



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	糞便より得た大腸菌群(Coliform group)の菌型分布に関する研究
Author(s)	桑原, 麟児; 立花, 一豊; 喜納, 政修 他
Citation	衛生工学, 11, 37-45
Issue Date	1965-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/36174
Type	departmental bulletin paper
File Information	11_37-45.pdf



糞便より得た大腸菌群 (Coliform group) の菌型分布に関する研究

桑原 麟児* 立花 一豊** 喜納 政修**
厚谷 純吉*** 佐藤 章***

Type distribution of coliform bacteria in human
and some warm-blooded animal feces

Rinji KUWAHARA, Kazutoyo TACHIBANA,
Seishu KINA, Zyunkichi ATSUYA
and Akira SATO

In this paper, IMViC procedure for the classification and identification of coliform bacteria were used.

520 human, 200 dog and 200 rabbit coliform strains isolated from fecal samples of 26 men, 10 dogs and 10 rabbits, and 180 strains from nightsoil and 80 strains from supernatant from a digestion tank were examined by these tests.

In human samples, E.coli type I was predominated having 86.1% of all. In dog samples, there existed no species except E.coli I. In rabbit samples, two types of E.coli I and II were predominant, representing 67.5% and 17.5% respectively.

In nightsoil samples, there were three dominant types, i.e. E.coli I, Intermediate I and irregular type(---+), representing 71.6%, 6.1% and 11.0% respectively. All strains isolated from supernatant of the digestion tank were classified to E.coli I.

1 ま え が き

大腸菌群は水の汚染指標として世界各国で用いられ、わが国では厚生省の飲料水判定基準¹⁾、水道法による上水の基準²⁾、下水道法による放流下水の基準³⁾においても、唯一の汚染指標細菌として用いられている。こゝにいう大腸菌群とは、好気性あるいは通性嫌気性のグラム陰性の桿菌で芽胞を形成せず、乳糖加培地に35～37℃で培養して48時間以内に酸およびガスを出すすべての細菌を指している。このことは、たとえヒトおよび他の動物の糞便に由来しないものでも、前記の条件を

* 衛生学水質学講座(教授)
** 大学院学生
*** 札幌医科大学公衆衛生学教室

満足すれば、大腸菌群と判定されることを意味する。従つて大腸菌群のなかには当然糞便に由来しないものも存在し、ために汚染指標としての意義に若干の疑義が生ずることは否めない。この疑問に対して一方ではIMViC反応による分類が用いられ、それによつてEscherichia coli IおよびII（以下E.Coli IおよびIIと略称する）を糞便由来性とする方法がとられている。アメリカ合衆国のStandard methodes⁴⁾にも第1表の如く記されている。

もしも、ヒトの糞便から分離された大腸菌群の大部分が、E.coliであるならば、われわれは、汚染の真の指標として、E.coliを考えた方がよいであろう。著者らはこのような観点から、ヒト、犬、家兎の糞便から分離した大腸菌群をIMViC反応によつて分類し、また尿尿処理場において生尿尿及び消化槽脱離液を採取し同様の試験を行い、これら試料の同菌群の菌型分布に関して若干の知見を得た。ここに発表する。

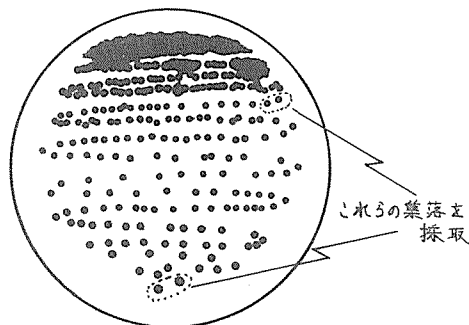
第1表 IMViC反応による大腸菌群の分類

試 験 分 類	インドール 反 応	メチールレ ッド反 応	Voges Proskauer反応	クエン酸 ソーダ 試験	由 来
Escherichia coli I	+	+	—	—	糞便性
II	—	+	—	—	
Intermediate I	—	+	—	+	非糞便性
II	+	+	—	+	
Aerobacter I	—	—	+	+	
aerogenes II	+	—	+	+	

2 試料および試験方法

(1) 試 料

ヒトの試料は、男女を問わず学童および成人計26名から得た。犬は本学医学部病理学教室の実験用の犬および家庭の飼犬計10頭から得、家兎試料もまた本学医学部病理学教室の実験用家兎10匹から得た。生尿尿および消化槽脱離液（以下脱離液と称す）は札幌市北光処理場において採集した。



