

報 告

清流復活水路等の親水施設における糞便性大腸菌群の測定

宮 垣 融 菊 地 幹 夫
(水道局)
佐々木 裕 子 草 野 友 子

1 はじめに

都内には親水施設として清流復活水路や海上公園などがあり、前者には下水処理水が再利用されている。これらの施設の水は人が飲むことを目的としたものではないが、子供等が入って触れる場合があるため、病原菌に関して十分な安全管理が求められている。

水環境の糞便汚染は消化器系伝染病の原因となる病原体が存在する可能性に直接つながるものである。糞便汚染の指標としては古くから大腸菌群が測定されてきた。しかし環境水の糞便汚染指標項目として見た場合、現行の大腸菌群試験では河川や土壤に常在する消化器に由来しない微生物群も併せて計数してしまうため、大腸菌群数と糞便汚染との相関を低めている。

そこで大腸菌群にかえて糞便性大腸菌群を測定することが提唱され、近年ではM-FC培地を用いるM-FC法が普及しつつある。この方法は、大腸菌群のうち糞便由来である*E.coli*などの4属が44.5℃という高温においても発育し、その生成する酸がアニリンブルー色素を青色にする反応を利用したものである。この方法の利点には、①測定の手技や取扱いが簡単で、迅速に菌数値が得られる、②大量の検水を一度にろ過できるので細菌数の少ない試料に対しても測定が可能となる、③試料中に存在する細菌の発育に影響を及ぼすような成分の一部をフィルターによってろ別できる、などが挙げられる。

そこでまずM-FC法を実施する上での問題点を検討し、この方法を用いて清流復活水路等の親水施設の糞便性大腸菌群による汚染の現況を検討した。

2 試験および調査

(1) 調査地点および調査項目

次の地点で、1992年と1993年の夏に数回の調査を実施し糞便性大腸菌群を測定した。なお、あわせて水質分析計(堀場製作所製水質チェッカU-10)を用いて、その

他の水質項目(pH、電気伝導率、濁度(NTU)、溶存酸素(DO)、水温)も測定した。

清流復活水路

玉川上水	放流口
野火止用水	ふれあい橋
野火止用水	万年橋
千川上水	境橋
千川上水	竹下橋

親水公園

お台場海浜公園
大井埠頭公園
葛西臨海公園

(2) 糞便性大腸菌群の測定方法

検水：滅菌した1ℓ容のポリプロピレンボトルに採水し、保冷して速やかに実験室に搬入した。

ろ過装置：アイソグリッドメンブランフィルター(孔径0.45μm)をアイソグリッドフィльтраーションユニット(グンゼ産業)に取り付けて使用した。

培地：M-FC寒天培地(Difco製)を精製水に加熱溶解した後、速やかに45℃に冷却し、pH値を7.4に調整した。なお本培地は滅菌せず、2～10℃の暗所に保存し、96時間以内に使用した。

操作手順：上記の検水を採水から6時間以内に滅菌水またはペプトン水で10倍ずつの3段階希釈後、各々100～50mlをアイソグリッドメンブランフィルターでろ過した。このフィルターをペプトン水で洗浄して、培地に移し、恒温水槽中44.5±0.2℃で培養を開始した。24±1時間後にメンブランフィルター上に発生した青色のコロニーを実体双眼顕微鏡を用いて計数し、上水試験方法「疎水性格子つきメンブランフィルターによる最確数の求め方」によって確定した。

(3) 釣菌した菌株の同定

フィルター上に発現したコロニーを単離してグラム染

色、酸化-発酵テスト (OFテスト) の後、ブドウ糖発酵性または非発酵性グラム陰性桿菌同定用IDテスト・EB-20「ニッスイ」とNF-18「ニッスイ」(日水製薬)により同定した。

3 結果と考察

(1) 試験上の問題点と菌株の同定

本試験方法は、菌の集落の発色に判定上の困難が生ずる場合があるとの報告がある²⁾。実際に培養するとコロニーは青いものから青みがかったグレー、グレー、無色透明なものなどいくつかのパターンがみられた。また、発現したコロニーの数の多少により、同一の検体でありながら、発色の度合いが異なることがあった。

そこで、典型的な青を示すもの以外のグループの中から14菌株を分離し、グラム染色、OFテストの後に市販同定キットによる同定を行った。

その結果、青みのあるコロニーだけに限定することにより糞便性大腸菌群を計数できることが示された。また、

大腸菌群4属は計数するとし、泌尿生殖器等の感染症に関連している *Klebsiella* については大腸菌群と合わせて計数するという上水試験方法³⁾の考え方によった。

(2) 清流復活水路等における糞便性大腸菌群数

以上の検討から発色が多少とも青みのあるものは糞便性大腸菌群とみなして計数し、その結果を表1に示した。

水浴場では糞便性大腸菌群数が1,000個/100mlを超えるものは不適と判定される。海域ではこの値を超える高い値は見いだされなかった。しかし清流復活水路ではこの値を超える高い値がときどき見出され、特に万年橋で値が高かった。なお公園のいわゆるじゃぶじゃぶ池では塩素消毒を行っていない場合に、糞便性大腸菌群が検出されることがあった。じゃぶじゃぶ池では塩素消毒による対応が可能であるが、河川や清流復活水路では塩素消毒は魚等の水生生物への影響が大きいため不可能である。

