飲食品の汚染指標としての腸球菌に関する研究—Ⅷ.

人の糞便、食品、水における腸球菌の菌数
ならびに菌型について

堀 江 進

(1959 年 11 月 26 日受理)

STUDIES ON ENTEROCOCCI AS POLLUTION INDICES
OF FOOD AND DRINK—VIII.NUMBERS AND TYPES OF ENTEROCOCCI IN
HUMAN FECES, FOODS AND WATERS

Susumu HORIE*

Comparative studies have been made between numbers of coliform bacteria and enterococci in human feces, raw fishes and shellfishes, frozen foods, ice-creams, well waters, coastal bathing waters and other waters. From the experimental results, no relationship between numbers of coliforms and enterococci was observed, particularly in sliced tuna, some frozen foods and ice-creams. Three hundred and four strains of enterococcus group isolated from almost all of the samples tested were classified according to the author's method²⁷⁾. Among these organisms, 283 strains (93.2%) were found to be classified into the following 3 groups; 161 strains (53%) belonged to type I, 44 strains (14.5%) to type II, 78 strains (25.7%) to type III. In general, type I organisms were found to be the most predominant ones; however, it was noted that the population of type III organisms were the greatest in the case of sliced tuna samples. In the present study, AYD-EAC broth method reported in preceeding paper²⁶⁾ was used for the determination of enterococci. Experimental results revealed that the most probable number of enterococci can be determined by AYD-EAC broth procedure irrespective of kinds of sample without laborious complete test. Therefore, the newly developed method for the examination of enterococci is simpler and requires less time than the method for coliform bacteria.

緒 言

糞便、食品、種々の水等における腸球菌の分布状態に関してはすでに多くの報告がある。OSTROLENK 等¹⁾, SLANETZ 等²⁾ および著者³⁾ は人あるいは動物の糞便における腸球菌々数を大腸菌あるいは大腸菌群菌数と比較しており、種々の水、下水等の腸球菌々数については LATTANZI 等⁴⁾, LEININGER 等⁵⁾, LITSKY 等^{6,7)}, MORRIS 等⁸⁾, RITTER 等⁹⁾ の報告がある。また RITTER 等¹⁰⁾, FRANCE 等¹¹⁾ はプールの水における連鎖球菌について研究している。食品類における腸球菌に関しては、かに肉について Mc CLESKEY 等¹²⁾, かきについて WILSON 等^{13,14)}, かに肉その他の食品について OSTROLENK 等¹⁵⁾, 乾燥卵について SOLOWEY 等¹⁶⁾, 冷凍した濃縮オレンジジュースについて KAPLAN 等¹⁷⁾, FERRARO 等¹⁸⁾, 冷凍した果実、野菜、水産食品等については LARKIN 等^{19,20)} の報告がある。わが国においても、いか、たこ、について那須²¹⁾, 生菓子について村磯²²⁾, 納豆について松本²³⁾, 種々の日常食品について宮林^{24,25)} の報告がある。しかしながら最近に至るまで腸球菌の定量的検査法として、特に信頼し得る方法は見出だされていないので、従来の多数の報告における腸球菌々数の測定値についてはかなりの疑問がある。前報²⁶⁾で著者は腸球菌撰択力の高い優れた定量

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

的検査法を報告したが、本研究では、この方法を用いて、人の糞便、食品類、井戸水、海水等の検体の腸球菌々数を測定し、大腸菌群菌数との比較を行い、さらに各種検体より両菌群菌株を分離し、腸球菌は著者の分類法²⁷⁾にしたがつて3種の菌型に分類し、大腸菌群は IMVIC system により分類し、これ等の検体における各菌型の検出状態を比較観察した。その結果上記の腸球菌検査法が食品、水等の検査の場合にも信頼し得る方法として応用できること、ならびにこれ等の検体からの分離菌株のほとんどすべてが前記3種の菌型に分類し得ることを認め、さらにまた種々の検体に存在する腸球菌と大腸菌群との菌数ならびに菌型の関係について若干の知見を得たのでこれ等について報告する。