第1図 採取集落

(2) 試験方法

採取した試料は一白金耳をとり、乳糖ブイヨンに36℃1昼夜培養し、これを1試料につき5枚のEMB平板培地に36℃1昼夜分離培養した。EMB培地上の集落を定型、非定型を問わず第1図の如く画線から独立した最前部2個、最後部2個づつをとつて、斜面寒天培地に移植した。これを5枚全部に行ない1試料から20菌株を得て、これをIMViC反応によつて分類した。

IMViC反応は、インドール反応については、Salkowski-北里の法、Methyl Red と Voges-Proskauer の反応は、伝研細菌学実習提要⁵⁾ の本法により、クエン酸ソーダ試験は Simonds の培地（栄研）を使用した。

3 試 験 成 績

1) ヒ ト

ヒトについては26人より得て、分離した1試料20菌株ずつ計520菌株について試験した。試験結果は第2表に示すように86%が、E. coli Iであり、ついで4%がE. coli IIであつた。Irregular typeは非常に少なく、そのすべてを合計しても、たかだかる3%にすぎなかつた。各個人別について見ると、第3表のように、全部E. coli Iのもの、26人中12人で、またE. coli IおよびIIのみのもの3人であり、これらをあわせて全菌株がE. coli のみのものが26人中15人(57.7%)を占めた。

第2表：動物別糞便中の大腸菌群の分布

菌 型	IMViC				ヒ ト		犬		家 兎	
	インドール反	メチルレッド反	Voges-Proskauer反	クエン酸ソーダ試験	数	百分率(%)	数	百分率(%)	数	百分率(%)
Escherichia coli I	+	+	-	-	448	86.15±1.50	200	100.0	135	67.50±3.31
II	-	+	-	-	21	4.00±0.85			35	17.50±2.68
Intermediate I	-	+	-	+	6	1.15±0.46			5	2.50±1.10
II	+	+	-	+	6	1.15±0.46			21	10.50±2.16
Aerobacter aerogenes I	-	-	+	+	14	2.69±0.71			2	1.00±0.70
II	+	-	+	+	6	1.15±0.46			1	0.50±0.49
Irregular types	+	+	+	+	4	計 19 3.65±0.81			1	0.50±0.49
	+	+	+	-	3					
	+	-	-	+	1					
	+	-	-	-	4					
	-	+	+	+	3					
	-	+	+	-	2					
	-	-	-	+	2					
計					520	100.0	200	100.0	200	100.0

第3表：ヒトにおける各試料別大腸菌群菌型分布

試 料 分 布		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	
菌 型																
Escherichia coli I	I	20	19	19	19	18	17	17	17	16	15	13	9	7	4	
II	II		1				1		1	3	1		11	1		
Intermediate I	I													6		
II	II										1	2		3		
Aerobacter aerogenes I	I					2						2			12	
II	II										1	1			2	
Irregular types																
	+	+	+	+	1			1						1	1	
	+	+	+	-										1		
	+	-	-	+						1		1				
	+	-	-	-					1	1		2				
	-	+	+	-			2							1		
	-	-	-	+				1							1	
	-	+	+	+								1				
試 料 数		12	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	26
菌 株 総 数		240	40	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	520

2) イヌ

イヌについては第2表に見られるように10試料200菌株のすべてが、E.coli Iであつた。

3) 家兎

家兎も10試料200菌株を検したが第2表のようにE.coli Iが67.5%, IIが17.5%でヒトおよびイヌと比較して, E.coli Iが少なく, IIが比較的多く検出された他, Intermediate II (以下中間型IIのように呼称する) が10%にも及んでいたことは特筆される。またIrregular typeはヒトに比して非常に少なく, 200菌株中わずかに(十——)の型を1つ見たにすぎない。しかしながら, これを個々の試料について見ると第4表のように, 家兎の場合はヒトの場合と異り, 全部がE.coli Iのもの10例中僅かに1例, また全部がE.coli IIのもの1例, 合せて各々20菌株のうち全部がE.coli IまたはIIで占められた試料は僅かに2例(20%)にすぎなかつた。

第4表：家兎における各試料別大腸菌群菌型分布

菌 型	No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	計
Escherichia coli I		20		19	11	19	19	18	12	8	9	135 (67.5%)
II			20						7	8		35 (17.5%)
Intermediate I					2					3		5 (2.5%)
II				1	5	1		2	1	1	10	21 (10.5%)
Aerobacter aerogenes I					1						1	2 (1.0%)
II					1							1 (0.5%)
Irregular type												
十———							1					1 (0.5%)
計		20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	200 (100.0%)

