

下水処理放流水の微生物指標について

Index microorganisms in discharge from wastewater treatment

劉曉琳・大瀧雅寛

Liu Xiao Lin and Masahiro OTAKI

(お茶の水女子大学大学院 人間文化研究科 ライフサイエンス専攻)

1.はじめに

公共水域への下水処理の放流水は放流先の水環境を考慮するために、放流前に消毒を行っている。しかし、放流水の中には、消毒後にも関わらずいろいろな微生物が残存している。この中には病原微生物も含まれる。病原微生物をサイズの大きい順に述べると、寄生虫、原虫、スピロヘータ、真菌(かび)、細菌、リケッチア、クラシジア、ウイルスとなる。病原微生物を全て検出することは、それぞれの試験法が複雑で長時間を要するので、環境監視の手段としては不適當である。また検出における危険性や、定量性が低いことなどから、現実にはその適用に限界がある。そこで病原微生物の代わりとして、その存在を示唆するような指標微生物を用いて管理を行うことになる。指標微生物について日本、アメリカ、EC 諸国における下水道及びレクリエーション用水などの基準を Table.1 に示した。下水処理の放流水質の水質管理を行う際、疾病発生に関係する病原微生物の消毒レベルを示す指標は極めて重要である。以上の観点から、微生物指標の大腸菌群、糞便性大腸菌群、糞便性連鎖球菌群、大腸菌ファージ及び原虫について述べる。

2.大腸菌群

大腸菌群と定義される細菌は、グラム陰性の無芽胞短杆菌で、48 時間以内に乳糖を分解して酸とガスを産生する好気性または通性嫌気性細菌の総称であり、この名称は、医学細菌学上の分類に基づくものでなく、衛生細菌学領域で使用される用語である。

Table.1 Standard of sewage water etc. in Japan, America, Europe

日本	下水の放流水:大腸菌群数 3000 個/ml以下 水浴場:糞便性大腸菌群数 1000 個/100ml以下
米国	下水の放流水: 大腸菌群数 1000 個/100ml 糞便性大腸菌群数 200 個/100ml レクリエーション:糞便性大腸菌群数 1)水面上:平均 2000 個/100ml 最大 4000 個/100ml 2)水と間接接触する: 平均 1000 個/100ml 3)水と接触する:平均 1000 個/100ml
EC 諸国	公共の水域: 大腸菌群数 10000 個/100ml以下 糞便性大腸菌群数 2000 個/100ml以下 糞便性連鎖球菌数(目標)100 個/100ml以下

(ヨーロッパにおいて、下水の放流水に関する基準は強制の基準がないので、下水の放流水基準は公共の水域の基準に従う)

日本では 1932 年から水が糞便性由来病原細菌を含む汚水による汚染の疑いを示す指標として利用されてきた。理想的な腸管系病原細菌の指標細菌としての条件として、①病原細菌が存在するときには必ず存在すること、②環境中で顕著に増殖しないこと、③病原細菌よりも多数存在すること、④病原細菌よりも消毒剤と環境中において高耐性であること、⑤比較的簡単な培地で容易に増殖し、菌群の同定が明確にできること、⑥検査すべき試料中にランダムに分布していること、⑦人工培地に接種したとき、他の細菌が存在することによって著しく増殖が抑制されないこと、等があげられている。大腸菌

Table.2 Classificatory of total coliforms
is according to IMViC experiment

菌型		試験				
		indol	MR	VP	Citrate	由来
<i>Escherichia coli</i>	I	+	+	-	-	糞便性
	II	-	+	-	-	糞便性
<i>Citrobacter</i> group	I	-	+	-	+	非糞便性
	II	+	+	-	+	非糞便性
<i>Klebsiella-</i> <i>Enterobacter</i> group	I	-	-	+	+	非糞便性
	II	+	-	+	+	非糞便性

群を含めてこれらの条件に合致する指標細菌はいくつあるが、大腸菌群は乳糖を分解して酸とガスを産生するという単純な反応を示し、比較的簡単な方法で容易に検出できる。このため、腸管系病原細菌による汚染の指標細菌として広く利用されている。