実験材料および方法

1. 検査材料

糞便の試料は東京寄生虫予防協会から提供された。鮮魚介類および冷凍食品は 1958 年 5～6 月に主として百貨店あるいは小売店等で購入したものであるが、冷凍あさりおよびかきは日本輸出冷凍水産物検査協会から与えられた。アイスクリーム類は 1958 年 6～7 月に、何れも小売店で購入したものであるが、その中の大部分 (No. 1～15) はそれぞれの店で材料を配合調製したものであり、一部 (No. 16～19) は一流会社で製造包装されたものである。井戸水の試料は 1958 年 7 月東京都内およびその近郊から蒐集した。海水試料は 1958 年 7 月下旬神奈川県の下子、鎌倉、江の島、馬堀、金沢八景の各海水浴場および東京都の平和島海水浴場等から採集した。鎌倉、江の島、下子における水浴者数はこれ等海水浴場におけるほぼ最高程度であつた。馬堀、金沢八景の水浴者数は前3者に比べて遙かに少く、また平和島ではさらにごく少数であつた。その他の水、下水等の試料は都内西南部で採集したものである。以上の中、海水の場合には現地にて培地その他を持参し、採水後直ちに接種を行つた。その他の試料は何れも実験室に持参して接種したが、試料採取後1時間半以内に接種を完了した。

2. 大腸菌群の測定および菌型分類

糞便試料： 試料の中心部分より 1～2g を秤取し、10 倍量の滅菌生理食塩水に混釈振盪したものを原液とし、以下第1報³⁾に記載した方法に準じて、大腸菌群陽性の最高稀釈段階すなわち試料の最小検出量を求めた。

鮮魚介類、冷凍食品： 試料 40g をホモジナイザーのカップに秤取し、滅菌生理食塩水 360ml と混じ、ホモジナイザーにかけ均質乳状化したものを原液とし、常法によつて段階稀釈液をつくり、原液の 10ml および 1ml 宛、各稀釈液の 1ml 宛をそれぞれ3本の BGLB 培地に接種し、以下食品衛生検査指針²⁸⁾の方法に準じて完全試験まで行い、MPN 値を求めた。

アイスクリーム類： 室温で融解させたものを原液とし、以下鮮魚介類の場合に準じて行つた。

井戸水、海水、その他の水、下水： 飲料水検査指針²⁹⁾に記載された方法に準じたが全試料とも完全試験まで行つた後 MPN 値を求めた。

以上の各試料ごとに完全試験で大腸菌群に属すると認めた菌株の中の数株をえらび、IMVIC system による菌型分類を行つた。ただし糞便試料のみについては、この菌型分類を略した。

3. 腸球菌の測定および菌型分類

何れの試料においても大腸菌群の測定と同時に同じ原液および稀釈液を用い、著者の考案した AYD-EAC broth method²⁵⁾によつて行い、EAC broth 陽性の管数を以て MPN 値を算出した。なおすべての EAC broth 陽性の管より yeast dextrose agar に阿線培養し、集落を観察し、各試料ごとに数株を分離し、前報²⁰⁾に述べたとき完全試験を行い、腸球菌と確認した後、糖類分解能試験により菌型を分類した。

実験結果

1. 人の糞便についての観察

人の糞便の 40 試料について大腸菌群と腸球菌との菌数を比較し、かつ腸球菌分離菌株の菌型分類を行つた。両菌群菌数の比較を行うに当り、これ等の菌種が検出された最小検出量を F (g) とし、 $\log \frac{1}{F}$ を以つ

て示した。実験の結果は Table 1 に示すごとくである。

$\log \frac{1}{F}$ の平均値は大腸菌群 7.00, 腸球菌 5.68 で、前者が 1.32 の差で大であつた。40 検体の中腸球菌が大腸菌群より大きな数値を示したものの 8 検体, 両菌種が等しかつたもの 3 検体, 他の 29 検体では大腸菌群の方が大であつた。以上の結果から人の糞便における腸球菌々数は一般に大腸菌群菌数の 1/10 以下の場合が多いと考えられる。なおこれ等の各試料から腸球菌々株を 2~3 株宛分離し, その合計 92 株について菌型を分類した結果, 69 株 (75%) は I 型, 10 株 (10.9%) は II 型, 9 株 (9.8%) は III 型に分類され, 4 株 (4.3%) は以上 3 種の菌型の典型的糖類分解能を示さなかつた。

Table 1. Presence of coliform organisms and enterococci in human feces.

