宮崎県青島海水浴場における細菌学的調査

古川 隼 士^{*,†}
土手 裕^{*}

甲斐 竜 輔^{*}
鈴木 祥 広^{*}

Monitoring of Fecal Bacteria on Aoshima Beach, Miyazaki, Japan

Takashi FURUKAWA^{*,†}, Ryusuke KAI^{*},
Yutaka DOTE^{*} and Yoshihiro SUZUKI^{*}

^{*} Department of Civil and Environmental Engineering, Faculty of Engineering, University of Miyazaki, 1-1 Gakuen Kibanadai-nishi, Miyazaki 889-2192, Japan

Abstract

Recently, coastal recreation areas have been polluted by pathogenic microorganisms from human and animal feces. In fact, it has been reported that the risk of infection by pathogens is not negligible in coastal areas. Fecal bacteria (e.g., fecal coliforms (FCs) and enterococci (ENTs)) were monitored on Aoshima Beach, Miyazaki, Japan, to understand the contamination by fecal bacteria, indicating the presence of pathogens in coastal recreation areas. Coastal water samples were collected at 5 stations on Aoshima Beach between May and August, 2010. The FC and ENT counts in coastal water were found to range from below detection limits (BDL) to 1.4×10^3 CFU $\cdot$ 100 mL⁻¹ and from BDL to 4.6×10^2 CFU $\cdot$ 100 mL⁻¹, respectively. The monitoring carried out daily between June 23 and July 21 indicated that the concentrations of both fecal bacteria increased during rainfall, exceeding the guideline levels set by U. S. Environmental Protection Agency (i.e., FC, 800 CFU $\cdot$ 100 mL⁻¹; ENT, 104 CFU $\cdot$ 100 mL⁻¹). However, the high fecal bacterial counts decreased to approximately 10 CFU $\cdot$ 100 mL⁻¹ within 3 days after the rainfall.

Keywords: Fecal coliform; Enterococci; Coastal recreation area; Fecal pollution; Bacterial water quality

1. はじめに

近年、河川や湖沼等の陸水のみならず、沿岸域においてもクリプトスポリジウム、ノロウイルス、あるいは病原性大腸菌等に代表される水系感染症を引き起す病原性微生物がたびたび検出されている問題が発生している^{1,2)}。また、これらの病原性微生物の検出事例³⁻⁵⁾、および発症事例⁶⁻⁸⁾は、我が国のみならず世界各国で年々増加傾向を示していることから、社会的な注目を集めている。沿岸域には、人間の生活や農業・畜産業、その他の産業活動など、陸域において様々な過程で使用された水が処理され、一部は未処理のままで流入する。その結果として、汚濁物質、有害汚染物質、あるいは病原性微生物も沿岸域に流入する可能性がある。その一方で、沿岸域の一部は海水浴場やヨットハーバー等のレクリエーション用水域として重要な役割を果たしており、ヒトが直接的あるいは間接的に病原性微生物に暴露される可能性も否定できない。

このような背景から、沿岸レクリエーション用水域の公衆衛生が重要視されているアメリカ合衆国では、病原性微生物の存否、および潜在的风险の指標となるふん便指標細菌（ふん便性大腸菌群、大腸菌、および腸球菌）

のガイドラインを設けている⁹⁻¹¹⁾。さらに、沿岸レクリエーション用水域等の利水・親水域における細菌学的安全性を確保するために、ふん便性大腸菌群、大腸菌、および腸球菌のモニタリング調査や検出方法の開発に関する研究が積極的に推進され、知見・状況が蓄積されている¹²⁻¹⁶⁾。一方で、我が国では尿尿の海洋投棄が実施されていた1950年代に海洋・沿岸域における衛生学的な調査が実施されていた¹⁷⁻¹⁹⁾。しかしながら、海水浴場においては、開放期間の前にふん便性大腸菌群の調査がスポット的に実施されているものの、開放期間中および期間外の調査はほとんど実施されていないのが現状である。我が国における沿岸レクリエーション用水域の細菌学的な調査事例は極めて少なく、最近では著者らの報告²⁰⁾がある程度である。したがって、真に安心・安全な沿岸環境を構築するためには、その第一段階として、衛生管理に関わるふん便性細菌汚染を調査し、現状を正確に把握することが重要である。

