.22 8:20	18.0	80	18	4.44
	5.29 9:12	20.0	330	40	8.25
	6.12 10:20	21.5	1,300	70	18.57
	6.26 10:40	25.0	3,480	540	6.44

表2. 調査月日における潮汐  
(宇野港標準—1984年)

調査月日	満潮時間,	潮位 cm	干潮時間,	潮位 cm
4.24	6:26	204	13:13	102
	18:03	145	—	—
5.22	4:27	221	11:03	109
	15:52	159	22:11	59
5.29	9:46	204	4:25	99
	22:55	242	16:06	36
6.12	9:22	209	4:17	107
	22:56	256	15:56	20
6.26	8:27	201	3:17	120
	22:00	242	14:57	46

列ごと各5本の接種を行い、37°C48時間後に培地の黄変と混濁が認められた試験管数からMPNを最確数表から求めた。

糞便性大腸菌群数の測定は、環境庁の通達に準拠して行った<sup>9)</sup>。すなわち、検水50ml(菌数が多い時はコロニー数が10~30個になるように適当に希釈)を滅菌メンブランフィルター(直径47mm,孔径0.45 $\mu$ )で吸引濾過後、M-FC寒天培地上で44.5 $\pm$ 0.2°C, 24 $\pm$ 1時間培養し、出現した青色の光沢をもつコロニー数より、検水100ml中の菌数を算出した。なお、44.5 $\pm$ 0.2°Cの培養温度を厳密に保つため、シャーレは二重のナイロン袋に入れて密封し、倒置した状態で恒温水槽に沈めて培養した。

## 結 果

各調査地点における腸球菌数と糞便性大腸菌群数の測定結果を表1に示す。一般的に6月に入って水温が上昇するにともない、両菌群とも高値を示すようになった。調査地点別では、住民排水の影響を受けている牛窓港、東宝伝、農業排水の影響を受けている久々井、吉井川の影響を受けている西大寺造船前などで高い菌数が検出される例があった。なお岡山県下では有数の清澄な牛窓海水浴場で、水浴に使用される前の6月の時期に、環境庁の示した糞便性大腸菌群数の目標値100/100ml以下を達成しなかった例を認めた。表2に調査月日における潮汐を示しているが、潮の干満による検出菌数の顕著な

変動は認められなかった。

両菌群の検出菌数を比較すると、腸球菌は糞便性大腸菌群の0.96~32.92倍検出され、平均で約7.7倍多く検出された。また表1の30例から、腸球菌数と糞便性大腸菌群数の対数による相関係数を求めると $r=0.86$ であり、高い相関が認められた。

## 考 察

われわれは今まで、公共用水の汚染指標菌として、腸球菌は人糞便中の存在量や水中での生残性、河川水からの検出状況などで糞便性大腸菌群よりも優れていると報告した<sup>8)</sup>。さらに検出操作の簡便性でも、最確数法(MPN法)による比較では、温度管理などの点で腸球菌測定が優れていることを報告した<sup>8)</sup>。

しかしこの度環境庁は、EC諸国、米国に準じ<sup>11),12)</sup>、海水浴場の水質検査にメンブランフィルター法(MF法)による糞便性大腸菌群測定を行うよう各省庁に通達したため、海域から糞便性大腸菌群の検出を行い、腸球菌測定結果と比較検討した。さらに腸球菌MPN法と糞便性大腸菌群MF法のルチンとしての適用性や経済性についても比較検討した。

岡山県東部の海水浴場を中心とした10地点における30調査例の結果、腸球菌は糞便性大腸菌群の約7.7倍多く検出された。菌数が多いことは、検出しやすい利点をもっている。また両菌群数の対数による相関係数は $r=0.86$ であり、糞便汚染指標菌として高い相関がみられた。

つづいて、検査におけるルチンとしての適用性について比較検討した。われわれは、MPN法とMF法ではMPN法の方が操作が簡便であると報告してきた<sup>7)</sup>。さらに糞便性大腸菌群の測定は、精度の高い恒温水槽で44.5°Cを厳密に保つ必要がある。そのためシャーレは二重のナイロン袋に入れて密封し、水中に沈めて培養するという煩瑣な操作を必要とする。この操作でプラスチックシャーレ10枚を沈めるためには、約1.5kgの「おもり」を必要とする。しかも温度低下を避ける意味からも、中途のチェックは厳禁である。これに比べ腸球菌測定は35~37°Cであれば少々の誤差はかまわず、普通の孵卵器で事足

り、中途でのチェックも自由である。

さらに検査に要する時間について比較検討した。腸球菌 MPN 法は検水の 3 段階 10 倍希釈系列ごと各 5 本接種—合計 15 本接種するが、糞便性大腸菌群 MF 法は、原水または適当希釈水をメンブランフィルターに汙過して、発育コロニー数が 10~30 個になるように調整するため、1 試料について最低 2 段階希釈で検査する必要がある（例えば検水量 50 ml, 5 ml）。この場合、両法の検査に要する準備時間や操作時間はほぼ同じである。しかし MF 法は、試料中に浮遊物質が多いと汙過に手間取ることがある。