Sample No.	$\log \frac{1}{F}$		Sample No.	$\log \frac{1}{F}$	
	Coliforms	Enterococci		Coliforms	Enterococci
1	8	7	22	5	4
2	9	8	23	4	5
3	6	5	24	8	6
4	7	7	25	7	8
5	7	6	26	8	7
6	7	8	27	8	4
7	7	8	28	4	4
8	7	6	29	6	4
9	10	6	30	6	3
10	9	8	31	8	6
11	7	4	32	5	4
12	9	6	33	7	4
13	8	4	34	7	6
14	6	7	35	4	3
15	9	8	36	9	4
16	9	10	37	3	4
17	7	8	38	7	7
18	9	7	39	6	2
19	8	7	40	7	5
20	6	3			
21	6	4	Average	7.00	5.68

Table 2. Numbers and types of coliforms and enterococci in raw fishes and shellfishes.

Sample No.	Sample	MPN per 100g.		Coliforms*						Enterococci*		
		Coliforms	Enterococci	Esch.		Int.		Aerob.		I	II	III
				I	II	I	II	I	II			
1	Squid	0	91							1		1
2	Round clam**	21,000	7,500			4				2		2
3	"	21,000	15,000	1	1	1	1			1	1	
4	"	>240,000	>240,000	1	1	4	1			1		2
5	Oyster**	430	46,000		2						2	
6	"	24,000	240,000	3		1				2		1
7	"	95,000	240,000	1	1	2				1	1	1
8	Short-necked clam**	>240,000	>240,000	3		2				2		2
9	Clam**	1,600	9,300		2	1						3
10	Sardine	4,300	36	1		1		3			1	
11	Fillet of yellow-tail	>240,000	0									
12	Sliced tuna	>240,000	150			3					1	1
13	"	24,000	430				1	3				2
14	"	110,000	230			4						2
15	"	29,000	930		1	2				2	2	
16	"	43,000	15,000	1		1		1		1		2
17	"	21,000	4,300	2			1			1	1	2
18	"	1,500	750	1				2		2	1	1
19	"	43,000	430				1	1				2
20	"	110,000	4,300			2				1		2
21	"	93,000	36		1	1		1				1
22	"	>240,000	24,000			3						3
23	"	93,000	30			2						1
24	"	240,000	150									2
25	"	110,000	430			2		1		1		2
Total				13	10	36	5	8	4	18	10	35

* Figure represents the number of strains.

** Shucked shellfish.

2. 鮮魚介類についての観察

鮮魚介類の若干の試料について、大腸菌群と腸球菌との MPN を比較し、また両菌群の分離菌株の菌型分類を行った。実験の結果を Table 2 に示した。

介類では両菌群ともに菌数は大であるが、どちらかといえば腸球菌々数の方が大腸菌群菌数をやや凌駕する数値を示した。一方まぐろの刺身その他の鮮魚の試料では、大腸菌群 MPN 値が介類の場合と同様高い数値を示したのに対し、腸球菌 MPN 値は一般に遙かに低く、両者の差は大部分の試料で顕著であつた。分離菌株についてみると、大腸菌群では中間 I 型が最も多く、Escherichia I 型がこれについており、腸球菌では III 型が最多数を占め I 型がこれについている。一般に Escherichia I 型菌が検出された検体では、すべて腸球菌の I 型菌が検出されており、両菌型の分布について関連性が認められた。

3. 冷凍食品についての観察

冷凍した介類その他の食品について同様の観察を行い、その結果を Table 3 に示した。

Table 3. Numbers and types of coliforms and enterococci in frozen foods.

Sample No.	Sample	MPN per 100 g.		Coliforms*						Enterococci*		
		Coliforms	Enterococci	Esch.		Int.		Aerob.		I	II	III
				I	II	I	II	I	II			
1	Short-necked clam	430	4,300	1		1				2	1	
2	"	4,300	1,500	4						1		1
3	"	230	2,400	2						2		1
4	"	91	430	1		1				2	1	
5	"	230	9,300	2				1		1	1	1
6	"	3,500	4,300							2	1	1
7	"	92	91							1	1	
8	"	91	4,300	2						1	1	1
9	"	230	0	1								
10	"	110	91	1		1					1	
11	"	280	430	2				2		3		
12	Oyster	4,300	46,000	1		1		1		1	1	1
13	"	1,500	15,000	1		2				1	1	1
14	"	2,100	24,000	1				2		1		1
15	"	530	150,000	1		1	1			1		1
16	Oyster breaded	0	>240,000							3		
17	"	390	930,000					3		3		
18	Tuna sticks	0	46,000							2		2
19	"	>240,000	>2,400,000	2								2
20	Horse-mackerel breaded	430	430			3				1	1	1
21	Thick custardy soup	0	>240,000							3		2
22	"	430	120,000	2				1		2		1
Total				24	0	9	2	10	0	33	10	17

* Figure represents the number of strains.

