

原 著

## 広島湾におけるカキ養殖海水およびカキの汚染指標菌の相関性 (1985 - 1996)

小川 博美 福田 伸治 佐々木実己子 竹田 義弘 東久保 靖

### Correlation between Total Coliform and Fecal Coliform in Oyster-growing Areas in Hiroshima Bay, 1985-1996

HIROMI OGAWA, SHINJI FUKUDA, MIKIKO SASAKI, YOSHIHIRO TAKEDA and YASUSHI TOUKUBO

(Received Oct. 9, 1997)

#### Summary

The coliform bacteria have been widely used as a bacteriological indicator of quality in oyster-growing areas. This study was performed to investigate the correlation between total coliform (TC) and fecal coliform (FC) of the seawater and those of the oysters in Hiroshima Bay.

The 856 samples of oysters and with same seawater were taken at 85 stations and subjected to an investigation of the coliform group during winter season from 1985 to 1996. These data were then compared with those in 1975-1984.

The results are as follows;

- 1) Between TC (X) and FC (Y), a linear equation by using least-square regression analysis gave  $\log Y = 0.715 \log X - 0.452$  and  $r = 0.880$  ( $p \leq 0.001$ ) in the seawater and  $\log Y = 0.877 \log X - 0.991$  and  $r = 0.867$  ( $p \leq 0.001$ ) in the oysters.
- 2) Between TC (X) of the seawater and FC (Y) of the oysters, a linear equation gave  $\log Y = 0.748 \log X + 1.040$  and  $r = 0.783$  ( $p \leq 0.001$ ).
- 3) Between FC (X) of the seawater and FC (Y) of the oysters, a linear equation gave  $\log Y = 0.920 \log X + 1.627$  and  $r = 0.782$  ( $p \leq 0.001$ ).
- 4) The FC/TC ratio was 10.0% and 3.4% in the seawater and the oysters, respectively. The concentrated ratio of FC from the seawater to the oysters was 36.5 times.
- 5) The correlation of coliform group of 1985-1996 and that of 1975-1984 resulted similarly, but compared with the data of 1975-1985, the concentrated ratio and FC MPN value equivalent to the 70 TC MPN in 1985-1996 slightly decreased from 43.1 in 1975-1985 to 36.5. and from 8.4-14 to 6.1-7.4, respectively.

These data suggest that the 70 TC MPN is equivalent to FC MPN of 6.1-7.4 in the seawater and there is significant correlation of coliform group between the seawater and the oysters. As a results, it is important to preserve clean oyster-growing areas in order to maintain the high quality of the oysters.

Keywords; Oysters, Oysters-growing areas, Coliform bacteria, Fecal coliform, Total coliform

#### 緒 言

今から450年前の1550年頃始まったといわれる広島湾のカキ養殖は、養殖技術の発展と共にその規模、生産量も飛躍的に発展し、1988年には筏数1万2,296台、剥き身カキ生産量は3万2,228トンに達し、日本の冬の食文化を飾ってきた[1]。しかし、その後1994年貝毒 (*Alexandrium. tamarense*) の発生、1995有害プランクトン (*Heterocapsa circularisquama*) の発生、過密養殖、養殖環境の変化等によるカキの大量へい死などに

より、1995年では筏数が1万441台、生産量2万2,341トンと減少している[2]。

豊かな海の幸“カキ”(マガキ; *Crassostrea gigas*) は、内臓を含めて生食されることから、その養殖海域が河川などから汚染を受けやすく、危害度の高い食品として食品衛生上重要な問題を有してきた。事実、米国、ヨーロッパ及びわが国などで、生カキ摂取による食中毒など消化器系疾病の発生例が多く報告されてきた[3,4]。これは河川水とともに湾に流入した病原微生物が、養殖海水に一定期間生残しカキを汚染すること

に起因する。広島湾でも河川水とともに流入した汚染水は、海水の潮流（5 cm-15cm/sec）、水温の変化や比重差による海水と河川水の物理的影響を受けて、垂直、水平方向の複雑な循環と混積を繰り返しながら分布している [5]。

わが国のカキ衛生対策の歴史は、(1)1957年（昭和32年）、広島県は「かき衛生指導要綱」を定め、1958年（昭和33年）、国は「かきに関する衛生上の指導について」（要綱）を定めた。その基準は養殖海水で大腸菌群300以下/100ml、カキ浄化用水で大腸菌群70以下/100mlであり、同時にその試験法が初めて定められた [6]。(2)1960年（昭和35年）には「広島県輸出向生鮮冷凍かき処理業者登録条例」が制定され、カキの輸出に向けた整備が進められた。また、1962年（昭和37年）には食品衛生法の食品添加物規格基準に「生食用冷凍かきの成分規格及び製造基準」が制定された [7]。その基準は一般細菌数50,000以下/g、大腸菌群MPN16,000以下/100g、養殖海水は大腸菌群MPN70以下/100mlで米国の基準に準じて定められた。このように、わが国における貝類衛生プログラムの基礎が確立した。