4) 生 尿 尿

生尿尿の大腸菌群菌型分布は第5表に示すようにE.coli Iが71%で比較的多く, Irregular type が全体で15%も検出されたことが目立ち, その大半は(———十)の型で占められていた。

5) 脱 離 液

尿尿消化槽脱離液は第5表に見られるように80菌株を検査したが, 全部がE.coli Iによつて占められていた。

第5表：消化処理前後における尿尿中の大腸菌群の菌型分布

菌 型	IMViC				生 尿 尿		脱 離 液	
	インドール 反 応	メチール レッド反応	Voges Proskauer反応	クエン酸 ソーダ試験	数	百分率(%)	数	百分率(%)
<i>Escherichia coli</i> I	+	+	—	—	129	71.66±3.36	80	100.0
II	—	+	—	—	3	1.67±0.95		
Intermediate I	—	+	—	+	11	6.11±1.78		
II	+	+	—	+	9	5.00±0.53		
<i>Aerobacter aerogenes</i> I	—	—	+	+				
II	+	—	+	+				
Irregular types	+	+	+	—	1	計 28 15.55±2.70		
	+	—	—	+	6			
	+	—	—	—	1			
	—	—	—	+	20			
計					180	100.0	80	100.0

4 考 察

現在世界各国で大腸菌群が水の汚染指標として用いられているが、このことは大腸菌群が、多くの場合 糞便に由来するものであるということを前提としている。而してその大腸菌群は、IMViC 反応により *E. coli* I, II, 中間型 I, II, *Aerobacter aerogenes* I, II, (以下 *A. aerogenes* I, II と略称する) および Irregular type に分けられ、*E. coli* I および II が、糞便由来のものであり、とくに *E. coli* I が糞便に最も多い菌種であるとされて来た。

著者らはヒト、犬、家兎の糞便、および尿尿消化処理場における投入前の生尿尿と消化槽より出た脱離液より試料を得て、分離した大腸菌群の菌株を IMViC 反応によつて分離し、その分布を見た。

ヒトにおける分布は第2表に示すように、*E. coli* I が圧倒的に多く、86%以上を占めていた。Mac Conkey⁶⁾ はヒトの糞便から分離した178の菌株中160が *E. coli* I (88.6%) であつたと述べ、また Geldreich⁷⁾ は4512株中87.2%が *E. coli* I であつたと述べているが、著者らの結果と大同小異である。*E. coli* II については著者らの結果は4.0%で、Mac Conkey では2.2%, Geldreich らでは2.2%となつているが、差は統計学的には有意ではない。

岡本⁸⁾ および岡本⁹⁾ は糞便中の大腸菌群は *E. coli* が90.5% としているが、著者らの *E. coli* I および II の合計と略々同じである。またこれら既往文献における中間型 I, II, *A. aerogenes* I, II および Irregular type と著者らの結果は、全く同じとは言えないが、多くは類似している。

犬および家兎の糞便の大腸菌群の分布に関する既往文献は発見出来なかつたが、Geldreich らは、家畜として、羊、牛、狐から2339の菌株を得て分類し、95.6% の *E. coli* I を得ている。著者らの結果は犬において、200菌株中100% が *E. coli* I であつた。家兎200菌株では、ヒトおよびイヌに比して *E. coli* I が甚だ少なく、67.5% にすぎないが、*E. coli* II が17.5% と甚だ多く、*E. coli* は全体で85%となつていた。家兎で特筆すべきは、他に比して、中間型 II

が、10.5% を占めて甚だ高い率で出現したことである。

アメリカ合衆国の Standard method⁴⁾ では *E. coli* I および II を 糞便性 (fecal) とし、他をすべて非糞便性 (non-fecal) としている。また Taylor¹⁰⁾ によれば、英国では *E. coli* I は、糞便性、同 II は糞便性の疑あり、中間型 I, II は、主として土壤に、*A. aerogenes* I, II は、穀物に由来すると記されてある。

著者らは、イヌにおいては全菌株が *E. coli* I 型であり、ヒトにおいても、90% が *E. coli* でそのうち II 型は僅かに 4% であつたことを見た。一方家兎では *E. coli* II が 17.5% と甚だ高く、*E. coli* で 85% ととなることを見た。このことは、糞便由来の大腸菌群の大部分が *E. coli* であることを意味する。しかしながら、糞便由来の大腸菌群のすべてが、*E. coli* とは限らず、他の種が、しばしば発見され、また ヒトにおいて、種々の Irregular type のあることは注目すべきことである。Geldreich⁷⁾ は、水中の糞便性大腸菌群決定に IMViC 反応は最善ではなく、むしろ Eijkman^{11) 12)} の高温試験がよいと論じている。