一般に腸球菌は大腸菌群よりも高い MPN 値を示した。その中冷凍あさり、かきの場合には、わづかの例外を除いて両者の差はそれ程大きくはないが、かきブレツデッド、その他の製品の場合には、その差がきわめて顕著で、大腸菌群 MPN 値が 0 であつた 3 検体において、腸球菌ははなはだ高い菌数を示した。分離菌株の菌型の点では鮮魚介類の場合と趣きを異にし、大腸菌群では Escherichia I 型、腸球菌では I 型が最も多く検出された。

3. アイスクリーム類についての観察

アイスクリーム類について同様の観察を行い、その結果を Table 4 に示した。

No. 4 および 13 の試料では両菌群ともに大きな MPN 値を示し、No. 7, 9, 10, 12, 17, 18, 19 の 7 試料では両者の菌数ともに比較的小であつたが、その他の 6 試料では腸球菌の方が大腸菌群に比べ著しく高い

Table 4. Numbers and types of coliforms and enterococci in ice-creams.

Sample No.	MPN per 100 ml.		Coliforms*						Enterococci*		
	Coliforms	Enterococci	Esch.		Int.		Aerob.		I	II	III
			I	II	I	II	I	II			
1	7.3	7,500	1		1					2	2
2	7.3	24,000					1		2		
3	9.1	9,300					1				2
4	160,000	>2,400,000					2		3		
5	0	2,400							3		1
6	0	11,000							3		1
7	62	75					2		2		
8	11	15,000			2	1			1		
9	7.3	290				1	1		1		1
10	0	9.1									
11	>240,000	3.6					3				1
12	9.1	240					1		2		
13	>240,000	>240,000					4		2		
14	>240,000	0			1	1	1				
15	>240,000	390	3		1		2		1	2	2
16	7,500	15					3		2		
17	9.1	0					2				
18	0	0									
19	0	0									
Total			4	0	5	3	23	0	22	4	10

* Figure represents the number of strains.

Table 5. Numbers and types of coliforms and enterococci in well waters.

Sample No.	MPN per 100 ml.		Coliforms*						Enterococci*		
	Coliforms	Enterococci	Esch.		Int.		Aerob.		I	II	III
			I	II	I	II	I	II			
1	240	0			2	1					
2	0	0									
3	460	75			1	1	1		1	1	1
4	240	0				2	1				
5	290	3.6			3						1
6	460	3.6			1		1				1
7	1,100	0					3				
8	93	0						1			
9	150	0			3						
10	460	0			1		1				
11	93	3.6			1	1	2		1		
12	93	0			1		1				
13	> 2,400	0					2	1			
14	460	7.3					1	1	1	1	
15	3	0				1					
16	150	0			1		1	1			
17	0	0									
18	23	0			2						
19	43	0			2		1				
20	9.1	0			1	1					
21	> 2,400	150	2				3		3	1	1
22	23	0					2				
Total			2	0	19	7	17	7	6	3	4

* Figure represents the number of strains.

MPN 値を示し、さらに残りの4試料では全く逆の関係がみられた。本観察によつてアイスクリーム類の場合には両菌群の菌数の間の関連性は稀薄であることが示された。また分離菌株についてみると、大腸菌群では *Aerobacter* I 型が大部分を占め、*Escherichia* I 型は2試料で検出されたに過ぎなかつた。これに対し腸球菌では I 型が最も多数であつた。

4. 井戸水についての観察

井戸水の22試料について同様の観察を行い、その結果を Table 5 に示した。

全試料を通じて大腸菌群は大部分の試料において、相当の菌数が見出され、本菌群が検出されなかつたのは2試料に過ぎなかつた。これに対し腸球菌は大部分の場合、すなわち16試料では検出されず、また検出された6試料においりも MPN 値は比較的低くかつた。大腸菌群の分離菌株の菌型についてみると、中間 I 型と *Aerobacter* I 型とが大部分を占め、*Escherichia* I 型は腸球菌 MPN 値の最も高かつた No. 21 の試料で検出されたに過ぎなかつた。

5. 海水浴場の海水、その他の水についての観察

海水浴場の海水の12試料、プールの水の4試料、河水、下水等の6試料について同様の観察を行い、その結果を Table 6 に示した。

Table 6. Numbers and types of coliforms and enterococci in coastal bathing waters and other waters.