しかし、これらの対策にもかかわらず、1966年（昭和41年）12月中～下旬にかけて、関東以西11都府県で広島県産カキが原因と推定された食中毒が多発し、患者数は1,596名に及んだ [4]。(3)この事件を契機にして、1967年（昭和42年）には国内向け生食用生カキを対象に「生食用かきの成分規格、加工基準及び保存基準」 [8] が定められた。その基準は「一般細菌数50,000以下/g、大腸菌230以下/100g」で、従来の大腸菌群（TC）に替えて糞便性大腸菌群（FC）が採

用された。同時に加工基準として、「原料用カキは大腸菌群70以下/100mlの海域で採取されたもの、もしくは同等の海水で浄化処理されたもの」、保存基準についても10℃以下と定められた。さらに、市販生カキの表示は「生食用」と「加熱調理用」の用途別表示が義務付けられた。

広島湾カキ養殖海域の衛生調査システムは、1962年（昭和37年）に「日米貝類衛生取り決め」が締結され、北緯34°10′、東経132°20′を基軸に広島湾を1kmの格子に区分した海域調査図が設定された [5]。その後も同様の調査システムにより、衛生実態調査が継続されてきた。即ち、養殖海域はこのシステムで衛生評価されて指定海域（TC MPN 70以下/100ml）と指定外海域に区分され、衛生指導対策が進められてきた（Fig. 1）。

このようにカキ衛生対策は、早くからHACCP的な考え方を基本に、養殖海域の衛生評価のための細菌学的モニタリングや、採取されたカキの安全性確認の検査が行われてきた。これらの衛生評価の調査には、汚染指標細菌として大腸菌群（TC）、糞便性大腸菌群（FC）、大腸菌（*E.coli*）が用いられている [9]。これらの中で糞便汚染や病原性細菌、ウイルスの汚染分布との関連性の高さ、そして試験法の精度、検出感度、簡便性、迅速性を考慮して公定検査法が確立されてきた [10-12]。

米国ではカキ養殖海域の細菌学的基準としてTC、FCを採用し、海域の15回以上の調査データから次の4海域に区分している。(1)許可海域：TC中央値が70以下/100ml、かつ230以上が10%以下。(2)条件付許可海域（下水処理などの汚染条件によって許可される）。(3)制限海域：TC中央値が70を超え700以下、か

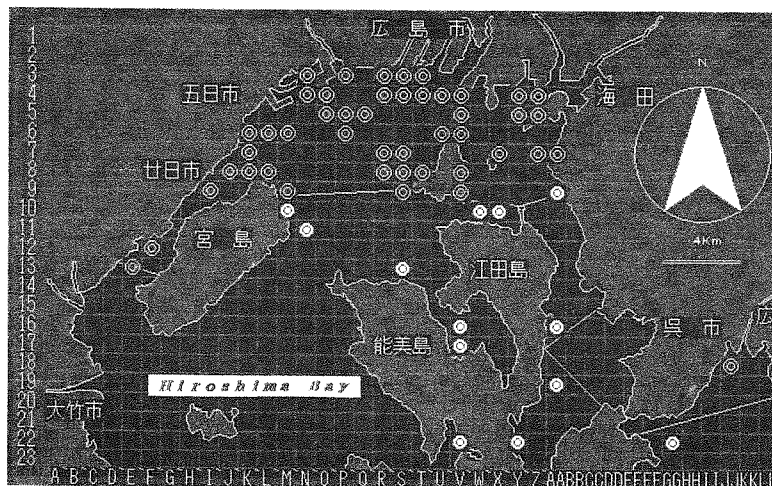


Fig. 1. Sampling station cites in Hiroshima Bay

Table 1. Microbacteriological criteria for shellfish-growing seawater

SPAIN FC/100ml	FRANCE E.coli/100ml	ITALY FC/100ml	USA <sup>a</sup> TC/100ml	WHO FC/100ml	JAPAN TC/100ml
Approved	Satisfactory	Acceptable	Approved	Approved	Approved
	0	90%; ≤2	Me ≤70 and	FC <sub>80</sub> =10	≤70
FC <sub>50</sub> =15 <sup>b</sup>	Acceptable		>230; <10% <sup>c</sup>	100%; <100	
FC <sub>90</sub> =50	0-60	Conditioned	Restricted		
	Suspicious	90%; ≤34	70-700 and		
	60-120	100%; ≤49	>2,300; <10% <sup>d</sup>		
Prohibited	Unfavorable	Prohibited	Prohibited	Prohibited	Unapproved
	>120		Me >700 or		>70
			>2,300; >10%		

