

河川水汚染指標としての糞便レンサ球菌の菌種分類

就実短期大学

国 府 島 泉

岡山大学医学部細菌学教室

小野 敬 治 ・ 森 康 巳 ・ 金 政 泰 弘

香川医科大学微生物学教室

岡 部 昭 延

(昭和60年4月16日受稿)

Key words : Fecal streptococci, Enterococci
Water pollution, Biological indicator

緒 言

人畜糞便中に存在し、腸球菌(Enterococcus group)と呼ばれる菌群に属する菌種は、*Streptococcus faecalis*(以下 *S. faecalis*)、*S. faecalis* subsp. *liquefaciens*、*S. faecalis* subsp. *zymogenes*、*S. faecium*、*S. faecium* subsp. *durans*、*S. avium* である。この他にも糞便中には、Viridans group に属する *S. bovis*、*S. equinus*、*S. mitis*、*S. salivarius* が存在し、両 group を合わせて糞便レンサ球菌(fecal streptococci)と呼んでいる^{1),2)}。

われわれは腸球菌を主体とする糞便レンサ球菌の水の糞便汚染指標性を10年来検討し、極めて指標性の高いことを報告してきた³⁻⁷⁾。しかし Geldreich らは、糞便レンサ球菌の範疇に入るも

ののうち *S. faecalis* subsp. *liquefaciens* は昆虫由来菌であり、またデンプン分解能を有する植物由来の Atypical *S. faecalis* が存在すると述べている^{8),9)}。腸球菌測定において、これらの菌種が多量混入すると、腸球菌の人畜糞便汚染指標としての有用性が失われる。そのため、河川水中に含まれるいわゆる糞便レンサ球菌を分離し、菌種同定を行い、昆虫・植物由来菌の混入率について検討した。

材料および方法

調査地点は旭川水系の合同堰、乙井手堰、相生橋、桜橋および岡山市内を流れる西川の西川交差点下の5地点である(図1)。合同堰、乙井手堰は岡山市街地の上流に位置し、比較的清浄