Sample No.	Sample	MPN per 100ml.		Coliforms*						Enterococci*		
		Coliforms	Enterococci	Esch.		Int.		Aerob.		I	II	III
				I	II	I	II	I	II			
1	Sea-water (Kanazawa-hakkei)	24,000	0	1		1		1				
2	" "	43,000	0	1		1		1				
3	" (Mabori)	43	0	2				1				
4	" "	23	0	1		1						
5	" (Heiwa-jima)	9,300	93	3				1		1	1	
6	" "	4,300	15	3						1	1	1
7	" (Zushi)	930	9.1	1				1	1	1		1
8	" "	150	3	1				2		1		
9	" (Kamakura)	150	7.2	3				1		1	1	
10	" "	240	0	3								
11	" (Enoshima)	120	15	3						1		
12	" "	2,400	11	3				1		1		
13	Water in swimming pool	43	0					2				
14	" "	0	0									
15	" "	9.1	0					2				
16	" "	3.6	3.6	1								1
17	River water	930	0	2								
18	" "	930,000	430			1		2		1	1	
19	Sewage	24,000,000	150,000	2				1		1	1	
20	" "	2,400,000	43,000	1				2		1	1	
21	" "	4,300,000	240,000	2		1			1	1		
22	" "	24,000,000	930,000	1				3		2	1	
Total				34	0	4	1	21	2	13	7	3

* Figure represents the number of strains.

海水浴場の海水の全試料を通じて大腸菌群は検出され、かつ腸球菌よりも遙かに大なる MPN 値を示した。これに反し腸球菌 MPN 値は93の数値を示した No. 5 の試料を除けば何れもきわめて小さく、5試料では全く検出されなかつた。大腸菌群では *Escherichia* I 型が総ての試料から分離され、腸球菌陽性の海水からは何れも I 型が検出された。大腸菌群菌数は鎌倉、江の島、逗子等のごとき水浴者数の多い海水浴場の試料で比較的小さく、水浴者数の遙かに少い金沢八景、平和島等で非常に大きかつた。プールの水の4

試料では両菌群ともに 0 またはきわめて小さい数値が得られた。下水では両菌群ともに高い MPN 値を示したが、両菌群の菌数を比較すると大腸菌群の方が遙かに大であつた。下水試料では *Escherichia* I 型、腸球菌の I 型がそれぞれ例外なく検出された。

6. 種々の検体より分離された腸球菌の菌型別の菌株数

以上観察した種々の検体より分離された腸球菌々株の中の極く一部は、糖類分解能試験の結果定型的 3 種の菌型に分類されず、これら非定型的菌株の糖類分解能は Table 7 に示す如き 5 種類であつた。

種々の検体より分離された腸球菌々株数を菌型別に示したのが Table 8 である。

人の糞便からは I 型が特に多数検出されており、その他の検体の場合においても一般に I 型菌が最も多数見出されているが、ただ鮮魚介類の場合では例外的に III 型菌が I 型菌より遙かに多く分離されている。これ等種々の試料から分離された菌株は合計 304 株で、その中 93.2% は定型的な 3 種の菌型に分類された。

Table 7. Fermentation of some carbohydrates by irregular type of enterococcal organisms isolated in the present study.

	Irregular type				
	I	II	III	IV	V
Mannitol	+	-	+	+	+
Sorbitol	+	-	-	-	+
Glycerol	-	-	+	+	+
Arabinose	+	+	+	-	+

Table 8. Type distribution of enterococcal organisms in various sources.

