

# 河川の大腸菌群

松本 宗人<sup>※</sup>・西 躰 雄二郎<sup>※</sup>・田 中 朗<sup>※</sup>

Muneto MATSUMOTO, Yūjiro NISHITAI and Akira TANAKA

On the Distribution of Coliforms in Fresh Water

## 1 緒 言

河川等水域の汚染度を判定するうえで大腸菌群細菌の存在は重要な指標となっており、ことに生物学的水質判定には必須のものとされている。いわゆる大腸菌群には人畜の腸管に由来する *Escherichia coli* を主体とした菌群と、自然界に存在する *Aerobacter aerogenes* や、これらの中間型のものが多く含まれている。

河川には雨水、地表水、下排水、地下水、その他が集まり、可溶性あるいは不溶性の諸成分が含まれ、水質も清水域から腐水域まで広範で、そのうえさまざまな要因が関与し細菌相も複雑であると考えられる。

そこで水中に存在する大腸菌群の菌数、菌型、菌の由来や動態、汚染とのかゝわりなどを明らかにする目的で以下の実験を行なった。松江市、持田川水系の汚染度の異なる4地点の水を、1年間月平均2回ずつ合計25回採水し、生菌数、大腸菌群数、大腸菌数、分離菌株についての培養的性状、IMVIC試験、血清試験を行なった。また汚染度の一般的指標として、濁度、過マンガン酸カリウム消費量、塩素量を定量した。

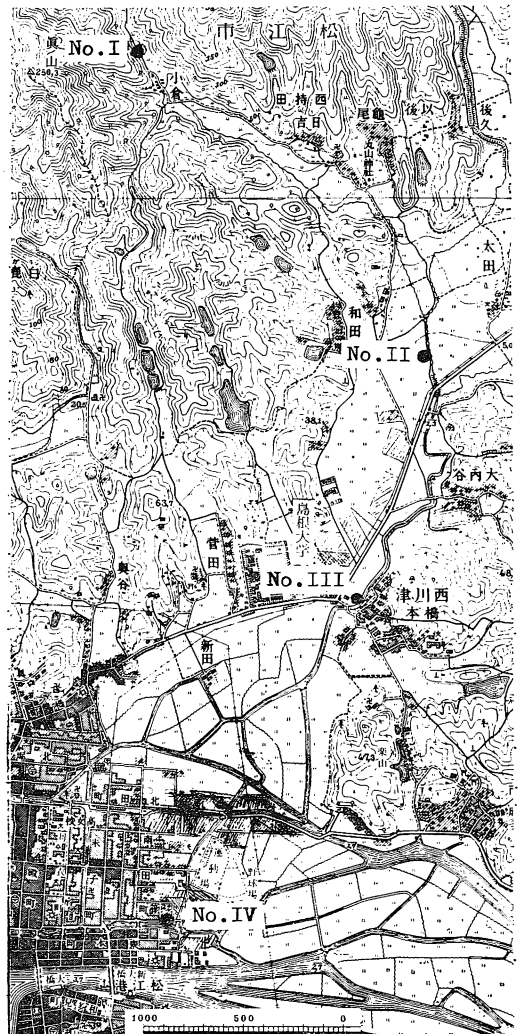
## 2 実 験

### (1) 試 水

清水性から腐水性の水を採取するため、あらかじめ予備試験を行ない、上流の清水域を基点とし生菌数がおおよそ10倍ずつ増加する4地点から採水した。

- No. I 上流や周辺にわずかな田畑があるのみで、人家のまったくないところ。川幅2~3m
- No. II 水田の間を流れ、上流や周辺に農家が散在する典型的な農村部。川幅5~6m
- No. III 水田と新興住宅、小工場の入りまじった市街近郊ではゞ平地。川幅約12m

No. IV 市街地を流れる堀川で、流れは遅く、停滞、逆流することもある。川幅約20m



第1図 試水採取地点

※ 応用微生物学研究室

(2) 理化学試験

水の汚染指標として濁度、過マンガン酸カリウム消費量、塩素量を定量した。濁度はカオリンで検量線を作製し、分光光度計(日立181型)、5cmセルを使用した。過マンガン酸カリウム消費量は酸性法によった。塩素量は硝酸銀法により塩素イオンとして算出した。