しかし、大腸菌群の構成菌がすべて糞便汚染由来ではないという疑問もまた古くからいわれている。大腸菌群には、いろいろな種類の細菌が含まれている。IMViC 反応試験により大腸菌群を大まかな菌型に分類したものを Table.2 に示した。Table.2 により分類された菌型のうち *E.coli* は大腸菌のことで糞便汚染由来である。他の菌型は元々の起源としては糞便汚染である可能性があっても、土壌、植物などに由来するものといわれている。

以上のことから糞便汚染との直接の関係を問題にする環境監視の手段としては、大腸菌群より糞便性大腸菌群が適当ではないかと考えられる。また、同様の理由から、糞便性連鎖球菌群の採用も検討すべきであろう。しかし、安全側の指標細菌としての大腸菌群も捨てがたく、特に万が一の病原細菌汚染も許されない飲料水基準などには、*E.coli* 以外の菌型が糞便からまったく検出されないというわけではないという事情から考えて、従来どおり大腸菌群を用いるべき

であろう。

3. 糞便性大腸菌群

糞便性大腸菌群とは、 $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ で 24 ± 1 時間培養した時、温血動物の糞便に由来する 45°C 付近の高温に耐え、かつ大部分の大腸菌が乳糖を発酵するという性質を有することを利用したものである。従って大腸菌群とは培養温度及び時間が異なっている。また、大腸菌群にも含まれる *Escherichia* 属並びに少数 *Klebsiella*、*Enterobacter*、*Citrobacter* 等の種からなっている。

従来、水中の大腸菌群の存在は、糞便汚染があったと見なされており、赤痢菌、コレラ菌、サルモネラなどの腸管系伝染病原細菌の存在可能性を示しものとされてきた。しかし、大腸菌群は普通の水域にも存在する可能性があるため、水の衛生性、安全性の直接的な指標というより、その変動による水質監視上の指標と考えるのが適切である。糞便性大腸菌群は高い割合で糞便性である大腸菌を含み、比較的複雑な確認試験を行わず測定しようとする意味から用いられた指標である。通常、人間以外にも他の哺乳動物及び鳥類の糞便中に多数存在するが、これらによる、糞便汚染も示すことになり、それら由来の腸管系病原細菌の汚染の可能性をも含んで示す指標であるといえる。

4. 糞便性連鎖球菌群

糞便性連鎖球菌群は *Enterococcus* 属 (*S.faecalis*、*S.faecalis* subsp. *liquefaciens*、*S.faecalis* subsp. *zymogenes*、*S.faecium*) 並びに一部の *Streptococcus* 属 (*S.bovis*、*S.equinus* 及び *S.aviium*) からなる。温血動物の糞便に特異的に存在する。糞便性連鎖球菌群は、一般的に糞便性大腸菌群よりも長時間環境中に生残り、消毒剤に対してもわずかに耐性であるといわれている。糞便性連鎖球菌群は、乾燥に

対してもかなり抵抗性を持つ N. BOUCHRITI らの研究例によれば、海水中に糞便性連鎖球菌群は糞便性大腸菌群より多く生残する。又海水とカキ中に 3 種 215 菌株が分離されたことが報告されている。糞便性連鎖球菌群を用いた衛生学的細菌指標については、様々な検討が行われており、下水放流水や河川水などにおいて糞便性大腸菌群と糞便性連鎖球菌群の比率によって、その汚染源を推定することができる。その糞便性大腸菌群/糞便性連鎖球菌群比が 4 より大きいときは人間からの汚染、0.7 より小さい時は人間以外の動物による汚染、その中間はそれぞれが混合したものと判定することができる。また、さらに改良した判定方法として糞便性大腸菌群が糞便性連鎖球菌群より更に長時間生残することを利用し、サンプル初期の FC/FS 比が 4 より大きく、そのサンプル中の FC/FS 比が時間の経過とともに下がれば人間による汚染、最初の FC/FS 比が 0.7 より小さく、時間がたつとともに上昇すれば、人間以外による汚染と判定する方法が提案されている。だが、N. BOUCHRITI らの研究例により海水中の糞便性連鎖球菌群と糞便性大腸菌群の比率が変動しやすく、その比率が縮小することがわかった。従って、その比率に基づく汚染源の推定は簡単には適用できない。

公共の水域または放流先の水環境に含まれる病原微生物の挙動を管理するために、指標細菌としては、大腸菌群を用いた上で、糞便性大腸菌群または糞便性連鎖球菌群のどちらかを用いた方がよいと思われる。しかし、糞便性大腸菌群は糞便性連鎖球菌より存在量が多いが、糞便性連鎖球菌群の方が環境水中、特に海水中で耐性が高いことから、測定する環境によって使い分けることが必要であろう。