Source	Type			Irregular type					Total
	I	II	III	I	II	III	IV	V	
Human feces	69	10	9	3	1				92
Raw fishes and shellfishes	18	10	35	1	1	1	5		71
Frozen foods	33	10	17		1		2		63
Ice-creams	22	4	10		2			1	39
Well waters	6	3	4						13
Coastal bathing waters	7	3	2	2					14
Water of swimming pool			1						1
River waters	1	1							2
Sewages	5	3		1					9
Total	161	44	78	7	5	1	7	1	304
	53.0	14.5	25.7	2.3	1.6	0.3	2.3	0.3	
	93.2			6.8					

Figure represents the number of strains.

考 察

第 1 報³⁾において著者は諸種の動物の糞便における腸球菌々数が大腸菌群菌数よりも一般に小さい事を認めているが、今回さらに人の糞便の 40 検体についても同様腸球菌々数の方が小なることを認めた。これはすでに先輩によつてなされた報告と一致するものである。また第 2 報²⁷⁾では人の糞便から分離された腸球菌においては I 型菌が最も多数を占めることを観察しているが、今回の観察ではその傾向が特に著明で、分離菌株の 75% は I 型菌であつた。種々の食品や水について腸球菌と大腸菌群との菌数を比較した処、両菌群の菌数の関係は検体によつてははなはだまちまちであつた。観察の対照となつた鮮魚介類、アイスクリーム類等の食品は細菌の発育に充分な栄養素と水分とを含有している上に、観察が夏期行われているので、これ等の指標細菌が食品に附着あるいは混入した後に低温による管理の不完全な場合には、二次的に増殖する可

能性が当然考えられる。またその増殖度は菌種および菌型によつてかなりの差異があるであろう。まぐろの刺身の場合では大腸菌群菌数が腸球菌々数よりも著しく大きかつたが、このように高い大腸菌群 MPN 値は実際に濃厚な汚染による場合もあるであろうが、ある場合にはむしろ汚染後に著しい増殖が起る可能性も考慮すべきである。この場合、腸球菌の発育の可能性もまた考えられるが、魚肉のような条件ではその発育速度の点で大腸菌群よりも遙かに劣るであろう。何れにしてもこのように両者間の著しい菌数の差は外界における両菌群の発育力の差異に起因するものであろう。分離菌株の菌型についてみると、これ等の食品からは糞便の代表的菌型である *Escherichia* I 型、あるいは腸球菌の I 型等は比較的少く、中間 I 型あるいは腸球菌 III 型等が最も多数検出されている点等もこの辺の事情を裏書きしているものと思われる。冷凍介類では一般に腸球菌の方が高い MPN 値を示しているが、これは Table 2 に示されるごとく、冷凍前の介類においてすでに腸球菌々数の方が比較的大きいことに基くものであろうが、また冷凍冷蔵過程で腸球菌の生存力の方が強い点も若干関係していると考えられる。冷凍介類からの分離菌株の菌型は *Escherichia* I 型、腸球菌 I 型がそれぞれ最多数を占めており、前述のごとく汚染後の発育の可能性が考えられる鮮魚介類の場合に比べると、冷凍品の方が最初の汚染の状態をより直接的に反映しているものの如くである。冷凍かきブレッデッド、まぐろスティック、茶碗むし等の検体で大腸菌群が全く検出されぬにもかかわらず、著しく多数の腸球菌が存在したことについては説明が困難であり、更に検討を要する問題と思われる。小売店等で配合調製されたアイスクリーム類の試料では多くの場合腸球菌が大腸菌群よりも著しく大なる菌数を示した。その原因は明かでないが、加熱殺菌処理及びその後の低温処理の不完全等が原因し、比較的热抵抗の強い腸球菌が残存し、かつ発育するのではあるまいか。何れにしてもこのように多数の腸球菌が検出されることは製造処理の過程に食品衛生上の重要な欠陥があることを意味するであろう。アイスクリーム類の場合には腸球菌の I 型が最も多く検出されているにもかかわらず、大腸菌群においては *Escherichia* I 型はほとんど見出されず、*Aerobacter* I 型が最も多く検出されたが、この辺の事情は明かでない。井戸水の 22 試料の中の 20 試料から大腸菌群が相当数宛検出された。しかし *Escherichia* I 型の検出されたのは No. 21 の 1 例のみで、その他の試料ではすべて中間型、あるいは *Aerobacter* 型が見出されたに過ぎない。糞便による新しい汚染のある場合には当然 *Escherichia* I 型が最も多く検出されるべきであり、GRAY³⁰⁾ も指摘していることであるが、これ等の井戸水は糞便の汚染を受けているとしてもその汚染は相当古いもので *Escherichia* I 型は死滅し、生存力発育力に富む他の菌型のみが残存するに至つたものか、あるいは汚染に直接関係のない大腸菌群菌株が土壤中に分布しているのが、これが井戸水に混入してきたものであるか、何れかによるものであろう。このような点から *Escherichia* I 型以外の大腸菌群の細菌が井戸水から検出された場合の衛生学的意義については、いささか疑問の点がある。恐らく本邦における普通の井戸水の大部分から実際には大腸菌群が検出されるのではなからうか。これに対し、腸球菌は試験された 22 試料の中 6 試料のみから検出された。腸球菌は汚染されていない土壤中には普通存在しないといわれ、また井戸水のごとき条件では、まづ発育の可能性もなくかつ比較的生存期間も短いから、井戸水から本菌の検出された場合には相当新しい汚染があつたものと考えねばなるまい。したがつて汚染の危険を確実に検知するためには腸球菌検査を重要視すべきであろう。海水浴場の海水における大腸菌群菌数は水浴者の数よりもむしろ他の要因に支配されるようである。すなわち、鎌倉、江の島、逗子等の海水浴場では水浴者が極めて多いにもかかわらず大腸菌群 MPN 値は 120~2400 にとどまり、この数字は恐らく水浴者の直接汚染による大腸菌群 MPN 値の略限界を示すものと思われる。これに対し金沢八景、平和島等では水浴者がきわめて少いにもかかわらず大腸菌群 MPN 値は反対に前 3 者よりも遙かに大きいので、これ等の大腸菌群菌数はほとんど水浴者に関係なく、他に陸水の混入等の大きな汚染原が考えられる。鎌倉、江の島、逗子等の海水浴場で腸球菌々数ははなはだ小さいが、これは糞便における腸球菌々数が大腸菌群よりも小さいことを端的に反映したものとしよう。金沢八景の場合、大腸菌群菌数が 6 ケ所の中の最大値を示したのに対し、腸球菌が全く検出されなかつたことについては、両菌群の外界における、生存日数、発育力等の差が顕著に表現された結果とみることができる。