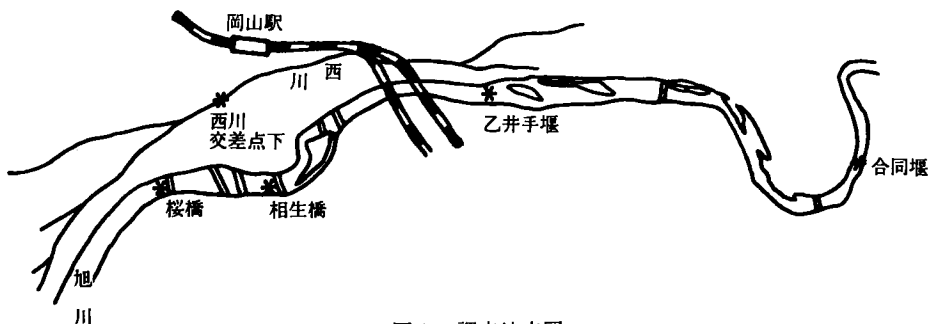


図1 調査地点図

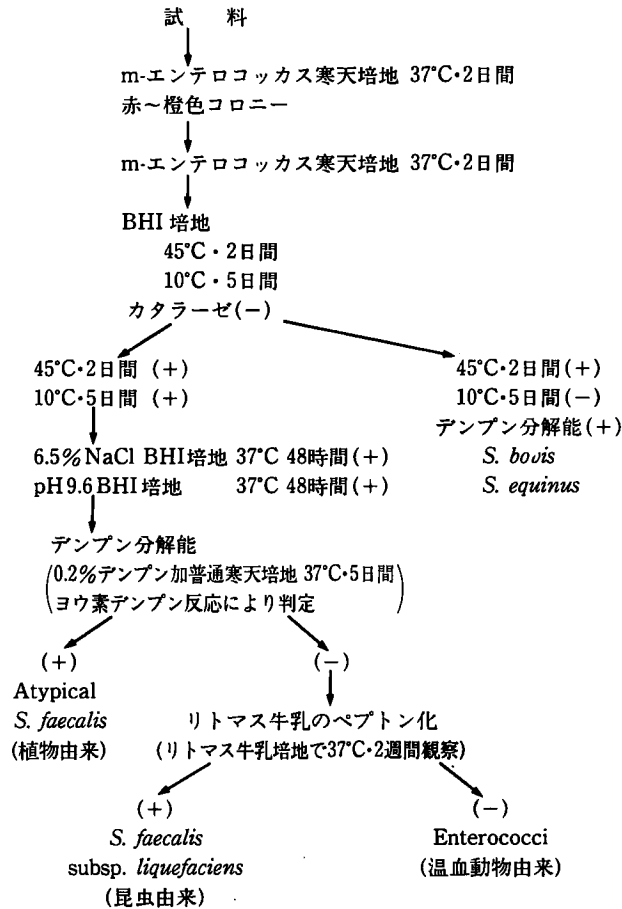


図2 糞便レンサ球菌の分離同定手順

な地点であり、相生橋、桜橋、西川交差点下は岡山市の中心部にあって汚濁が進行している。なお桜橋は児島湾からの海水が満潮時流達する汽水域である。調査は1984年(昭59)8月～12月に、月1回行った。

採水は清浄なポリビンに河川の表水を採取し、試料とした。pH, DO, BODは公定の方法により測定した^{10)~13)}。大腸菌群数の測定は、BGLB 酸酵管法により最確数(MPN)を求める方法によった¹⁴⁾。また陽性を示した試験管をEC培地に移植し、44.5°C24時間培養して糞便性大腸菌群数のMPNを求めた^{15),16)}。腸球菌数の測定は、BTBアザイドデキストロース培地によりMPNを求める方法によった^{5),6),17),18)}。

糞便レンサ球菌の分離同定は、試料の適当量

量(1～100ml)を滅菌メンブランフィルター(直径47mm, 孔径0.45 μ)で濾過し、m-エンテロコッカス寒天培地上に置き、37°C 2日間培養した。発育した赤～橙色のコロニーを無作為に釣菌し、さらにm-エンテロコッカス寒天培地で純化してから同定した。以後の手順は図2に示すごとくである^{8),9),19)}。

結 果

結果は表1に示す。岡山市街地の上流に位置する合同堰、乙井手堰では、大腸菌群数、糞便性大腸菌群数、腸球菌数ともに低値であり比較的清浄な地点であることがうかがえる。一方、相生橋、桜橋、西川交差点下では高値であり、岡山市街地の影響を受けて汚濁が進行している

表1 河川水からの糞便レンサ球菌の分離同定結果

調査地点	採水月日 1984年	水温 °C	pH	DO mg/l	BOD mg/l	大腸菌群数 MPN/100ml	糞便性 大腸菌群数 MPN/100ml	腸球菌数 MPN/100ml	糞便レンサ 球菌分離数 株	Enterococci 菌株数(%)	<i>S. boydii</i> <i>S. eximius</i> 菌株数(%)	Atypical <i>S. faecalis</i> 菌株数(%)	<i>S. faecalis</i> subsp. <i>linguifacies</i> 菌株数(%)
合同堰	8.20	29	8.1	9.4	4.0	1300	20	50	17	17(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	9.17	23	7.3	7.8	1.6	490	20	110	19	19(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	10.15	17	7.6	9.2	1.2	330	20	20	9	9(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	11.12	14	7.5	9.8	0.8	490	<20	<20	17	16(94)	0(0)	0(0)	1(6)
	12.10	9	7.7	12.0	1.8	170	50	<20	18	17(94)	0(0)	0(0)	1(6)
乙井手堰	8.20	30	8.0	9.4	2.0	700	130	20	18	17(94)	0(0)	0(0)	1(6)
	9.17	24	7.3	9.0	1.6	130	50	20	17	16(94)	0(0)	0(0)	1(6)
	10.15	18	8.1	9.8	1.2	230	20	<20	2	2(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	11.12	16	8.1	9.0	0.6	490	20	50	15	15(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	12.10	10	7.8	12.2	0.8	490	70	<20	17	15(88)	0(0)	0(0)	2(12)
相生橋	8.20	29	8.4	9.4	3.0	5420	1720	790	16	16(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	9.17	25	7.3	6.6	1.2	2210	170	490	6	6(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	10.15	21	7.7	9.0	5.2	3480	490	230	19	18(95)	0(0)	0(0)	1(5)
	11.12	17	7.8	8.8	0.4	1300	80	<20	18	18(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	12.10	11	7.8	11.2	1.2	2210	130	20	19	19(100)	0(0)	0(0)	0(0)
桜橋	8.20	29	8.6	9.4	7.0	24000	140	330	19	19(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	9.17	26	7.4	7.6	2.4	16000	5420	3480	20	10(50)	0(0)	0(0)	10(50)
	10.15	20	7.5	7.0	1.8	9200	330	20	16	15(94)	0(0)	0(0)	1(6)
	11.12	17	7.7	7.7	1.0	5420	130	220	16	14(88)	0(0)	0(0)	2(12)
	12.10	11	7.7	10.4	1.2	5420	480	130	19	19(100)	0(0)	0(0)	0(0)
西川交差点下	8.20	29	8.6	8.8	2.4	34800	220	230	20	15(75)	0(0)	0(0)	5(25)
	9.17	24	7.8	7.8	2.0	5420	700	430	14	13(93)	0(0)	0(0)	1(7)
	10.15	19	8.9	10.8	1.4	5420	330	230	4	4(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	11.12	16	9.8	11.4	0.8	5420	790	230	17	17(100)	0(0)	0(0)	0(0)
	12.10	11	8.7	13.0	1.6	> 16000	3480	170	18	16(89)	0(0)	0(0)	2(11)
計									390	362(93)	0(0)	0(0)	28(7)