そこで本研究では、宮崎県宮崎市の青島海水浴場を対象として、U. S. Environmental Protection Agency (USEPA) がふん便指標細菌として推奨しているふん便性大腸菌群 (FC)、および腸球菌 (ENT) の実態調査を行った。調査時期は、海水浴場の開放等によって沿岸域の利用人口

^{*} 宮崎大学工学部土木環境工学科 〒889-2192 宮崎市学園木花台西 1-1
[†] 連絡先: furukawa@civil.miyazaki-u.ac.jp

が増加すると予測される夏季が、特に公衆衛生上重要であると考えられるため、2010年5月～8月に集中的に実施した。

2. 方法

2.1 調査概要

調査は、宮崎県宮崎市の太平洋日向灘に面したレクリエーション用水域を含む地点として、宮崎市青島海水浴場（地点A～C）とその周辺（地点D, E）における5地点（Fig. 1）を対象として実施した。2010年5月～8月の期間に、経日モニタリング期間を含めて合計41回の調査を実施した。経日モニタリングは、本調査期間中の2010年6月23日から7月21日の約1ヵ月間において、地点Cを対象として毎日試料を採取した。なお、6月24日は、試料採取を午前と午後の2回実施した。海水浴場周辺には、青島海水浴場を中心として半径2 km 圏内に、知福川が合流した加江田川、および突浪川が、日向灘に流入している。

宮崎県が位置する九州南部の梅雨入りは2010年6月12日であり、梅雨明けは7月20日であった（梅雨の期間：36日間）。また、青島海水浴場の海開きは7月10日であり、8月31日まで海水浴場として開放された（海水浴場の利用期間：53日間）。

2.2 試料採取と測定項目

沿岸水は波打ち際から約10 m 以内、水深約50 cm 程度の表層水を採取し、ポリエチレン容器に保存した。採取した試料は実験室に持ち帰り直ちにFCおよびENTの測定に用いた。また、一般水質項目として、沿岸水のpH（東亜電波工業、ガラス電極式水素イオン濃度計、HM-30G）、電気伝導度（EC、東亜電波工業、CM-30S）、および濁度（カオリン、三菱化学、積分球式濁度計SEP-PT-706D）を測定した。沿岸水の塩分濃度はECから算出²¹⁾し、水温は試料採取時に棒状温度計を用いて

Fig. 1 Location of sampling station at Aoshima Beach.

測定した。日降水量は気象庁のホームページ上に公開されているデータ（観測地点：宮崎市青島）を用いた²²⁾。

2.3 細菌計数法

FC および ENT の計数はメンブランフィルター法に従って実施した。10 mL あるいは100 mL の沿岸水試料をメンブランフィルター（孔径0.45 μm, Advantec）を用いて濾過した。細菌の濃度が高いと思われる試料については、必要に応じて10～100倍希釈し、希釈した試料10 mL（最終容量）を濾過した。FCはmFC寒天培地（DIFCO）上にフィルターを置き、44.5±0.2℃で24時間水浴培養後、フィルター上の青色のコロニーを計数した。ENTはmembrane-Enterococcus Indoxyl-β-D-Glucoside 寒天培地（mEI培地）にフィルターを置き、41.0±0.5℃で24時間培養後、フィルター上の青色のコロニーを計数した。各細菌濃度は、3連のものを平均し100 mLあたりに換算した。FC および ENT の検出下限値はいずれも1.0 CFU・100 mL⁻¹であり、それ以下の細菌数はBDL（Below detection limits：検出下限値以下）として示した。

3. 結果および考察

3.1 一般水質項目

Table 1に各地点における水温、pH、濁度、および塩分濃度の測定結果を示す。沿岸水の水温はすべての地点において23.7～31.8℃の範囲で変動し、pHは8.0付近で安定していた。濁度は、各地点の平均値で比較すると、地点によってそれほど大きな差は認められなかったものの、採取日によって大きく変動し、20度以上で検出される場合もあった。塩分濃度についても濁度と同様に採取日によって非常に大きく変動し、3.91～35.5 psuであった。調査対象である宮崎沿岸域の沖合の塩分濃度は、年間を通じてほぼ34.0 psu付近で変動することから、塩分濃度が低かった採取日については淡水流入の影響を受けていたことが考えられる。なお、すべての一般水質項目について、各地点間における測定値の大きな違いは認められなかった。