また検査に要する費用について比較検討した。1 試料あたりの経費は、腸球菌 MPN 法では培地 15 本で約 60 円である。一方、糞便性大腸菌群 MF 法は、培地 2 枚で約 40 円であるが、滅菌メンブランフィルター 2 枚 280 円、滅菌プラスチック

クシャーレ 2 枚 60 円を加算すると、1 試料あたり約 380 円になり高くつく。また、1 試料につき 1 個必要な汙過器をはじめ、精密な恒温器や大型水槽など検査設備にも経費がかかる。

## 要 約

岡山県東部の海水浴場を中心に、10 地点 30 例について腸球菌と糞便性大腸菌群の検出を行った。腸球菌数は糞便性大腸菌群数の約 7.7 倍多く検出され、両菌群数の対数による相関係数は  $r=0.86$  で、糞便汚染指標菌として高い相関がみられた。

腸球菌 MPN 法と糞便性大腸菌群 MF 法のルチンとしての簡便性や経済性について比較検討すると、腸球菌 MPN 法がより優れていると判断された。

## 文 献

1. 赤塚和也, 森 康巳, 国府島泉, 平井義一, 浜田博司, 安部益文, 安部重信, 荃田祥三, 永田哲英, 藤原 清, 林 英生, 金政泰弘: 大腸菌群測定法の水質汚染指標性の検討. 岡山医学会雑誌, 90, 1309—1317, 1978.
2. 金政泰弘, 片山 健, 赤塚和也, 原 弘, 俵寿太郎: 児島湾の水質調査について(1). 岡山医学会雑誌, 86, 23—28, 1974.
3. 金政泰弘, 片山 健, 岡部昭延, 森 康巳: 児島湾の水質調査. 岡山医学会雑誌, 85, 601—605, 1973.
4. 金政泰弘, 赤塚和也, 藤原 清, 森 康巳: 水質汚染指標菌としての大腸菌群測定に対する検討. 昭和 51 年度文部省科学研究費による特定研究“人間の生存にかかわる自然環境に関する基礎的研究”研究報告集録, 179—188, 1977.
5. 金政泰弘, 赤塚和也, 藤原 清, 森 康巳: 水質汚染指標菌としての大腸菌群測定に対する検討. 昭和 51 年度文部省科学研究費による特定研究“海洋環境保全の基礎的研究”研究集録集, 82—88, 1977.
6. 森 康巳: 腸球菌の水質汚染指標性に関する検討. 岡山医学会雑誌, 95, 1053—1062, 1983.
7. 国府島泉, 森 康巳, 塩出純二, 中村知明, 寺坂 薫, 志田健太郎, 平井義一, 金政泰弘, 赤塚和也: 公共用水中の腸球菌測定法に関する基礎的検討. 岡山医学会雑誌, 95, 863—869, 1983.
8. 国府島泉, 金谷誠久, 口分田晃, 野田泰子, 福原明宏, 森 徳子, 金政泰弘: 腸球菌および糞便性大腸菌の水質汚染指標性に関する検討. 岡山医学会雑誌, 96, 377—384, 1984.
9. 環境庁告示: 環永管 132 号, 水浴に供される公共水域の水質等の実態調査に係る調査方法の改定について, 1983.
10. 橋本秀夫: 畜産食品における腸球菌. モダンメディア, 16, 290—298, 1970.
11. European Communities: Hygiene of bathing water. Council Directive No. 76/160/EEC. *Digest Health Legislation* 27, 709—717, 1976.
12. “Criteria for primary contact recreation”, Water Quality Criteria, Report of the National Technical Advisory Committee to the Secretary of the Interior. 11—14, 1968.

**Comparative Study of Enterococci and Fecal Coli form Group  
as an Indicator of Seawater Pollution**

**Izumi KOUJIMA\*, Yoshikazu HIRAI, Junji SHIODE,  
Kaoru TERASAKA, Akinobu OKABE\*\* and Yasuhiro KANEMASA**

**Department of Microbiology, Okayama University Medical School**

**(Director: Prof. Y. Kanemasa)**

**\* Shūjitsu Junior College**

**\*\* Department of Microbiology, Kagawa Medical College**

A sampling of seawater was carried out on the coast east of Okayama Prefecture in 1984. Thirty samples of seawater were collected at 10 sampling points near beaches and were examined for both enterococci and fecal coli form group bacteria.

The MPN technique was used for the detection of enterococci, and the MF technique for fecal coli form group bacteria. Enterococci were detected about 7.7 times as often as fecal coli form group bacteria. The correlation coefficient was high( $r=0.8$ ) when the bacterial numbers of both groups were plotted as logarithms. This result indicates that both bacteria can serve as a reliable indicator of the fecal pollution of seawater. However, the detection of enterococci using the MPN technique is more suitable for routine testing than that of the fecal coliform group with the MF technique in terms of the test performance and the cost involved.