

短報

河口周辺における 糞便汚染指標菌の解析

黒木俊郎, 伊東久美子, 石原ともえ, 尾上洋一

Analysis of fecal indicator bacteria in estuary area.

Toshiro KUROKI, Kumiko ITO,
Tomoe ISHIHARA and Yoichi ONOUE

はじめに

河川水中には生息の場として増殖する微生物も存在するが、糞便由来細菌のように周囲の環境から混入する微生物もあり、その中には病原性を有する微生物も含まれる。こうした種々の微生物は河川水とともに海に流入する。海浜環境は食品である魚介類の生産あるいは海水浴等のレジャーといった人の生活あるいは産業と密接に係わる場として欠かせない。しかし、海を汚染する病原体による海水浴での感染や海産物の汚染が懸念されている^{1,2)}。そこで、本調査では河川から海浜への糞便由来細菌の流入を想定し、糞便汚染指標である大腸菌群と大腸菌を、また糞便由来の病原菌として *Salmonella* を取り上げ、それらの分布状況を調査して海浜における汚染の実態を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

1. 採水方法

採水は2005年7月19日, 8月15日, 8月29日, 9月27日, 10月3日, 11月28日, 12月19日, 6月12日, 7月25日, 8月30日, 9月26日, 10月17日に計12回行った。採水地点は神奈川県内の中央部を流れる二級河川の金目川の河口から上流へ約1.3kmの地点と、河口から東西両側へ100m, 300mおよび500m離れた砂浜の3地点ずつ、合わせて7地点とした。河川においては川の中央付近の河川水を採取した。砂浜においては、波打ち際で採水した。各地点の試料の搬送には滅菌した2lのポリ容器1本あるいは2本を用いた。

2. 大腸菌群数および大腸菌数の測定

試料水中の大腸菌群数の測定はLB法を用いて最確数(MPN)法(3本法)により行った。2倍濃度LB培地(日水)10mlに試料原液10mlあるいは10倍段階希釈した試料10mlを加え、36℃, 48時間培養した。培養後に黄変およびガス産生が見られた試験管を陽性とした。LB法陽性試験管から1白金耳をEMB培地(Oxoid)に接種後、36℃, 24時間培養し、金属光沢のある中心が黒色の集落が得られた試験管を大腸菌陽性とした。各希釈段階における陽性試験管の本数から最確数表により大腸菌群数あるいは大腸菌数を求めた。測定は2005年9月27日, 11月28日, 12月19日, 2006年6月12日, 8月30日, 9月26日, 10月17日に合わせて7回行った。

3. *Salmonella* 菌数の測定

金目川の河口から1.3km上流地点の河川水の *Salmonella* の菌数測定は、最確数法(3本法)により行った。試料水1,000mlは孔径0.45 μ mの滅菌メンブランフィルター(Millipore)でろ過し、細菌を捕捉したメンブランフィルターを滅菌Buffered Peptone Water (BPW) (Oxoid) 30mlで36℃, 20~22時間、前培養した。試料水100mlおよび10mlは同量の2倍濃度滅菌BPWに、試料水1mlは滅菌BPW10mlに加え、36℃, 20~22時間、前培養した。各培養液の1mlをハーナ・テトラチオン酸塩培地(栄研化学)10mlに接種後、42℃, 18~20時間、選択増菌培養した。培養液の1白金耳をSS寒天培地(栄研化学)およびESサルモネラ培地II(栄研化学)に接種後、36℃, 20~22時間培養した。培養後、*Salmonella* 様集落を生化学的性状により同定し、さらに市販の型別用血清(デンカ生研)を用いてO型別およびH型別を行った。*Salmonella* の菌数は、段階ごとの陽性数から最確数表より求めた。*Salmonella* の測定は採水を行った12回すべてで実施した。

4. 流量の測定

金目川の河口から約1.3km上流の地点において、直読式電磁流速計AEM1-D(アレック電子)を用い、川岸から2m間隔で流速と水深を測定し、流量を算定した。測定地点の川幅は通常約30mであった。

結果および考察

金目川と河口周辺の海水中の大腸菌群数および大腸菌数の測定は2005年9月から2006年10月までに7回行った。採水地点の大腸菌群数および大腸菌数の結果は図1に示した。河川の定点における大腸菌群数および大腸菌数はそれぞれ幾何平均 $1 \times 10^4 / 100 \text{ml}$ ($1.3 \times 10^3 \sim 4.6 \times 10^4 / 100 \text{ml}$) および $1.6 \times 10^3 / 100 \text{ml}$ ($45 \sim 1.1 \times 10^4 / 100 \text{ml}$) であった。海水では河口から100mの地点は東側は $4.0 \times$

