



河川水中に於ける緑膿菌，大腸菌群および大腸菌に関する研究(第1報)

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 北海道教育大学 公開日: 2012-11-07 キーワード: 作成者: 青井, 陽 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.32150/00003362

河川水中における緑膿菌，大腸菌群および大腸菌に関する研究
〈第1報〉

青 井 陽

北海道教育大学旭川分校保健学教室

Studies of *Pseudomonas aeruginosa*, Total coliforms and Fecal coliforms in the River Waters (Part 1)

Yo AOI

Department of Health Science, Asahikawa College, Hokkaido University of Education,
Asahikawa, 070

Abstract

The numbers of *Pseudomonas aeruginosa*, the total number of coliforms and the fecal coliforms in the Ushubetsu river were investigated during the summer. The MPNs of the *Pseudomonas* were 5, 5 and 17/100ml in the samples taken from Hinode, Shin and Kojin on 7 July, 1985, respectively; 13 and 5/100ml in Hinode and Shin on 30 July, 1985, respectively. The MPNs of total and fecal coliforms in Hinode on 7 July, 1985, were 1.72×10^6 and $7.0 \times 10^5/100\text{ml}$ respectively. The numbers of both coliforms were high down stream and low up stream. Fecal coliforms were detected at Pepan which is located in the mountain. The MPNs of the *Pseudomonas* evaluated with LB were slightly higher than those evaluated with NACB.

緒 言

緑膿菌は、表層水¹⁻⁵⁾、土壌^{6,7)}、ヒトおよび動物の糞便⁸⁻¹¹⁾、植物体表面等¹²⁻¹⁴⁾に広く分布していることが知られており、これらが汚染源として重要であることが示唆されている^{15,16)}。緑膿菌は河口域や都市域の河川水中から高率に分離される^{4,5)}。ただ、本菌が河川水中の常在菌であるか否かについては不明である¹⁷⁾。

旭川市街を貫流するすべての河川は同市周囲の山地に水源をもち、比較的短い流程の後、旭川市周辺または市内で合流し石狩平野へ流出する。これらの河川は河川水が人間活動によって汚染され

てゆく様相を端的に表現すると思われる。

著者は前報において、冬期における旭川市内を貫流する河川水中の緑膿菌および大腸菌の分布について報告した¹⁸⁾。本研究では夏期における牛朱別川水系の緑膿菌、大腸菌群および大腸菌の分布について報告する。また、乳糖ブイヨン培地を用いた最確数法による河川水中の緑膿菌の算出について若干の考察を行ないたい。

材料および方法

1 採水地点、採水方法、日時および天候

石狩川支流である牛朱別川水系において採水を行なった。採水地点は前報¹⁸⁾と同じである(ただし米飯については前報より更に上流で採水を行なった)。各採水地点の河水面ほぼ中央へ滅菌採水びんを投下して、検水を採取した。採水日は1985年7月10日および30日の2日間で、9時から13時の間に採水を行なった。天候は両日ともに晴、水温は米飯において7月10日は14.0℃、7月30日は14.5℃であり、これ以外の採水地点においては21℃から24℃の間であった。

2 培地

使用した培地は以下の通りである。NAC ブイヨン培地 (NACB)、NAC 寒天培地 (NACA)、乳糖ブイヨン培地 (LB)、BGLB 培地、EMB 培地、普通寒天培地、クリグラー確認培地、SIM 培地、シモンズクエン酸ナトリウム培地、ブドウ糖リン酸ペプトン培地、VP 半流動培地、King A および B 培地 (以上栄研化学)。

3 緑膿菌数

河川水中の緑膿菌数は以下の方法によって算出した。検水10mlづつを2倍濃度 NACB 10mlへ5本、1倍濃度 NACB 10mlへ1mlおよび0.1mlづつそれぞれ5本接種し、37℃で96時間まで培養した。菌の発育が認められた試験管から0.01mlを NACA 平板へ接種した。37℃で48時間培養後発育したコロニーを、平板1枚当5~10個釣菌し緑膿菌の同定を行なった。緑膿菌が分離された試験管数から最確数を算出し、検水中の緑膿菌数とした。