(3) 生菌数、大腸菌群数、大腸菌数

生菌数は普通寒天培地を用い、希釈平板培養法でコロニー数を計測し、大腸菌群数はLB培地を用い推定試験を行ない、更にBGLB培地で確定試験を行なって最確数を求め菌数を算出した。大腸菌数はEC培地を用い44.5°Cの恒温水槽中で48時間培養し、陽性試験管を計測し最確数を求めた。

(4) 菌株の性状

第1表 IMVIC試験による大腸菌群の分類

	Indol	M. R.	V. P.	Citrate
<i>E. coli</i> I	+	+	-	-
<i>E. coli</i> II	-	+	-	-
Intermediate I	-	+	-	+
Intermediate II	+	+	-	+
Intermediate (others)				
<i>A. aerogenes</i> I	-	-	+	+
<i>A. aerogenes</i> II	+	-	+	+

a 培養的性状

LB試験, EC試験の陽性試験管よりドリガルスキー改良培地と遠藤培地を用いて平板培養し、肉眼観察により類型を可給的に識別し得るコロニーをえらび鈎菌した。LB試験陽性でグラム染色陰性菌株を大腸菌群とし、以下b, cの実験に供するとともに、培養的性状を観察した。

b IMVIC 試験

大腸菌群全株を常法によりインドール生成, メチルレッド, VOGES PROSKAUER 反応, クエン酸塩培地培養試験を行ない次のように分類した。

c 血清試験

IMVIC試験の結果, *E. coli* I およびII型に分類した菌株について、各々の病原性の有無を抗血清による凝集試験を行なって確認した。血清は家兎O血清, K血清(北里研)を使用した。

3 結果および考察

(1) 理化学試験

a 濁度(第2表)

b 過マンガン酸カリウム消費量(第3表)

c 塩素量(第4表)

(2) 生菌数、大腸菌群数、大腸菌数

a 生菌数(第5表)

b 大腸菌群数(第6表)

c 大腸菌数(第7表)

第2表 試水の濁度

採水番号 (採水年月日)	1 (72.4.12)	2 (5.16)	3 (5.23)	4 (6.15)	5 (6.29)	6 (7.18)	7 (7.26)	8 (8.8)	9 (8.22)	10 (9.5)	11 (9.19)	12 (10.4)	
採水地 点	No. I	3	5	5	3	10	6	3	2	2	3	3	5
No. II	8	7	11	6	10	8	5	3	12	7	3	12	
No. III	16	18	16	36	17	13	17	16	27	35	14	22	
No. IV	28	23	32	24	20	18	43	53	27	36	12	24	
13 (10.16)	14 (11.1)	15 (11.14)	16 (12.4)	17 (12.19)	18 (73.1.9)	19 (1.31)	20 (2.12)	21 (2.16)	22 (2.27)	23 (3.13)	24 (3.27)	25 (4.13)	平均
2	2	3	2	3	3	1	1	1	2	2	2	2	3
5	4	5	5	15	11	5	3	2	3	3	6	10	7
20	26	26	11	11	18	7	11	8	8	9	9	18	17
22	22	19	14	18	32	30	24	36	34	20	15	37	26.5

第3表 試水のKMnO<sub>4</sub>消費量 (ppm)

採水番号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
採水地点	No. I	5.16	6.00	5.07	5.37	6.64	5.37	4.43	4.74	6.32	6.00	3.79	7.29
	No. II	5.56	7.69	7.27	9.48	11.38	6.32	6.32	6.32	14.22	10.11	4.42	11.69
	No. III	11.32	12.64	11.06	18.96	11.33	9.48	11.67	22.12	15.80	19.28	9.78	15.17
	No. IV	22.12	21.80	25.91	27.81	21.17	17.70	32.23	45.12	23.07	31.28	18.96	15.80
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	平均
3.79	5.06	4.11	3.79	3.16	4.11	2.84	2.84	2.53	2.84	2.53	4.42	5.37	4.32
6.95	7.90	8.22	4.74	5.06	5.39	4.74	3.79	3.79	4.11	4.74	6.94	13.59	7.23
12.32	12.64	15.80	11.06	6.64	6.00	6.95	6.64	11.69	7.90	7.90	10.43	18.01	12.10
27.49	19.91	19.59	15.17	17.06	12.32	25.28	19.59	31.60	17.06	19.28	20.86	31.08	23.17