本研究において分離された腸球菌の 304 株の中、93.2% が著者の分類法によつて 3 種の菌型に分類され

た。その中 I 型菌は人の糞便からの分離菌株の大部分を占めているので、本菌型が人の糞便の腸球菌の代表的なものとみなし得る。したがって糞便による汚染を直接反映するような検体では当然 I 型が最も多数検出されるべきである。前述の鮮魚介類におけるごとく、III 型菌が I 型菌よりも多数見出される場合には汚染が間接的なものであるか、あるいは直接的汚染があつたとしても汚染後に菌数の変化する機会が存在したものと考えられる。

以上の MPN 測定実験では各試料毎に EAC broth 陽性の試験管の中から数本宛を撰び完全試験を行つたところ、何れの場合にも腸球菌を分離検出し得たので、水、下水等の場合はもちろん、鮮魚介類その他の食品の腸球菌の測定の場合にも AYD-EAC broth method によれば完全試験を省略し得ることを認めた。食品類の大腸菌群検査の場合には完全試験まで行ふ必要があるので、それに比較すると、ここに述べる腸球菌検査法は時間を要せず、操作の上でも遙かに簡易である。

摘 要

人の糞便における大腸菌群と腸球菌との菌数を比較した処、多くの場合腸球菌は大腸菌群の 1/10 以下の菌数を示した。鮮魚介類、冷凍食品、アイスクリーム類、井戸水、海水浴場の海水、その他の水について、大腸菌群と腸球菌との MPN 値を比較し、かつおのおの検体より菌株を分離し、大腸菌群は IMVIC system により、腸球菌は著者²⁷⁾の方法によつて分類した。食品類における両菌群の菌数の関係は、食品の種類あるいは個々の検体によつてはなほだまちまちであつたが、これは外界の種々の条件における生存力、増殖力等の点で両菌群の間に著しい差異があることに基因するものと考えられる。井戸水、海水浴場の海水等では一般に大腸菌群菌数は相当検出されたのに対し、腸球菌は全く検出されぬかあるいは極少数であつた。すべての検体から合計 304 株の腸球菌を分離したが、その中 283 株 (93.2%) は 3 種の菌型に分類された。本実験では腸球菌 MPN 測定法として、前報²⁸⁾で報告した AYD-EAC broth method を用いたが、この方法によると上記のごとき水、食品等の検査の場合に完全試験を省略し得るので、腸球菌 MPN 測定の方法は大腸菌群の場合より簡易であることを認めた。