また、河川水中緑膿菌の算出について、NACB と LB の性能の比較を行なう目的で以下の実験を行なった。7月10日において大腸菌群最確数の算出に用いた LB から同時に NACA 平板へ0.01mlを接種し、緑膿菌の存在の有無を調べた。LB は37℃で7日間培養を行ない、この間1日、3日および7日目に NACA 平板への接種を行なった。その結果から緑膿菌の最確数を算出した。

4 緑膿菌同定のための諸試験

緑膿菌同定のために以下の生物化学的試験を行なった。グラム染色、鞭毛染色、42℃における発育、グルコン酸酸化試験、アルギニン水解試験、King A および B 培地を用いた色素産生試験、オキシダーゼ試験、アシルアミダーゼ試験、ブドウ糖およびマニトールの OF 試験、シモンズクエン酸ナトリウム培地によるクエン酸利用、クリグラー確認培地を用いたブドウ糖非発酵性、および硝酸塩環元試験。

5 大腸菌群および大腸菌数

LB、BGLB および EMB 培地を用いた、推定、確認および完全試験を行ない、最確数法によって検水中の大腸菌群および大腸菌数を算出した。BGLB 発育菌中、グラム陰性無芽胞菌で乳糖を分解し酸およびガスを産生するものを大腸菌群とし、また大腸菌は IMVIC テストによって同定した。

6 一般細菌数

1%ブドウ糖加普通寒天を用いた混積平板法によって一般細菌数を算出した。

結 果

I 河川水中の緑膿菌、大腸菌群、大腸菌および一般細菌数について

Figure 1に1985年7月10日の、またFigure 2に7月30日の、牛朱別川における緑膿菌、大腸菌群および大腸菌の最確数(／100ml)および一般細菌数(／100ml)を示す。

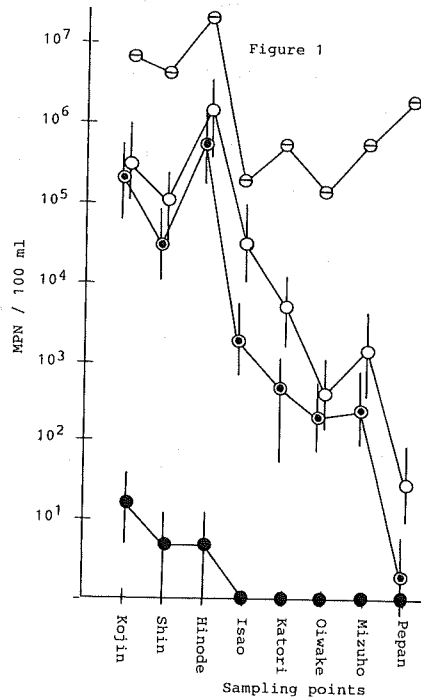
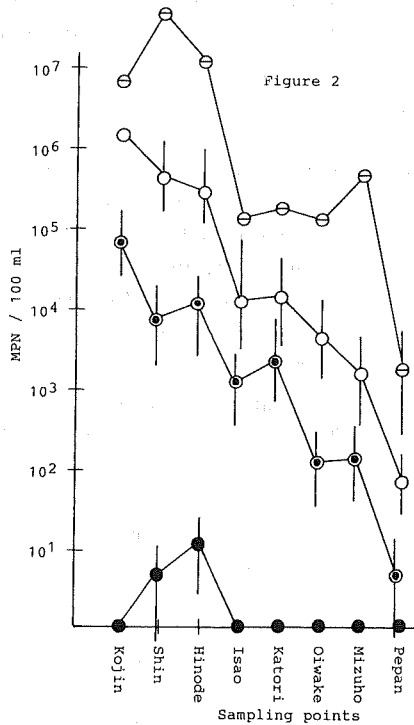


Figure 1. The MPNs of *Pseudomonas aeruginosa*, total coliforms and fecal coliforms and CFU of total bacteria in river waters in each sampling point of Ushubetsu river on 10 July, 1985.