3.2 沿岸水中のふん便性細菌数

Table 2に沿岸水のFCとENTの細菌数を示す。沿岸水のFC、およびENTの細菌数は、それぞれBDL～1.4×10³ CFU・100 mL⁻¹、およびBDL～4.6×10² CFU・100 mL⁻¹の範囲で検出された。また、5地点間（地点A～E）におけるFCおよびENTの細菌数は、地点間に大きな相違はなく同程度の値であった。調査開始から6月中旬までの4回の調査日（5月27日、6月3日、10日、16日）においては、FCおよびENTともに非常に低濃度であり、これら4日間の調査日におけるFC、およびENTの細菌数の平均値（5地点）は、6.0±7.2 CFU・100 mL⁻¹（平均

Table 1 Physicochemical parameters in coastal water at each station.

Station	No. of samples	Water temperature (°C)			pH			Turbidity (degree, kaolin)			Salinity (psu)		
		max	min.	mean	max	min.	mean	max	min.	mean	max	min.	mean
A	19	31.8	23.7	27.6	8.3	7.8	8.1	20.6	2.30	9.41	33.8	7.18	22.9
B	19	31.7	23.9	27.4	8.4	7.7	8.1	23.9	2.11	11.0	33.0	6.91	22.9
C	41	31.6	23.7	27.8	8.4	7.6	8.1	34.3	2.63	9.80	35.5	3.91	23.3
D	19	31.1	23.7	27.3	8.4	7.9	8.1	20.5	1.59	9.44	32.8	7.37	22.7
E	19	31.4	23.7	27.3	8.4	7.9	8.1	19.2	1.63	9.58	33.0	7.67	22.6

Table 2 Fecal coliform and enterococci count in coastal water at each station.

Station	No. of samples	Fecal coliform (CFU·100 mL ⁻¹)			Enterococci (CFU·100 mL ⁻¹)		
		max	min.	mean	max	min.	mean
A	19	1.3×10 ³	BDL	1.2×10 ²	1.9×10 ²	BDL	27
B	19	1.2×10 ³	BDL	1.1×10 ²	1.8×10 ²	BDL	37
C	41	9.1×10 ²	BDL	1.0×10 ²	4.6×10 ²	BDL	47
D	19	1.1×10 ³	BDL	1.3×10 ²	2.8×10 ²	BDL	41
E	19	1.4×10 ³	BDL	1.4×10 ²	3.0×10 ²	BDL	39

Fig. 2 Changes of FC and ENT counts and daily rainfall at station C in daily monitoring. Symbols of ■, and ◆ are FC and ENT counts (CFU·100 mL⁻¹), respectively, and bar graph is rainfall (mm).

値±SD, n=20) および 2.7 ± 6.9 CFU·100 mL⁻¹ (平均値±SD, n=20) であった。その後、梅雨入りした6月中旬以降から両ふん便性細菌が高濃度で検出されるようになり、 $10^2 \sim 10^3$ CFU·100 mL⁻¹ のレベルで検出された。調査期間において、FC および ENT の細菌数が最も高く検出された調査日は、それぞれ7月15日 (1.4×10^3 CFU·100 mL⁻¹) および6月30日 (4.6×10^2 CFU·100 mL⁻¹) であり、いずれも梅雨の期間であった。梅雨明け以降では、FC と ENT が検出される調査日はあったものの、それらの細菌数はそれほど高くなかった (80 CFU·100 mL⁻¹ 以下)。青島海水浴場における FC と ENT の細菌数の変化を概観すると、いずれのふん便性細菌も降雨時において高濃度で検出される傾向を示した。