ことがうかがえる。

m-エンテロコッカス寒天培地により糞便レンサ球菌を分離し、菌種同定を行った結果、Viridans groupに属する *S. bovis*, *S. equinus* は検出されなかった。また、デンプン分解能を有し植物由来といわれる Atypical *S. faecalis* も全く検出されなかった。

一方、リトマス牛乳をペプトン化し昆虫由来といわれる *S. faecalis* subsp. *liquefaciens* は、試料によっては高率に検出される例があった。桜橋における9月調査の試料で10/20株(50%)、西川交差点下の8月調査の試料で5/20株(25%)である。しかし、この2例以外に本菌が検出される例が10例あったが、いずれも10%程度の混入率で、全く検出されない例は半数例以上の13例あった。*S. faecalis* subsp. *liquefaciens* の検出される季節的な偏りは、例数も少なく検査株数も少ないので明確ではない。全体の平均では、分離菌株数390株のうち362株(93%)が温血動物由来の enterococci であり、わずかに28株(7%)が *S. faecalis* subsp. *liquefaciens* であった。

考 察

Geldreich らは、糞便レンサ球菌として分離される菌には、昆虫由来菌や植物由来菌が存在しており、糞便レンサ球菌を糞便汚染指標として用いることの不合理性を指摘している^{8),9)}。一方、われわれは腸球菌は水の糞便汚染指標として有用であると報告してきた³⁾⁻⁷⁾。本実験では、Geldreich らの指摘する昆虫・植物由来菌が河川水からどれくらいの率で分離されるかについて検討した。

岡山市内を流れる旭川、西川から5地点を選び、1984年8月~12月に5回の調査を行い、25試料より糞便レンサ球菌390株を分離同定した。その結果、デンプン分解能を有し植物由来といわれる Atypical *S. faecalis*, および Viridans groupに属する *S. bovis*, *S. equinus* は全く検出されなかった。Viridans groupに属する菌が検出されなかったのは、これらの菌は外界で速く死滅することが知られているためであろう^{8),9),20)}。分離された390株のうち362株(93%)は温血動物の糞便由来の enterococci であり、わずかに28株

(7%)がリトマス牛乳をペプトン化し昆虫由来といわれる *S. faecalis* subsp. *liquefaciens* であった。*S. faecalis* subsp. *liquefaciens* が検出された試料は25例中12例であり、他の13例からは全く検出されなかった。特に高率に検出されたのは、桜橋における9月調査の試料で50%、西川交差点下の8月調査の試料で25%である。桜橋の試料は、糞便性大腸菌群数や腸球菌数が多数検出された、いわゆる糞便汚染が著しいと考えられる試料であった。その他の試料でも *S. faecalis* subsp. *liquefaciens* は比較的汚濁の進行したものに検出される傾向がうかがえた。