- : *P. aeruginosa*
- : Total coliforms
- : Fecal coliforms
- ⊖ : CFU of total bacteria

Figure 2. The MPNs of *Pseudomonas aeruginosa*, total coliforms and fecal coliforms and CFU of total bacteria in river waters in each sampling points of Ushubetsu river on 30 July, 1985.

- : *P. aeruginosa*
- : Total coliforms
- : Fecal coliforms
- ⊖ : CFU of total bacteria

7月10日において緑膿菌を検出した採水地点は、旭川市街中心部又はこれより下流に位置する日出橋、新橋および江神橋であり、その数はそれぞれ、5,5および $1.7 \times 10^1/100\text{ml}$ であった (Figure 1)。

これら以外の採水地点においては緑膿菌は検出できなかった。大腸菌群は米飯において $3.3 \times 10^4/100\text{ml}$ であり、端穂においては $1.72 \times 10^3/100\text{ml}$ と急増し、更に下流へ向かうにしたがって増加してゆき、日出橋においては $1.72 \times 10^6/100\text{ml}$ と高い値を示した。また、大腸菌は米飯において微量であるが検出され ($2/100\text{ml}$)、大腸菌群同様に下流へ向かうに従って増加してゆき、日出橋において最大値 $7.0 \times 10^5/100\text{ml}$ を示した。

7月30日において緑膿菌を検出した採水地点は、日出橋および新橋であり、その数はそれぞれ 1.3×10^4 および $5/100\text{ml}$ であった (Figure 2)。これら以外の採水地点においては緑膿菌は検出できなかった。大腸菌群は米飯において $7.9 \times 10^4/100\text{ml}$ であり、以後下流へ向かうに従って増加してゆき、7月10日同様日出橋から急増し、最大値は江神橋における $1.6 \times 10^6/100\text{ml}$ であった。大腸菌は米飯において少数 ($6/100\text{ml}$) が算出され、大腸菌群同様下流へ向かうに従って増加してゆき、日出橋において $1.2 \times 10^4/100\text{ml}$ 、新橋で $9.0 \times 10^3/100\text{ml}$ 、また江神橋においては $7.9 \times 10^4/100\text{ml}$ であった。

II 乳糖ブイヨン培地を用いた最確数法による緑膿菌数の算出

7月10日における大腸菌群および大腸菌算出のために検水を接種した乳糖ブイヨン培地 (LB) から、菌液を 0.01ml NACA 平板へ接種し、 37°C 48時間培養後発育したコロニーが緑膿菌であるか否かを調べこの結果から最確数法による検水中の緑膿菌数を算出した。その結果を Table 1 に示す。対照として NAC ブイヨン (NACB) を用いて算出した緑膿菌の最確数を示す。

培養1日目、日出橋において $3.3 \times 10^4/100\text{ml}$ と NACB を用いた最確数よりも高い値が示された。また功橋および香取橋においては NACB を用いた時緑膿菌は検出されなかったが、LB を用いた場合には培養1日目に功橋で2個、また香取橋でも培養3日目に2個算出された。

Table 1. MPNs of *Pseudomonas aeruginosa*, compare the sensitivity with NACB and LB, in Usubetsu river waters on 10 July, 1985. The MPNs were evaluated with NACB and with the same sets of coliforms culture tubes of LB.