USEPA の制定している海域のレクリエーション用水域における FC、および ENT の水質基準値は、それぞれ 800 CFU·100 mL⁻¹ ⁹⁾、および 104 CFU·100 mL⁻¹ ¹⁰⁾ となっている。FC についてみると、調査期間 (合計 41 回) 中において、いずれかの地点で基準値を超えて検出された調査日は2回であった。また、我が国の海水浴場等における水浴場水質判定基準値 (1,000 個/100 mL) と比較すると、1回の調査日で基準値以上で検出された。これに対して、ENT は、6回の調査日において基準値を超えて検出された。また、この6回の調査日については、FC が基準値以上で検出された調査日も含まれている。青島海水浴場は、公的機関によって海水浴場開放期間前にふん便性大腸菌群の事前調査が実施され、適正と判断され開放されていたが、海水浴場の開放期間において1回の調査日で FC が我が国の水浴場水質判定基準値以上で検出された。また、海水浴場開放期間に限らず降雨時には、いずれのふん便性細菌も $10^2 \sim 10^3$ CFU·100 mL⁻¹ レベルで検出され、非常に高い細菌数であった。したがって、沿岸域における公衆衛生を考慮し

でも、ふん便性細菌の継続的かつ詳細なモニタリング調査が重要であると考えられる。

3.3 ふん便性細菌の経日モニタリング

青島海水浴場におけるふん便性細菌汚染の実態調査で、沿岸域では降雨の影響によって細菌の濃度が上昇することが示唆された。そこで、梅雨時期に当たる6月23日から7月21日までの約1ヵ月間、調査地点Cにおいてふん便性細菌の経日モニタリングを実施した。

Fig. 2 に FC および ENT の経日変化を示す。1ヵ月の調査期間中において、降雨が記録された調査日 (21日間) の FC、および ENT の細菌数の平均値は、それぞれ $1.7 \times 10^2 \pm 2.8 \times 10^2$ CFU·100 mL⁻¹ (平均値±SD, n=21)、および $83 \pm 1.3 \times 10^2$ CFU·100 mL⁻¹ (平均値±SD, n=21) であった。その一方で、降雨量が 0 mm·day⁻¹ の調査日 (9日間) の FC、および ENT の細菌数の平均値は、それぞれ 42 ± 63 CFU·100 mL⁻¹ (平均値±SD, n=9)、および 6.2 ± 7.0 CFU·100 mL⁻¹ (平均値±SD, n=9) であった。各細菌数は、降雨時よりも1~2オーダー低い濃度で検出され、降雨時と非降雨時の各細菌数の間に有意差が認められた (FC: $p < 0.05$, ENT: $p < 0.05$)。また、経日モニタリング期間中、他の調査地点 (地点 A, B, D, および E) においても合計8回の調査を実施し、すべての調査日で地点Cと同程度の細菌数で検出された。したがって、降雨の影響を受けて、海水浴場の FC と ENT の細菌数が増加したことが明らかである。既往の研究として、南カリフォルニアの沿岸域では、河川等を通じて陸域からの雨水の流出による影響を受けて、沿岸水中のふん便性細菌の濃度が増加することが報告されている^{23~25)}。しかしながら、日降雨量と、FC および ENT の関連性についてみると、相関係数はそれぞれ $r = 0.42$ (FC) および $r = 0.61$ (ENT) であり、それほど高い相関は認められなかった。沿岸域では、周辺の流入河川等を通じて、

降雨初期におけるフラッシュアウトによる汚濁の流入と、それ以降の降雨量の増加に伴う希釈効果のいずれの影響も受けるため、日降雨量をパラメータとした場合には、沿岸水の細菌数の増減を反映できなかったと考えられる。

青島海水浴場周辺では、6月25日および26日において、それぞれ133 mm・day⁻¹および14.0 mm・day⁻¹の降水量が記録され、それに伴いFCおよびENTの濃度も上昇した(図. 2)。6月25日の降雨の影響によって上昇したと考えられる両ふん便性細菌の濃度は、降雨が記録されなかった27日において、FCおよびENTともにUSEPAの基準値以下まで減少し、28日にはFCが2.0 CFU・100 mL⁻¹、ENTが11 CFU・100 mL⁻¹まで減少した。同様に、7月3日～6日と7月9日～12日の調査日における細菌数の変化においても、急激に細菌数が増加した2～3日後には10 CFU・100 mL⁻¹以下に減少した。青島海水浴場においては、降雨時に高濃度で検出されたふん便性細菌は、少なくとも48～72時間の間で10 CFU・100 mL⁻¹前後まで減少することが示唆された。