10²/100ml (22~4.6 x 10³/100ml) および25/100ml (検出限界以下~1.5 x 10³/100ml), 西側は2.5 x 10²/100ml (9.1~1.1 x 10⁴/100ml) および16/100ml (検出限界以下~2.1 x 10²/100ml), 300mの地点は東側は2.0 x 10²/100ml (4.5~2.4 x 10³/100ml) および16/100ml (検出限界以下~9.3 x 10²/100ml), 西側は1.3 x 10²/100ml (7.3~2.4 x 10³/100ml) および16/100ml (検出限界以下~2.4 x 10²/100ml), 500mの地点は東側は13/100ml (4.0~49/100ml) および1/100ml (検出限界以下~2.0/100ml), 西側は63/100ml (17~4.9 x 10²/100ml) および6/100ml (2.0~46/100ml) であった。したがって、河川水が海に流入すると、大腸菌群数は河口から100m離れた地点では1.5log (10^{-1.5}), 300m離れた地点では1.8log (10^{-1.8}), 500m離れた地点では2.2~2.9log (10^{-2.2~2.9}) 減少した。しかし、測定日ごとの菌数は河口の東側と西側で異なり、また東側と西側のどちらの菌数が多いかは測定日により異なっていた。これは河口から海に注ぎ出た河川水が均等に海水に混ざって広がるのではなく、河川から海への流入方向や相模湾の循環流、風向の影響を受けて、相模湾に流入した河川水が東側あるいは西側に向かって浜に沿って流れることによると推測された。日向けの報告によれば、相模湾の表層の循環流は湾北部では反時計回り(沿岸部では東から西の流れ)の場合と時計回り(沿岸部では西から東の流れ)の場合があり、短周期で方向が変わるとされた³⁾。この報告は、今回の調査の結果を裏付けている。

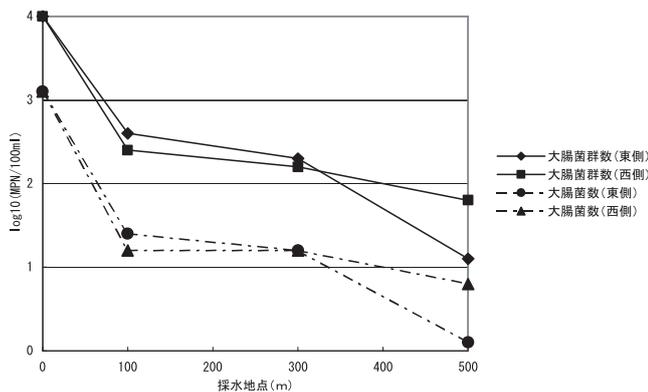


図1 採水地点における大腸菌群数および大腸菌数

そこで、河口からの方向に関係なく、測定日ごとに菌数の多い側 (I) と少ない側 (II) の2グループに分け、それぞれのグループにおける各地点の大腸菌群菌数と大腸菌数の幾何平均を図2に示した。7回測定したうち、流入水が東側へ流れたと推測されたのは3回、西側は4回であった。I では大腸菌群数は河口から100m離れる

ごとに0.4log程度ずつ減少するのに対して、IIでは河口から100m離れると急激に2.1log減少し、それから先の減少は緩やかであった。いずれの採水地点でも大腸菌数は大腸菌群数の1/10程度であったが、減少の状況は大腸菌群数とほぼ同様であった。

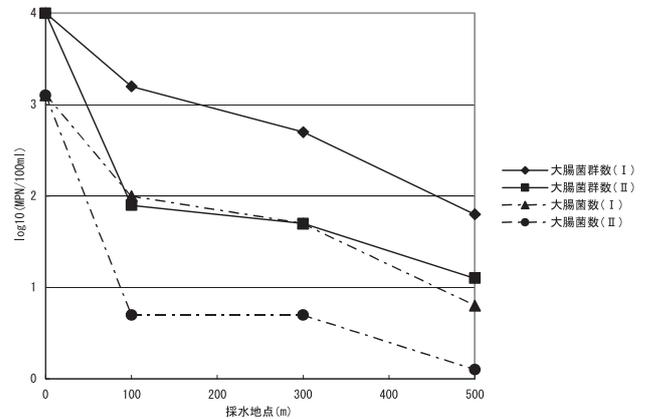


図2 相模湾に流入した河川水の流れる方向による菌数の変化 I、II: 本文参照

Salmonellaの菌数測定は2005年7月から2006年10月までに合わせて12回実施し、このうちSalmonellaは9回(75%) 検出された(表1)。検出された血清型はS. Agona, S. Infantis, S. Mbandaka, S. Newport, S. Saintpaul, S. SchwarzengrundおよびO4:i:-であった。河川の流量は12回のうち9回測定した。流量は2.9~9.0m³/sで平均5.1m³/sであった。9回の測定のうち、Salmonellaは6回検出され、このときのSalmonella菌数は0.36~1.5/100ml(平均0.62/100ml)であった。流量と100ml当たりの菌数から、測定時に1秒間に1.2~5.5 x 10⁴(平均2.92 x 10⁴)のSalmonellaが河川水とともに流れていると推定された。