Sampling points	MPN/100ml by LB			MPN/100ml by NACB
	1st	Day 2nd	7th	
Pepan	0	0	0	0
Mizuho	0	0	0	0
Oiwake	0	0	0	0
Katori	0	2	2	0
Isao	2	0	0	0
Hinode	33	7	9	5
Shin	7	4	4	5
Kojin	11	7	11	17

考 察

本研究で緑膿菌が検出された採水地点は、7月10日においては日出橋、新橋および江神橋であり、また7月30日においては日出橋および新橋と、いずれも牛朱別川水系最下流の、都市域又はこれよりも下流に位置する個所に限られていた。冬期においてはこれらの採水地点ばかりではなく、更に上流に位置する香取橋および功橋においても緑膿菌は検出されている¹⁸⁾。検出地点の減少ばかりではなく、その算出数も夏期は冬期に比べてほぼ等しいか幾分少ないように思える。

緑膿菌は多くの化合物を代謝し¹⁹⁾、貧栄養下でも増殖が可能な細菌である。蒸留水中でも増殖することが知られており^{20, 21)}、また水温が 30°C 以上になると急速な増殖が起こる²²⁾と言われている。夏期における河川水温度は米飯では約 14°C 、これ以外の地点では 21°C から 24°C の間であったが、水田や溜池等の滞溜水の表面温度はこれよりも高かったろう。また、工場廃水や生活廃水の水温も冬

期に比較して上昇していたと考えられる。今回、夏期において都市域以外の採水地点において緑膿菌が検出されなかったことは興味深い。

大腸菌群および大腸菌についてはその増減はよく一致しており、ともに上流では少なく下流の都市域において高い値を示した。また人口稠密地である功橋と日出橋を境として急激に増加する傾向が認められる。一般細菌の増減についても7月30日にはこの2種の増減とよく一致していた。また、米飯は森林を植生の主体とする山地内に位置し、人間活動による汚染の影響をほとんど受けないと思われるが、少数の大腸菌を検出している。これらの現象は大腸菌群および大腸菌は清浄水中にも存在するが、その増加に最も影響を与えるものは人間活動であって、特に都市域においてはその効果が端的に現われることを示すものと思われる。

緑膿菌数算出のための最確数法用培地としてLBは、NACBよりも幾分感受性が高いように思われる。

LBは乳糖利用菌の増殖に対して有利な培地であるが乳糖非利用菌である緑膿菌もまた良好に発育する。大腸菌と緑膿菌をLB中で混合培養すると24時間後、ともに 10^8 /ml台にまで増殖する。これ以後大腸菌数は急速に減少するが緑膿菌数はほぼ一定である(青井：未発表)一方NACBの発育抑制力は緑膿菌に対しても相当に強い。普通ブイヨンを用いて培養した緑膿菌を用いた場合、NACBを用いた最確数法によって算出した菌数は、普通寒天を用いた混釈法による数値よりも小さくなる(青井：未発表)。NACBでは増殖できない緑膿菌が河川水中にも存在しているとしたらNACBは最確数法に用いる培地としては不適であろう。

河川水中の細菌群がLBに接種された時にどのような挙動を示すのかは不明であるが、緑膿菌が 10^2 /ml以上に増殖できるのだとしたら、LBを緑膿菌算出用の最確数法培地として用いることができるかもしれない。今後、緑膿菌の最確数法用培地にLBを用いることについて検討を行なってゆくつもりである。

要 約

牛朱別川水系において夏期河川水中の緑膿菌、大腸菌および大腸菌の分布を調べた。緑膿菌の最確数は7月10日には日出橋、新橋および江神橋においてそれぞれ5,5および 1.7×10^5 /100mlであり、7月30日には日出橋および新橋においてそれぞれ 1.3×10^5 および5/100mlであった。緑膿菌はこれ以外の採水地点からは検出できなかった。大腸菌群および大腸菌は上流で少なく下流で多かった。人口稠密地においては極めて多く、7月10日には日出橋において、大腸菌群および大腸菌はそれぞれ 1.72×10^6 および 7.0×10^5 /100mlであった。また、大腸菌は山岳中に位置する米飯においても少数算出された。LBを用いた最確数法によって算出された緑膿菌数はNACBによるそれよりも幾分多かった。