4. まとめ

本研究では、宮崎県宮崎市の青島海水浴場とその周辺を対象に、ふん便指標細菌であるFCとENTのモニタリング調査を実施した。以下に得られた知見をまとめる。

- (1) 沿岸水のFCおよびENTの細菌数は、それぞれBDL～1.4×10³ CFU・100 mL⁻¹、およびBDL～4.6×10² CFU・100 mL⁻¹の範囲で検出された。
- (2) FCとENTの細菌数は、いずれも梅雨入りした6月中旬以降に高濃度で検出され、降雨時において10²～10³ CFU・100 mL⁻¹のレベルまで上昇する場合があった。また、青島海水浴場の開放期間において、FCあるいはENTがUSEPAの水質基準値以上で検出される場合があった。
- (3) 約1カ月間のFCとENTの経日モニタリングにおいて、降水量が記録された調査日において細菌の濃度は上昇した。しかしながら、日降雨量とFCまたはENTの細菌数との間には高い関連性は認められなかった。
- (4) 当該調査海域においては、降雨によって急激に増加した細菌数(2.0～6.2×10² CFU・100 mL⁻¹)は、雨が止んで2～3日間以内に10 CFU・100 mL⁻¹前後まで低下した。

(原稿受付 2011年6月3日)

(原稿受理 2011年9月3日)

参 考 文 献

- 1) Scott, T. M., Rose, J. B., Jenkins, T. M., Farrah, S. R. and Lukasik, J. (2002) Microbial source tracking: current methodology and future directions, *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 5796-5803.
- 2) Meays, C. L., Broersma, K., Nordin, R. and Mazumder, A. (2004) Source tracking fecal bacteria in water: a critical review of current methods, *J. Environ. Manage.*, **73**, 71-79.
- 3) Rutjes, S. A., Italiaander, R., van den Berg, H., Lodder, W. J. and de Rota Husman, A. M. (2005) Isolation and detection of Enterovirus RNA from large-volume water samples by using nucliSens minimag system and real-time nucleic acid sequence-based amplification, *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 3734-3740.
- 4) Fuhrman, J. A., Liang, X. and Noble, R. T. (2005) Rapid detection of Enteroviruses in small volumes of natural waters by real-time quantitative reverse transcriptase PCR, *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 4523-4530.
- 5) Abad, F. X., Pintó, R. M. and Bosch, A. (1998) Flow cytometry detection of infectious Rotaviruses in environmental and clinical samples, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 2392-2396.
- 6) Nakagawa-Okamoto, R., Arita-Nishida, T., Toda, S., Kato, H., Iwata, H., Akiyama, M., Nishio, O., Kimura, H., Noda, M., Takeda, N. and Oka, T. (2009) Detection of multiple Sapovirus genotypes and genogroups in oyster-associated outbreak, *Jpn. J. Infect. Dis.*, **62**, 63-66.
- 7) Blackburn, B. G., Craun, G. F., Yoder, J. S., Hill, V., Calderon, R. L., Chen, N., Lee, S. H., Levy, D. A. and Beach, M. J. (2004) Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with drinking water - United States, 2001-2002, *MMWR*, **53**, 23-43.
- 8) Robertson, L. J., Forberg, T., Hermansen, L., Gjerde, B. K., Alvsvåg, J. O. and Langeland, N. (2006) *Cryptosporidium parvum* infections in Bergen, Norway, during an extensive outbreak of waterborne Giardiasis in autumn and winter 2004, *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**, 2218-2220.
- 9) U. S. Environmental Protection Agency (1976) Quality criteria for water. EPA-440/976023, Washington DC: U. S. Environmental Protection Agency.
- 10) U. S. Environmental Protection Agency (1986) Ambient water quality criteria for bacteria -1986, EPA A440/5-84-002, Washington DC: U. S. Environmental Protection Agency.
- 11) U. S. Environmental Protection Agency (2003) Bacterial water quality standards for recreational waters (freshwater and marine waters), EPA-823-R-03-008, Washington DC: U. S. Environmental Protection Agency.
- 12) Haack, S. K., Fogarty, L. R. and Wright, C. (2003) *Escherichia coli* and enterococci at beaches in the Grand Traverse Bay Lake Michigan: sources, characteristics, and environmental pathways, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 3275-3282.
- 13) Delille, D. and Gleozon, F. (2003) Distribution of enteric bacteria in Antarctic seawater surrounding the Port-aux-Français permanent station (Kerguelen Island), *Mar. Pollut. Bull.*, **46**, 1179-1183.
- 14) Noble, R. T., Leecaster, M. K., McGee, D. C., Weisberg, S. B. and Ritter, K. (2004) Comparison of bacterial indicator analysis methods in stormwater-affected coastal waters, *Water Res.*, **38**, 1183-1188.
- 15) Shibata, T., Solo-Gabriele, H. M., Fleming, L. E. and Elmir, S. (2004) Monitoring marine recreational water quality using multiple microbial indicators in an urban tropical environment, *Water Res.*, **38**, 3119-3131.
- 16) Chigbu, P., Gordon, S. and Strange, T. (2004) Influence of inter-annual variation in climatic factors on fecal coliform level in Mississippi Sound, *Water Res.*, **38**, 4341-4352.
- 17) 三浦運一, 釘本完, 大辻一義, 小沢利夫, 菅原一衛, 庄司光, 他 (1957) 尿尿海洋投棄に関する研究(3):大阪湾汚染共同調査報告, 国民衛生, **26**, 231-249.
- 18) 庄司光 (1956) 最近の公衆衛生の課題:都市のし尿処理. 大阪, 医学書院, 119-160.
- 19) 山本攻 (2007) 大阪市におけるし尿海洋投棄処分と大阪市立衛生研究所が果たした役割, 生活衛生, **51**, 178-184.
- 20) 古川隼士, 川畑勇人, 鈴木祥広 (2010) 沿岸レクリエーションエリアにおけるふん便性細菌汚染の調査, 環境技術, **39**, 493-499.
- 21) 松山優治 (2003) 3-6 塩分, 地球環境調査計測辞典 第3巻 沿岸域編, 竹内均編, pp.221-222, フジ・テクノシステム, 東京.
- 22) 気象庁, 気象統計情報, <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php> (2011年8月時点).
- 23) Ahn, J. H., Grant, S. B., Surbeck, C. Q., DiGiacomo, P. M., Nezhlin, N. P. and Jiang, S. (2005) Coastal water quality impact of stormwater runoff from an urban watershed in southern California, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 5940-5953.
- 24) Noble, R. T., Weisberg, S. B., Leecaster, M. K., McGee, D. C., Dorsey, J. H., Vainik, P. and Orozco-Borbón, V. (2003) Storm effects on regional beach water quality along the southern California shoreline, *J. Water Health*, **1**, 23-31.
- 25) Reeves, R. L., Grant, S. B., Mrse, R. D., Copil Oancea, C. M., Sanders, B. F. and Boehm, A. B. (2004) Scaling and management of fecal indicator bacteria in runoff from a coastal urban watershed in southern California, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 2637-2648.