a ; FDA committed to TC 70=FC 14 and TC 230=FC 43 in 1977

b ; 50% value is 50 MPN of FC and 90% value is 50 MPN of FC

c ; Median value is 70 of TC with ≤10% of samples exceeding 230 of TC

d ; Median value is 70-700 with ≤10% of samples exceeding 2,300 of TC

つ2,300以上が10%以下。(4)禁止海域：TC中央値が700を超えているか、または2,300以上が10%以上を占める海域とされている (Table 1)。1977年以降、このTCによる評価基準をFCで代用する場合、TC70はFC14、TC230はFC43に換値して、海域の衛生評価が行われている [13,14]。このように、国際的には病原微生物との存在がより関連性の高いFCや*E.coli*の採用が主流となっている [9]。

著者ら [15] は1985年、広島湾でのカキ養殖海域の大腸菌群 (TC) と糞便性大腸菌 (FC) の分布、相互の相関、汚染構成比及びカキへの濃縮について、TCとFCの汚染相関は  $r = 0.81 \sim 0.88$  と高く、FC/TC汚染比率は河川水で8.9%、海水で10.0% (7.7~11.5%)、カキで3.4% (3.5~6.7%) と報告した。さらに、海水とカキのペアデータ (n=522) の海水TC (X) とカキFC (Y) の相関は、 $\log(Y) = 0.668 \log(X) + 1.339$ ,  $r = 0.728$  と高く、養殖海域海水の清浄度が、カキの細菌学的品質に大きく影響し、カキFC/海水FC比は43.1倍で、海水からカキに高率に濃縮されることを明かにした。

そこで、今回1985-1996年の12年間の調査データを基に、前回の海水・カキの汚染指標菌の分布、相関等との比較や海水の汚染水準の変動の有無、海水汚染指標菌をTC MPN70からUSAなどのFC MPNに切り替える場合、その水準はどうかについて検討した。

## 材料及び方法

### 1. 調査期間および調査地点

1985~1996年の12年間、広島湾内各地点 (Fig. 1) から同時に同一場所で採取した海水、カキ各856検体の総計1,712 (59ポイント) について調査した。856検

体の海域別内訳は指定海域 (op) 200検体 (13ポイント)、指定外海域 (cl) 656検体 (46ポイント) である。

### 2. 採取時期

いずれの年もカキ採取期の10月~3月の冬季、主として下げ潮期に水深1mより採取した。採取時の海水温は、8.5~20.8℃、比重1.010~1.030、塩分濃度1.56~3.25%であった。

### 3. 細菌学的検査

APHA法 [16] に準じて、一般細菌数 (SPC/1ml, g)、大腸菌群最確数 (TC MPN/100ml, g)、糞便性大腸菌群 (FC MPN/100ml, g) を測定した。TC MPNはLBブイヨン (日水製薬) で37℃、48hr培養後、ガス陽性管をBGLB培地 (日水培地) に移植し、37℃、48hr培養しその陽性管数により求めた。FC MPNは上記LB培地陽性管からEC培地 (Difco社) に移植し、44.5±0.2℃、24hr培養後、その陽性管数からMPN値を求めた。

### 4. 検査データ処理

いずれのMPN値も常用対数変換 (測定限界以下のMPN<18, <1.8の場合はそれぞれ9, 1とした) し数値処理した。データ処理は海域別に全海域及び指定海域 (op) および指定外海域 (cl) に区分し、比較検討した。

指標菌の相関性は、まず海水、カキのそれぞれの同一試料内のTC (X) MPNとFC (Y) MPNを比較し、また、同一場所で採取された海水、カキ中の各指標菌間の交差したデータ比較による相関性を求めた。さらに、汚染指標菌パーセントイル、同様の調査を行った

1975-1984年と1985-1996年のデータ比較, 汚染構成比 (FC/TC比), 海水からカキへの濃縮比について検討した。

結 果

(1) 海水におけるTC MPNとFC MPNの相関

海水ではTable 2, Fig. 2に示すように, 全海域において有意で高い相関を示した。回帰式は $\log Y = 0.715 X - 0.452$ ,  $r = 0.880^{**}$  (F検定  $p < 0.001$ ) が求められ,  $Y_0$  (Xの平均値時のYの推計値) の95%信頼幅はlog値で $\pm 0.80$ であった。この回帰式による海水TC MPN 70, 230, 700時のFC MPNの推定値は, それぞれ7.4, 17.3, 38を示した。逆に海水FC MPN 14の時, TC MPN推定値は172を示した (Fig. 2)。海域別の相関係数間には有意差 ( $p < 0.045$ ) が認められ, また指定外海域と指定海域では, TC log中央値で2.16から1.03 (全海域1.9), 同様にFC log中央値でも1.08から0.32 (全海域0.91) と減少した。