また、ヒト、犬、家兎の個々についての出現を見ると、犬ではすべての試料において、100% の *E. coli* I の出現を見たが、ヒトにおいては、第3表のように *E. coli* I のみが出現したものは 26 試料中 12, *E. coli* I と II のみが出現して他の菌種を見なかつたもの 3 (第3表では B と L), 合せて *E. coli* のみが出現したもの 15, (57.7%) であつた。なかには、むしろ *E. coli* が 20 株のうち、僅か 4 株しかなかつたものもある。このことはヒトにおける *E. coli* の出現率は平均して甚だ高いが、必ずしも一個人が高い保有率を示すものではないことを意味する。またヒトの個人はその腸内の大腸菌群の分布において、常時一定不変のものでないことを想像させる。事実 Geldreich⁷⁾ は 3 人を 2 年間 3 回検査したところ、ある人では最初 *E. coli* I が 199 菌株中皆無で 約 1 年後 2%, さらに 1 年後の試験では 100% になつたことを見ているし、また Parr¹³⁾, Sears¹⁴⁾ によつても、ヒトの糞便中の大腸菌群の菌型分布がいろいろと変化することが報ぜられている。

家兎でもまた全体では *E. coli* I 67.5%, *E. coli* II 17.5% 両者あわせて 85% と高い出現率を見たが、これを個々の家兎について見ると、10 匹中に *E. coli* I のみが出現したもの 1 例 *E. coli* II のみ出現したもの 1 例にすぎなかつた。家兎については既往文献と比較すべくもないが、前記ヒトの場合と同様なことが言い得るであろう。

生尿尿と脱離液において IMViC 系の出現率が、ヒトのそれに比してまた著るしい差異を示すことも興味深い。

生尿尿において *E. coli* I は 71.6%, *E. coli* II は 1.67% で、何れもヒトにおけるそれらに比して、非常に低く、差は統計学的に有意である。また生尿尿では Irregular type が非常に多く、15.5% にも達し、ヒトの場合の 3.6% と有意の差を示している。このうち (---+) の型が圧倒的に高い比率を占めていることも、ヒトのそれとは異なる。この両者の差を考えて見ると、ヒトの試料は腸内から出て比較的短かい期間の生々しい試料であるのに対し生尿尿は糞便が長い間便槽内に貯留された末の試料であるという環境の差に帰すべきものとも思惟される。しかし乍ら、この試料は、ヒトや犬などの場合のように、個々からとつた試料ではなく、この 180 菌株はすべて一括して

採取したたゞ1度の試料から得たものであつて、常にこのような比率に近い値を得るかどうかは疑わしい。事実、著者ら¹⁵⁾の過去の試験においては、生尿尿でE.coli I 69%, E.coli II 26%のような値を得ている。

脱離液は80菌株のすべてがE.coli Iであり、生尿尿とは明らかに統計学的に有意の差を示した。脱離液は投入された生尿尿が、約35℃、30日間嫌氣的に貯溜された後放出されたものである。すなわち脱離液では30日間の35℃の嫌氣的状況下に耐え得る菌のみが、放出されると考えねばならない。しかしこれは通性嫌氣性であれば、可能なことであつて、とくにE.coli Iのみが出現した理由として挙げることは難しい。むしろ著者らは、この理由として、消化槽の構造と運転をあげたい。脱離液試料を得た消化槽は、いわゆる加温式で、槽外型温水加温式をとつている。この場合、槽内は平均して30℃以上を保たれるとしても、熱交換器によつて加温される箇所はさらに40℃～50℃の高温となるに違いないし、より以上の温度になつているかも知れない。このような比較的高温がどの程度の時間続くかは明らかでないが、槽内全容量のどの部分かが、四六時中この状態におかれて絶えず循環されている。一方、A.aerogenes や中間型の多くは、このような高温には耐え得ず、ひとりE.coliのみが残存するであろうことは、Eijkman¹¹⁾、Geldreich⁷⁾らによつても容易に想像できる。すなわち、脱離液にE.coliのみが出現したのは、加温循環の槽内にE.coliのみが耐え残つたためと思惟されるが、これも、更に試験をくりかえした後でなければ、結論を下すことは控えたい。