Salmonellaは下痢症や食中毒の原因として主要な細菌であるとともに、広く環境中に存在していることが知られており、下水や畜産排水とともにSalmonellaが河川に流入し、河川を汚染する。わが国の他の河川でもSalmonellaは頻りに検出されている^{4,5)}。海に流入したSalmonellaは海水を汚染し、海水浴やサーフィンといったマリレジャーでの感染や、魚介類への2次的汚染を起こす原因となることが推定される^{1,2)}。今回の調査で得られたデータから、河口から100m離れると菌濃度は1/10程度であり、500m離れると1/100程度に減少することが観察された。今回の調査の範囲では河川水中のSalmonellaの菌数は低レベルであったが、12回の測定のうち43/100ml検出されたことがあり、高濃度の汚染の場合は河口周辺の海浜では十分に希釈されず、感染リ

表1 金目川の流量と *Salmonella* 菌数

測定日	水温(°C)	流量(m ³ /s)	<i>Salmonella</i>		血清型
			菌数(MPN/100ml)	菌数(MPN/s)*	
1 2005年7月19日	27.0	5.6	0.36	2.0 x 10 ⁴	Newport, O4:i:-
2 2005年8月15日	28.0	6.1	<0.36	—	
3 2005年8月29日	26.5	9.0	0.36	3.2 x 10 ⁴	Agona, Saintpaul, O4:i:-
4 2005年9月27日	21.0	5.0	<0.36	—	
5 2005年10月3日	—	—	0.73	—	O4:i:-
6 2005年11月28日	12.5	3.4	0.36	1.2 x 10 ⁴	Infantis, O4:i:-
7 2005年12月19日	6.8	2.3	<0.36	—	
8 2006年6月12日	19.5	8.0	0.43	3.4 x 10 ⁴	Mbandaka
9 2006年7月25日	22.0	—	0.036	—	Infantis
10 2006年8月30日	25.0	—	43	—	Agona
11 2006年9月26日	18.5	3.7	1.5	5.5 x 10 ⁴	Schwarzengrund, O4:i:-
12 2006年10月17日	20.0	2.9	0.75	2.2 x 10 ⁴	O4:i:-

*:河川流水における1秒あたりの菌数

スクがあることが懸念された。*Salmonella*の感染菌量は血清型や株あるいは宿主の状態など種々の要因により異なるとされているが、50個以下といった少数の摂取でも感染が成立することがあるとされている^{6,7)}。河口周辺においてサーフィンあるいは水浴により比較的大量の海水を摂取した場合に感染が成立する可能性があると推定される。

謝 辞

直読式電磁流速計の使用を快諾いただき、また流量データの解析にご協力をいただきました、神奈川県環境科学センター環境保全部 大塚知泰氏に深謝いたします。

(平成20年7月28日受理)

文 献

- 1) Prieto, M.D., Lopez, B., Juanes, J.A., Revilla, J.A., Llorca, J. and Delgado-Rodriguez, M.: Recreation in coastal waters: health risks associated with bathing in sea water, *J. Epidemiol. Community Health*, **55**, 442-447 (2001)
- 2) Minette, H.P.: Salmonellosis in the marine

environment. A review and commentary, *Int. J. Zoonoses*, **13**, 71-75 (1986)

- 3) 日向博文, 宮野仁, 柳哲雄, 石丸隆, 粕谷智之, 川村宏: 大島西水道からの黒潮系暖水流入時における相模湾表層循環流の短周期変動特性, *海の研究*, **12**, 167-184 (2003)
- 4) 熊正昭: *Salmonella*に関する調査研究(第2報)河川水の汚染状況, 長崎県衛生公害研究所報, 昭和48年度88-91 (1973)
- 5) 磯野利昭, 大久保忠敬, 小田隆弘, 田中恭生: 福岡市内河川の*Salmonella*汚染調査, 福岡市衛生試験所報, **2**, 28-31 (1976)
- 6) Vought, K.J. and Tatini, S.R.: *Salmonella* Enteritidis contamination of ice cream associated with a 1994 multistate outbreak, *J. Food Prot.*, **61**, 5-10 (1998)
- 7) Koch, J., Schrauder, A., Alpers, K., Werber, D., Frank, C., Prager, R. et al.: *Salmonella* Agona outbreak from contaminated aniseed, Germany, *Emerg. Infect. Dis.*, **11**, 1124-1127 (2005)