測定日によってデータがばらつきまた測定地点によっては高い値が検出される原因として、①底泥の巻き上げ

表1 清流復活水路等における糞便性大腸菌群数

	玉川上水 放流口					野火止用水 ふれあい橋					野火止用水 万年橋				
年月日	92/6/30	92/7/23	92/8/26	93/7/27	93/8/31	92/6/30	92/7/23	92/8/26	93/7/27	93/8/31	92/6/30	92/7/23	92/8/26	93/7/27	93/8/31
時刻	11:13	10:50	10:38	10:40	10:30	11:55	11:15	11:04	11:05	11:05	12:57	12:05	12:03	11:35	11:35
pH	6.6	6.7	6.6	7.1	6.8	6.6	6.7	6.6	7.2	6.9	7.1	7.1	7.3	7.7	7.5
電導度	521	514	544	449	503	519	516	561	459	520	512	525	557	471	531
濁度, NTU	1	1	0	1	7	1	5	2	1	2	13	14	21	15	20
DO, mg/l	6.8	5.7	5.4	8.3	7.3	6.0	4.7	4.3	7.5	7.0	6.7	5.4	6.2	7.5	7.1
水温, °C	22.2	24.2	26.1	23.2	24.4	21.8	24.3	26.2	23.4	24.3	21.0	25.3	27.0	24.0	24.4
FC100	5	43	55	60	150	40	620	460	190	640	8300	4700	3200	22000	4900

	千川上水 境橋					千川上水 竹下橋				
年月日	92/6/30	92/7/23	92/8/26	93/7/27	93/8/31	92/6/30	92/7/23	92/8/26	93/7/27	93/8/31
時刻	13:25	12:35	12:30	12:10	12:08	14:00	12:58	12:47	12:35	12:35
pH	7.2	7.2	7.4	7.6	7.4	7.4	7.4	7.5	7.6	7.5
電導度	492	477	469	402	469	468	454	498	367	472
濁度, NTU	28	26	22	19	19	24	35	33	61	54
DO, mg/l	7.7	6.6	7.1	7.5	7.1	7.5	6.6	6.2	7.4	7.0
水温, °C	20.8	24.9	26.1	23.7	24.0	19.9	27.3	28.4	25.7	25.4
FC100	3200	1300	1200	520	1800	3700	3000	2000	1900	4300

	お台場海浜公園		大井埠頭公園		葛西臨海公園	
年月日	92/8/06	92/9/08	92/8/06	92/9/08	92/8/06	92/9/08
時刻	9:25	9:33	10:05	10:05	14:10	13:35
pH	7.4	8.0	7.5	7.9	7.7	8.3
濁度, NTU	9	11	14	19	64	14
DO, mg/l	3.2	4.1	5.9	6.9	7.2	6.1
水温, °C	24.6	25.3	25.8	26.7	27.5	27
塩分	18.0	25.8	17.1	21.2	10.7	24.3
FC100	210	18	260	18	420	9

(注) FC100はM-FC法による100ml当たりの糞便性大腸菌群数を示す。

により底泥中に存在していた菌が検出された、②万年橋の上流の八坂付近においてアヒルが飼育されており、アヒルも糞便性大腸菌群の計数値に寄与する⁴⁾、等が考えられる。その他にも、汚水の流入やコイなどの魚が持っている腸内細菌の影響⁴⁾等が考えられるので今後さらに検討する必要がある。

米国、カナダあるいは欧州共同体では、水道原水水質基準、水浴場水質基準等に糞便性大腸菌群試験が加えられている。わが国においても、昭和58年に水浴場の水質判定基準項目としてはM-FC法による糞便性大腸菌群が妥当であるとの提言がなされ、翌年から実施にされてきた。また水質環境基準においてもM-FC法による糞便性大腸菌群試験が妥当と考えられると報告されている¹⁾。そして上水試験方法、下水試験方法、衛生試験法注解日本薬局方第10改正等に記載されるに至っている。なお最近大腸菌群の試験方法として新しく特定酵素基質培地法が提案されたが、M-FC法は菌数の少ない検体を扱う場合には操作の面でこの特定酵素基質培地法よりも適していると考ええる。

今後はこのM-FC法を河川水などの水質測定にも積極的に導入していきたいと考える。

参考文献

- 1) 環境庁：水質環境基準検討調査，昭和62年度環境庁委託業務結果報告書(1988)
- 2) 古畑勝則，松本淳彦：糞便汚染指標細菌としての大腸菌群に関する検討 1、水道協会雑誌，54，p.32-38(1985)
- 3) 厚生省生活衛生局水道環境部監修：上水試験方法 1985年版、日本水道協会
- 4) F.E.Geldreich:Sanitary significance of fecal coliforms in the environment ,Water Pollution Control Research Series, U.S Department of the Interior Federal Water Pollution Control Administration (1966)