以上のように、著者らは、ヒト、犬、家兎、生尿尿および脱離液から分離した大腸菌群において、E.coli Iが圧倒的に多く、犬と脱離液では100%を占め、最も比率少ない家兎においても67%で、これもE.coli IIを加えればE.coliとして85%を占めることを見た。しかしながら一方、ヒトや家兎において、個々では必らずしも、E.coliが多いとはいひ得ず、むしろE.coli以外のものが多い試料が少数ながら存在することも認められた。このことはそのまゝ、E.coliの汚染指標としての長所とも、短所ともなる。すでに著者らの一人桑原¹⁶⁾はその著書のなかに長所の第一として「E.coliは人間の腸管内に最も多く発見される大腸菌群の菌種である」と述べ、また、短所の第一として「E.coli以外の他の大腸菌群の菌種も人間の糞便に存在する」と指摘している。

5 総 括

著者らはヒト、犬、家兎の糞便並びに生尿尿および消化槽脱離液から分離した大腸菌群の菌株をIMViC反応によつて分類し、次の如き結果を得た。

(1) ヒト26名(各20菌株)から得た520菌株の菌型分布は、E.coli I 86.1%, E.coli II 4.0%でE.coliが全体の90%以上を占めたが、他の各菌型も少数ながら認められた。またこれを個々の試料別に見ると26試料のなかで、E.coli Iのみのもの12例、E.coli IとIIのみのもの3例、すなわちE.coliのみが出現したもの15例(57.7%)であつた。

(2) 犬10頭200菌株はすべてにE.coli Iであつた。

(3) 家兎10試料200菌株ではE.coli I 67.5%, E.coli II 17.5%でE.coliの合計85%を見たが、また各種のその他の菌型も出現し、とくに、Inter mediate IIが10.5%を占め

た。しかし、各個の試料で見ると、E.coli Iのみのもの、E.coli IIのみのもの各1例にすぎなかつた。

(4) 生尿 180菌株の菌型分布は、E.coli I 71%、E.coli II 1.6%となり、ヒトの糞便と非常な差を見た。また Irregular typeが15.5% と非常に高く、とくに(---+)の型が多かつた。

(5) 脱離液から得た80菌株はすべてE.coli Iであつた。

文 献

- 1) 厚生省編：飲料水検査指針，協同医書出版社，昭25
- 2) 日本水道協会：上水試験法，日本水道協会，昭35
- 3) 日本水道協会：下水試験法，日本水道協会，昭37
- 4) American Public Health Association, American Water works Association and Water Pollution Control Federation: Standard Methods for the examination of Water and waste water, 11th Ed. Am. P.H. Association, Inc New York, 1960
- 5) 伝染病研究所学友会編：細菌学実習提要，改訂第1版，丸善 昭33
- 6) Mac Conkey, A : Further observation on differentiation of lactose fermenting bacteria with special reference of those intestine origine, J.Hyg., Camb., 9, 86, 1909
- 7) Geldreich, E.E., Bordner, R.H., Clark, H.F. and Kabler, P.W., : Type distribution of coliform bacteria in the feces of warm-blooded animals. J.W.P.C.F. 34, 295, 1962
- 8) 岡本哲：大腸菌群試験に関する諸問題，水道協誌，177号，48，昭18
- 9) 岡本哲，志村武雄，辻達彦：糞便ならびに下水より分離された所謂速藤赤変菌の分類学的研究，厚生科学，2，162，昭16
- 10) Taylor, E.W.: The examination of Waters and Water Supplis, London, 1958
- 11) Eijkman, C : Die Gartüingsprobe bei 46°C als Hilfsmittel bei der Trinkwasser untersuchung, Zentralblatt f. Bakt Abt 37, 742, 1904
- 12) Hajna, A.A and Perry, C.A.: Optimum temperature for Differentiation of Escherichia coli from other coliform bacteria, J.Bact. 38, 275, 1939
- 13) Parr, L.W.: The occurence and Succession of Coliform organisms in human feces, Am.J.Hyg., 27, 67, 1938
- 14) Sears, H.J., Browles, I. and Vchiyama, J.K.: Persistence

of individual strains of *Escherichia coli* in the
Intestinal tract of man, J.Bact., 59, 293, 1950

- 15) 桑原驎児, 島貫光治郎: 水の汚染と大腸菌群並びにその菌型について, 衛生工学3号, 44, 昭34
- 16) 桑原驎児: 衛生工学入門(水質衛生)初版, 續文堂, 昭39