Geldreich らは、人糞便では enterococci が73.8%を占め、*S. faecalis* subsp. *liquefaciens* は26.2%であると報告している。一方、昆虫においては enterococci が52.1%、*S. faecalis* subsp. *liquefaciens* が47.9%であるとしている^{8),9)}。彼らが主張するように、*S. faecalis* subsp. *liquefaciens* の origin が昆虫であるとしても、本菌は人や動物の腸内常在菌と考えてさしつかえないのではなからうか。本実験において、*S. faecalis* subsp. *liquefaciens* は清浄な河川水よりもむしろ汚濁の進行した河川水に多く検出されたのも、これを支持すると考えられる。

以上のことから早計に結論はできないが、河川水から分離される糞便レンサ球菌のうち、*S. faecalis* subsp. *liquefaciens* の占める割合は7%程度であると判断され、公共用水域の水質検査に腸球菌測定を用いる有用性は高いと推論される。

要 約

河川水から糞便レンサ球菌390株を分離同定した結果、362株(93%)は温血動物の糞便由来の enterococci であった。昆虫由来といわれる *S. faecalis* subsp. *liquefaciens* は、わずかに28株(7%)検出されたにすぎず、公共用水域の水質検査に腸球菌測定を用いる有用性は高いと推論された。

本研究は昭和59年度文部省科学研究費、環境科学特別研究(I)の助成を受けた。

文 献

1. Hartman, P.A., Reinbold, G.W. and Saraswat, D.S.: Indicator organisms — A review. Taxonomy of the fecal streptococci. *Int. J. Syst. Bacteriol*, **16**, 197—221, 1966.
2. 橋本秀夫：レンサ球菌の分類と病原性. 魚病研究, **17**, 1—10, 1982.
3. 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.
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“海洋環境保全の基礎的研究”研究集録集, 82—88, 1977.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Geldreich, E.E. and Kenner, B.A.: Concept of fecal streptococci in stream pollution. *J. Water Pollut. Control Fed.* **41**, R336—352, 1969.
9. Geldreich, E.E.: Fecal coliform and fecal streptococcus density relationships in waste discharges and receiving waters. *CRC Critical Rev. Environ. Control*, **6**, 349—369, 1976.
10. 日本工業標準調査会審議：工業用水試験方法, JIS, K 0101⁻¹⁹⁶⁶, 日本規格協会, 1976.
11. 日本工業標準調査会審議：工場排水試験方法, JIS, K 0102⁻¹⁹⁷⁴, 日本規格協会, 1976.
12. 日本薬学会編：衛生試験法注解1973. 金原出版株式会社, 東京, 1973.
13. 日本水道協会編：上水道試験方法, 日本水道協会, 1965.
14. 環境庁告示：第59号, 1971.
15. 鈴木 昭：Esherichia coli 検出法としての EC Test の食品への応用について. モダンメディア, **11**, 197—212, 1965.
16. 鈴木 昭：かきなどにおける大腸菌および大腸菌群について. モダンメディア, **16**, 268—277, 1970.
17. 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.
18. 那須昭夫：魚介類の食品衛生学的研究第2報腸球菌の検査方法に関する研究. 日本衛生学雑誌, **8**, 173—181, 1954.
19. American Public Health Association: Standard methods for the examination of water and wastewater, 15th Ed., 1983.
20. 島崎保家：水における腸球菌. モダンメディア, **16**, 299—306, 1970.

Classification of fecal streptococci isolated from river water**Izumi KOUJIMA, Keiji ONO*, Yasumi MORI*****Akinobu OKABE** and Yasuhiro KANEMASA*****Shūjitsu Junior College*****Department of Microbiology, Okayama University Medical School****(Director: Prof. Y. Kanemasa)******Department of Microbiology, Kagawa Medical College**

The authors classified the streptococci isolated from river water. Three hundred ninety strains of cocci were isolated from river water and classified. Of them, 362 strains (93%) proved to be enterococci derived from human and cattle feces. Only 28 strains, 7% of the isolates, were identified as *S. faecalis* subsp. *liquefaciens* which can be thought to be derived from insects. The results indicate that the classification of fecal streptococci is a reliable and useful indicator of water pollution.