引用文献

1. Hoadley A. W. and G. Ajello., 1972. Some characteristics of fluorescent pseudomonades isolated from surface waters and capable of growth at 41 c. Can. J. Microbiol. 18: 1769-1773.
2. Hoadley A. W., E. McCoy and G. A. Rohlich., 1968. Untersuchungen von Pseudomonas aeruginosa in

- Oberflächengewässern. II. Auftreten und Verhalten. Arch. Hyg. Bakteriol. 152 : 339-344.
3. Ringen L. M. and C. H. Drake., 1952. A study of the incidence of *Pseudomonas aeruginosa* from various natural sources. J. Bacteriol. 64 : 841-845.
 4. 児玉博英ほか1974. 河川水からの緑膿菌分離とその血清型分布 感染症学雑誌48 : 385-392.
 5. 奥田敬一1983. 河川水中の *Pseudomonas aeruginosa* の分布状況およびその血清群別, エラスターゼ産生性ならびに薬剤感受性について 感染症学雑誌 57 : 24-32.
 6. Cho J. J. et al., 1975. Ornamental plants as carriers of *Pseudomonas aeruginosa*. Phytopathology 65 : 425-431.
 7. Green S. K. et al., 1974. Agricultural plants and soil as a possible reservoir for *Pseudomonas aeruginosa*. Appl. Microbiol. 28 : 987-991.
 8. Hoadley A. W., E. McCoy and G. A. Rohlich., 1968. Untersuchungen von *Pseudomonas aeruginosa* in Oberflächengewässern. I. Quellen. Arch. Hyg. Bakteriol. 152 : 328-338.
 9. Mills G. Y. and B. M. Kagan., 1954. Effects of oral polymyxin B on *Pseudomonas aeruginosa* in the gastrointestinal tract. Ann. Intern. Med. 40 : 26-32.
 10. Hurst V. and C. W. Lane., 1967. Quantification of *Pseudomonas aeruginosa* in feces of healthy human adults. Health Lab. Sci. 4 : 245-249.
 11. Hoadley A. W. and E. McCoy., 1968. Some observation on the ecology of *Pseudomonas aeruginosa* and its occurrence in the intestinal tracts of animals. Cornell Vet. 58 : 354-363.
 12. Shooter R. A. et al., 1971. Isolation of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella* from food in hospitals, canteens, and schools. Lancet 2 : 390-392.
 13. Shooter R. A. et al., 1969. Food and medicaments as possible sources of hospital strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Lancet 1 : 1227-1229.
 14. Kominos S. D. et al., 1972. Introduction of *Pseudomonas aeruginosa* into a hospital via vegetables. Appl. Microbiol. 24 : 567-570.
 15. Cherrington V. A. and E. M. Gildow., 1931. Bovine mastitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 79 : 803-808.
 16. Conthran W. W. and J. B. Halten., 1962. A study of an outdoor swimming pool using iodine for water disinfection. Stud. Med. 10 : 493-502.
 17. Hoadley A. W., 1977. in *Pseudomonas aeruginosa : Ecological Aspects and Patient Colonization* ed. V. M. Young. Ravan Press, New York p. 31.
 18. 青井 陽 1985 河川水中における緑膿菌および大腸菌群に関する研究 北海道教育大学紀要(第二部 C) 36 : 13-20.
 19. Doudoroff M. and N. J. Palleroni., 1974. in *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* ed. R. E. Buchanan and N. E. Gibbons. The Williams & Wilkins Co., Baltimore p. 217-243.
 20. Favero M. S. et al., 1971. *Pseudomonas aeruginosa* : growth in distilled water from hospitals. Science 173 : 836-838.
 21. Kayser W. V., 1975. Bacteriological evaluation of an ultra pure water distilling system. Appl. Microbiol. 30 : 704-706.
 22. Hoadley A. W., 1977. in *Pseudomonas aeruginosa : Ecological Aspects and Patient Colonization* ed. V. M. Young. Ravan Press, New York p. 34.