終りに臨み、懇篤なる指導と校閲の労を執られた東京水産大学関根隆教授に謹んで感謝の意を表する。なお本研究に終始協力された野原照子氏および実験の一部を担当された佐久間彦彌、内田良の両氏に深く感謝する。

文 献

- 1) OSTROLENK, M. and HUNTER, A. C.: *J. Bact.*, **51**, 735 (1946).
- 2) SLANETZ, L. W. and BARTLEY, C. H.: *J. Bact.*, **74**, 591 (1957).
- 3) 堀江 進: 本誌, **25**, 294 (1959).
- 4) LATTANZI, W. E. and MOOD, E. W.: *Sew. and Indust. Wastes*, **23**, 1154 (1951).
- 5) LEININGER, H. V. and McCLESKEY, C. S.: *Appl. Microbiol.*, **1**, 119 (1953).
- 6) LITSKY, W., ROSENBAUM, M. J., and FRANCE, R. L.: *Appl. Microbiol.*, **1**, 247 (1953).
- 7) LITSKY, W., MALLMANN, W. L., and FIFIELD, C. W.: *Am. J. Pub. Health*, **45**, 1049 (1955).
- 8) MORRIS, W. and WEAVER, R. H.: *Appl. Microbiol.*, **2**, 282 (1954).
- 9) RITTER, C., SHULL, I. F., and QUINLEY, R. L.: *Am. J. Pub. Health*, **46**, 612 (1956).
- 10) RITTER, C. and TREECE, E. L.: *Am. J. Pub. Health*, **38**, 1532 (1948).
- 11) FRANCE, R. L. and FULLER, J. E.: *Am. J. Pub. Health*, **30**, 1059 (1940).
- 12) McCLESKEY, C. S. and BOYD, A. F.: *Food Technol.*, **3**, 337 (1949).
- 13) WILSON, T. E. and McCLESKEY, C. S.: *Food Res.*, **16**, 313 (1951).
- 14) WILSON, T. E. and McCLESKEY, C. S.: *Food Res.*, **16**, 377 (1951).
- 15) OSTROLENK, M., KRAMER, N., and CLEVERDON, R. C.: *J. Bact.*, **53**, 197 (1947).
- 16) SOLOWEY, M. and WATSON, A. J.: *Food Res.*, **16**, 187 (1951).
- 17) KAPLAN, M. T. and APPLEMAN, M. D.: *Food Technol.*, **6**, 167 (1952).

- 18) FERRARO, F. M. and APPLEMAN, M. D.: *Appl. Microbiol.*, **5**, 300 (1957).
- 19) LARKIN, E. P., LITSKY, W., and FULLER, J. E.: *Appl. Microbiol.*, **3**, 98 (1955).
- 20) LARKIN, E. P., LITSKY, W. and FULLER, J. E.: *Am. J. Pub. Health*, **46**, 464 (1956).
- 21) 那須昭夫: 日本衛生学雑誌, **8**, 182 (1954).
- 22) 村磯旺嗣: 腐敗研究所報告, **7**, 63 (1954).
- 23) 松本 埜: 日本衛生学雑誌, **9**, 254 (1955).
- 24) 宮林 晃: 千葉医学会雑誌, **33**, 117 (1957).
- 25) 宮林 晃: お茶の水医学雑誌, **5**, 243 (1957).
- 26) 堀江 進: 本誌, **26**, 169 (1960).
Horie, S.: *This Bull.*, **26**, 169 (1960).
- 27) 堀江 進: 本誌, **25**, 488 (1959).
Horie, S.: *This Bull.*, **25**, 488 (1959).
- 28) 厚生省編: 食品衛生検査指針 (1951).
- 29) 厚生省編: 飲料水検査指針 (1950).
- 30) GRAY, J. D. A.: *J. Hyg.*, **32**, 132 (1932).