第4表 試水のCl量 (ppm)

採水番号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
採水地点	No. I	15.60	17.73	16.31	17.02	17.02	19.15	19.86	21.28	18.44	17.73	17.73	16.31
	No. II	17.73	16.83	20.53	19.15	21.99	19.86	23.40	31.20	22.69	19.86	18.44	19.15
	No. III	26.24	24.11	23.40	25.53	24.11	21.28	26.24	34.04	23.40	21.28	21.28	21.28
	No. IV	43.97	41.18	41.28	40.42	69.50	41.13	70.92	103.54	72.34	118.44	42.60	43.97
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	平均
17.73	15.60	14.18	12.77	12.05	11.35	14.93	13.40	14.18	14.89	13.40	15.60	16.31	16.02
18.44	19.15	16.31	19.86	14.18	14.18	16.31	15.60	16.31	15.60	17.73	17.02	18.44	18.80
21.28	26.24	17.73	22.69	17.02	21.28	20.57	19.86	18.44	17.73	18.80	21.28	22.05	22.27
31.91	27.66	28.33	34.04	39.01	44.68	42.60	39.72	49.67	42.55	48.23	40.42	43.97	49.67

第5表 試水 1 ml 中の生菌数

採水番号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
採水地点	No. I	110	80	850	320	360	580	1,500	1,300	2,300	1,200	2,600	3,800
	No. II	1,600	3,500	2,200	3,600	5,500	3,100	12,500	7,500	8,100	15,000	32,000	35,000
	No. III	21,000	25,000	33,000	17,500	22,300	35,000	26,000	36,000	85,000	114,000	56,000	97,000
	No. IV	282,000	133,000	410,000	480,000	78,000	380,000	25,000	73,000	188,000	85,000	431,000	58,000
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	平均
960	950	400	300	210	420	95	55	41	45	120	190	220	760
10,500	2,400	4,500	8,600	1,600	3,000	750	800	320	400	510	610	2,300	6,700
45,000	3,900	75,000	104,000	13,000	8,500	7,700	8,400	11,800	5,800	5,500	9,700	35,000	36,000
103,000	17,000	208,000	22,000	45,000	41,000	120,000	49,000	260,000	15,200	25,700	43,000	81,000	146,000

第6表 試水 10ml 中の大腸菌群数

採水番号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
採水地点	No. I	11	17	9	49	11	130	920	220	350	540	350	1,600
	No. II	790	790	490	330	1,700	1,700	16,000	490	1,700	5,400	9,300	9,200
	No. III	3,300	4,600	4,900	7,900	7,900	54,000	7,900	7,900	54,000	17,000	7,900	92,000
	No. IV	111,000	11,000	79,000	54,000	2,000	49,000	4,500	31,000	70,000	7,800	79,000	49,000
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	平均
170	240	49	17	13	7	5	22	2	8	5	33	79	190
3,500	9,200	790	170	330	790	490	330	110	490	78	270	1,300	2,600
17,000	13,000	35,000	13,000	7,900	3,300	7,900	7,900	7,900	4,900	4,900	7,900	22,000	16,600
24,000	35,000	350,000	7,800	24,000	13,000	33,000	17,000	22,000	79,000	7,800	7,000	220,000	41,100

第7表 試水 100ml 中の大腸菌数

採水番号		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
採水地点	No. I	0	0	0	0	0	0	92	0	120	45	0	130
	No. II	45	78	45	170	490	700	1,700	78	9,200	2,200	790	17,000
	No. III	3,200	1,300	3,300	3,300	13,000	54,000	4,900	4,900	35,000	35,000	7,900	130,000
	No. IV	11,000	4,500	78,000	54,000	2,000	49,000	1,700	11,000	21,000	17,000	33,000	11,000
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	平均
45	0	0	0	0	0	0	45	0	0	0	0	0	20
790	20	2,400	230	78	110	1,700	330	40	45	93	36	68	1,500
3,300	3,300	54,000	35,000	13,000	3,300	4,900	4,900	3,300	3,300	17,000	7,000	3,300	18,000
110,000	17,000	350,000	7,800	11,000	13,000	33,000	7,800	17,000	4,600	4,900	23,000	78,000	62,000