5. 大腸菌ファージ

大腸菌ファージを説明する前には、ウイルス

について説明しなくてはならない。ウイルスは、その大きさが細菌より小さく(200nm以下)、核酸として DNA か RNA どちらか一方を持つ微生物である。細菌との大きな相違点は、抗生物質が無効であることと、人工培地で増殖せずウイルスに感受のある生きた細胞がないと増殖しないこと、である。したがって、水中に混入した人間の病原ウイルスは、水環境中で増殖することはない。しかし、環境中では、かなり長い期間生存することができる。水由来の腸管系ウイルスとして、ポリオウイルス(polioviruses)、コクサッキーウイルス(coxsackieviruses)、エコーウイルス(enteroviruses)、アデノウイルス(adenoviruses)、レオウイルス(reoviruses)、ロタウイルス(parvoviruses)、A 型肝炎ウイルス及び下痢症ウイルスなどが挙げられる。下水、放流水、河川水及び雑用水などから、ウイルスが検出されており、その存在が明らかになってきた。近年、水の安全性、衛生性を向上するために、ウイルスを検査することは必要である。しかし、腸管系ウイルスは感染の成立する量が非常に小さいため、検出のために多量の水を濃縮する必要がある。またそれ自体が病原性を持つために実験者保護の設備が必要であること、培養細胞の維持を行う設備が必要であること、培養に時間がかかることなどから、通常の実験室で日常的に行うのは困難である。腸管系ウイルス汚染の評価指標として、現在考えられているのが大腸菌ファージである。大腸菌ファージは大腸菌を宿主とするウイルスであり、宿主の菌株によって検出されるファージが違ふ。下水処理の放流水の指標として利用可能と考えられるのは F 特異 RNA 大腸菌ファージである。構造と大きさが腸管系ウイルスのエンテロウイルス属に似ていることから、その存在指標および消毒耐性に関する指標としても注目されている。現在、宿主としてよく使われている大腸菌は *E. coli* C、*E. coli* B、WG5 (ナリジキシン酸耐性突然変異体 *E. coli*

CN の別名)である。

6.原虫

1996年に公表されたWHO(世界保健機関)の飲料水水質ガイドライン第2版第2巻には、水系感染性の原虫類として、寄生性のものでは *Giardia*、*Cryptosporidium*、*Entamoeba histolytica* 及び *Balantidium coli* 自由生活性のものでは *Naegleria* と *Acanthamoeba* が取り上げられている。原虫は一般に、多くの病原細菌やウイルスに比べて消毒耐性が大きく、感染を成立させるための必要生物数(最小感染量)が小さい。このことは、コレラ菌や赤痢菌などの水による腸管系病原細菌に比べて、原虫の方が水媒介による感染を引き起こすリスクが大きいことを示す。近年、*Giardia* から *Entamoeba histolytica* までの3種に加えて、新たな腸管系の病原原虫として注目されているのが *Cyclospora cayetanensis* である。現在、水質衛生の上で原虫問題は無視し得ない現状であり、日本では、対処方法として下水処理水で濁度0.1度以下と設定しているが、原虫を単なる粒子として見ているという指標であるため、問題点も多い。これから原虫の有効な指標には検討の必要がある。

7.おわりに

現在日本の放流水基準は「大腸菌群数 3000 個/ml 以下」だけであり、設定からおよそ40年が経過した現在の状況を踏まえ、下水中の病原微生物と疾病発生の関係を改めて明確にした上で衛生指標の見直しについて検討をする必要がある。

8.参考文献

- 1)「上水試験方法」日本水道協会、1993
- 2)日本分析化学会北海道支部編 水の分析(第4版)(株)化学同人 1994

- 3)金子光美「水質衛生学」技報堂出版、1997
- 4)保坂三継「水系原虫感染症-原因生物と流行発生」用水と廃水、40(2),pp.119-132,1998
- 5)N.bouchriti et al. "Identification of fecal streptococci isolated from seawater and oysters", Microbiologie Aliments Nutrition, 1922, Vol.10, 157-160
- 6)国土交通省 都市・地域整備局「消毒に対する考え方(案)」資料4