[論文要旨]

近年、沿岸レクリエーション用水域が、ふん便に由来する病原性微生物によって汚染されることが問題となっており、ヒトへの感染・発症リスクはそれほど低くないといわれている。本研究では、病原性微生物の存否の指標となるふん便指標細菌の汚染状況を把握するために、宮崎県青島海水浴場において、ふん便性大腸菌群（FC）と腸球菌（ENT）のモニタリング調査を実施した。調査期間は、梅雨期間および海水浴場開放期間を含む2010年5月～8月とした。青島海水浴場において、FC、およびENTはそれぞれBDL（Below detection limits：検出下限値以下） $\sim 1.4 \times 10^3$ CFU $\cdot 100$ mL $^{-1}$ 、およびBDL $\sim 4.6 \times 10^2$ CFU $\cdot 100$ mL $^{-1}$ の範囲で検出された。約1ヵ月間実施した経日モニタリングでは、細菌数は降雨時に上昇し、両ふん便性細菌がUSEPAの基準値以上で検出される場合もあった。降雨時に高濃度で検出されたふん便性細菌は、降雨後の3日間で10 CFU $\cdot 100$ mL $^{-1}$ 前後まで低下した。

キーワード：ふん便性大腸菌群；腸球菌；沿岸レクリエーション用水域；ふん便汚染；細菌学的水質