第8表 平均菌数と比率(100ml中)

	生菌数 (A)	大腸菌群数 (B)	$\frac{(B)}{(A)} \times 100$ %	大腸菌数 (C)	$\frac{(C)}{(B)} \times 100$ %
No. I	76,000	1,900	2.5	20	1.1
No. II	670,000	26,000	3.9	1,500	5.8
No. III	3,600,000	166,000	4.6	18,000	10.8
No. IV	14,600,000	411,000	2.8	62,000	15.1

濁度は他の時期に比べ冬期は減少する傾向を示しているが、最も汚染の進んでいる No. IV 地点ではあまり季節的变化はみられない。

過マンガン酸カリウム消費量、塩素量はともに夏期に増大し冬期は減少する傾向を示すが、汚染水域では濁度と同様に季節的变化は少なく、それよりも採水時の条件

等による差が大きい。No. I 地点の塩素量は各採水時の幅が小さいのに対し、No. IV 地点では大きな差を生じている。これらは汚染域である下流では流れが非常に緩慢で、藻類の発生や、その他諸要因が影響しているためと考えられる。

生菌数、大腸菌群数はともに时期的に相当な変動があ

り冬期は減少する。これは清水域ほど顕著で、下流の汚染の進んでいる地点では差が小さくなっている。大腸菌は上流や周辺に人家のない No. I 地点では全試水の約4分の3には存在せず、検出した水でも菌数は少なかった。大腸菌は従来人畜の腸管からのみ由来するといわれているが、数回検出された菌が人為的あるいは動物によるものか、排泄物とは直接かゝりわないものかを判断するのは困難である。No. II, III, IV地点の大腸菌数は生菌数、大腸菌群数と似た傾向を示していた。総体的に菌数は採水時の条件により相当大きな差があった。

生菌数に対する大腸菌群数の占める率が各地点とも平均3~5%とほぼ一定しているのに比べ、大腸菌群数に対する大腸菌数は1~15%で清水域では少ないが、汚染が進むに従って著しく増加している(第8表)。

(3) 菌株の性状

a 培養的性状

分離培養した No. I 地点60株, No. II 地点118株, No. III地点129株, No. IV地点 144株, 合計 451株の培養

的性状について検討した。まず普通寒天培地, 糖添加培地, 合成培地, ドリガルスキー改良培地, 遠藤培地等を用いてコロニーの色調, 形態等を観察した結果, ドリガルスキー改良培地がもっとも菌株間の特徴を示したのでこれを使用した。

色調は黄, 青黄, 白または青白色の3系で, 表面隆起はやゝ厚い flat, convex, capitate の3種があり, 周縁は entire であった。大きさは中型(やゝ小型を含む)または大型であった。普通寒天斜面培養を一定期間(5~6週間)置くと淡褐色をおびる株と, それ以上経過しても白色を維持する株とがあり, flat コロニーは前者であるが, capitate コロニーは後者で, convex コロニーには両方が含まれていた。糖添加培地斜面では広い糸状で光沢を有するが, 一部に皺状または紋状を示す株も存在した。液体培養での皮膜または菌環の形成は多くは形成しなく, 形成菌でも可変的な株が多かった。培養的性状を続いて行なったIMVIC試験の結果と照合すると第9表のようになった。

第9表 菌 株 の 性 状

	<i>E. coli</i>	Intermediate	<i>A. aerogenes</i>
コロニー (ドリガルスキー改良培地)	黄 ◎flat, convex ◎中 大	○青黄, 白(青白), 黄 ○convex, capitate ○大 中	◎白(青白), 青黄 ○capitate, convex ○大 中
斜面培養 A	◎淡褐色, 半白色	○淡褐色, 白 色	◎白 色, 淡褐色
B	◎糸 状, 皺 状	糸 状	糸 状

[註] 斜面培養A: 普通寒天培地, 1ヶ月経過後  
" B: 標準寒天培地  
◎大部分を占めている。  
○過半数を占めている。

b IMVIC試験

4地点より分離した合計451株についてIMVIC試験を行なった結果は第10表-1, 2のようであった。

*E. coli* は各採水地点ともI型が大部分を占め, II型はごく少数存在するのみであり, 水の汚染度と類型は無

関係であると考えられる。*A. aerogenes* においても大部分がI型で, II型は少数であった。

Intermediate と *A. aerogenes* の比率は清水域ではIntermediate が多いが, No. I 以外では逆の値を示し *A. aerogenes* が多かった。

第10表-1 IMVIC試験による分類

	<i>E. coli</i>		合 計
	I	II	
No. I	22	0	22
No. II	72	1	73
No. III	79	1	80
No. IV	82	2	84

第10表-2 IMVIC試験による分類

	Intermediate			<i>A. aerogenes</i>		合 計
	I	II	others	I	II	
No. I	6	7	11	12	2	38
No. II	5	2	7	28	3	45
No. III	4	3	9	32	1	49
No. IV	5	3	9	41	2	60

### c 血清試験

IMVIC試験により *E. coli* に分類した259株の各々について血清による凝集試験を行なった。全株中、No. IV地点で13回目(10月16日)に採取した水から分離した1株がO86型菌であり、他はすべて陰性であった。この結果、この川水中に存在する *E. coli* のうちで病原性菌株は、水の汚染の程度にかかわらず極めて稀であることを確認した。なおこの菌株は培養的性状、生理的性質とも典型的な大腸菌であった。

## 4 要 約

清水域から腐水域にいたる川の4地点より毎月2回1年間採取した試水について、常法により濁度、 $KMnO_4$ 消費量、塩素量、生菌数、大腸菌群数、大腸菌数を測定した。さらにLBおよびEC培養陽性管より分離した各菌株について培養的性状、IMVIC試験、血清試験を行ない類型別を試みた。

大腸菌群は清水域から腐水域まで広い範囲の河川水中に存在していたが、汚染度が進むに従って *E. coli* の占める率が大きくなり *A. aerogenes* と中間型は減少していた。生菌数、大腸菌群数、大腸菌はともに汚染度と平行しているが、気温の低い冬期は減少する傾向を示している。*A. aerogenes* と中間型の比率はNo. I地点では中間型が主体をなしているが、他の地点では逆の値を示

しており、これは土壤中など自然界には *A. aerogenes* よりも中間型が多いためであると考えられる。

大腸菌群は培養的性状により、ある程度まで判別は可能である。ドリガルスキー改良培地平板培養で *E. coli* と *A. aerogenes* の判別は可能であるが、*E. coli* と中間型とはやゝ困難であり、中間型と *A. aerogenes* の判別は不可能であった。

*A. aerogenes*, *E. coli* はともにI型が大部分を占め、II型が少なかったのに対し、中間型はI, II, othersとも極端な違いはなかった。病原性大腸菌は259株中1株存在したのみであった。

## 参 考 文 献

1. 厚生省編：衛生検査指針 IV, 協同医書, 東京, 5~145, 1963.
2. 医化学研究所編：細菌学実習 提要, 丸善, 東京, 139~146, 199~241, 1970.
3. PEARSON, E. A.: *Advances in Water Pollution Research* 3 Pergamon Press: 27-35, 1965.
4. HENDRICKS, C. W.: *Appl. Microbiol.* 24: 167-174, 1972.
5. VAN DONSEL, D. J. and GELDREICH, E. E.: *Water Research* 5: 1079-1087, 1971.

## Summary

The relationship between the degree of pollution and the types of coliforms in the water of the Mochida, a rural stream in Matsue City, were investigated. Waters were sampled at 4 stations ranging from the nonsaprobic upper part to the saprobic lower part along the stream twice monthly from 12/Apr. 1972 to 13/Apr. 1973.

Coliforms were found in all samples, and the number of total bacteria, coliforms and *E. coli* increased parallel to the pollution degree. The ratio of coliforms to total bacteria number was about 3-5% for the all samples investigated. The ratio of *E. coli* to coliforms, however, was 1-15%, and increased markedly with the pollution degree. Intermediate types dominated over *A. aerogenes* at the nonsaprobic upper stream. Most of *E. coli* and *A. aerogenes* isolated were identified to type I. Only one strain of pathogenic *E. coli* was found in 259 strains examined.