(2) カキにおけるTC MPNとFC MPNの相関

カキにおける結果をTable 3, Fig. 3に示した。各海域における相関係数は  $r = 0.748 \sim 0.860$  で, 全海域では  $r = 0.867^{**}$  ( $p < 0.001$ ), 回帰式は $\log Y = 0.877 \log X - 0.991$ で示された。その $Y_0$ の95%信頼幅は, log値で $\pm 0.99$ であった。全海域での回帰式によるカキTC MPN 16,000 (昭和42年までのカキ成分規格) 時の, カキFC MPN推定値は498を示した。また, 逆にカキFC MPN 230時の海水TC MPNの推定値は全海域で6,637を示した。海域別では指定外で6,521, 指定海域で16,543を示した。海域別の相関係数は,  $r = 0.748 \sim 0.860$  (全海域  $r = 0.887$ ) で海域間の相関係数間に有意差 ( $p < 0.047$ ) が認められた。

(3) 海水TC MPNとカキFC MPNの相関

海水のTC MPNと同一場所のカキFC MPNの関係をTable 4, Fig. 4に示した。全海域 ( $n = 856$ ) では回帰式 $\log Y = 0.748 \log X + 1.040$ ,  $r = 0.783^{**}$ と有意 ( $p < 0.001$ ) な相関で示され,  $Y_0$ の95%信頼幅はlog値で $\pm 1.24$ であった。この回帰式による海水TC MPN 70, 700時の, カキFC MPNの推定値はそれぞれ262, 1, 471を示し, 逆にカキFC MPN 230時の海水TC MPNは59を示した。Table 4に示すように, いずれの海域でも  $r = 0.759^{**}$ ,  $r = 0.577^{**}$ と有意 ( $p < 0.001$ ) な相関を示したが, (1)(2)の同一試料内での比較に較べ低い値を示した。また, 海域ごとの相関係数間にも有

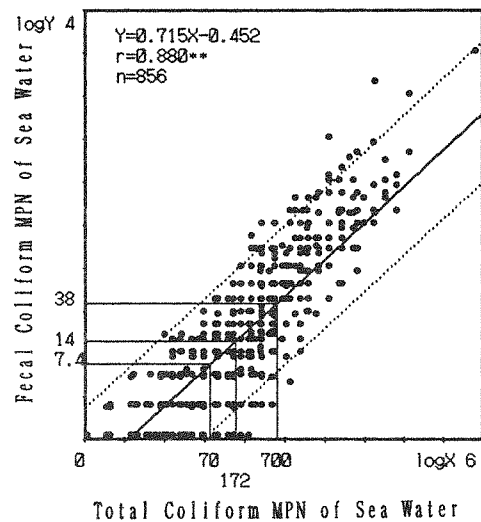


Fig. 2. Correlation between total coliform MPN and fecal coliform MPN in sea waters

———— : regression linear line  
 ..... : 95% confidence interval

Table 2. Correlation between total coliform MPN and fecal coliform MPN in the seawater<sup>a)</sup>

Sampling areas	No. of samples	Regression coefficient	F values	P values	Regression linear	Average of TC MPN(X)	Average of FC MPN(Y)	$Y^d$ X=70	FC/TC <sup>e</sup> ratio
Unapproved (cl)	656	$0.883 \pm 0.009$	2328	<0.001	$Y = 0.768 X - 0.585$	$2.16 \pm 0.99$	$1.08 \pm 0.86$	6.9	0.083
Approved (op)	200	$0.716 \pm 0.033$	223	<0.001	$Y = 0.484 X - 0.183$	$1.03 \pm 0.81$	$0.32 \pm 0.54$	5.1	0.182
Total areas	865	$0.880 \pm 0.008^b$	2937	<0.001	$Y = 0.715 X - 0.452$	$1.91 \pm 1.06^c$	$0.91 \pm 0.86^c$	7.4	0.1

a ; Total and fecal coliform MPN were transformed to logarithms  
 c ; Standard deviation of average  
 e ; FC/TC ratio was evaluated by each average

b ; Standard error of regression coefficient  
 d ; estimated by using regression linear with TC (X)=70

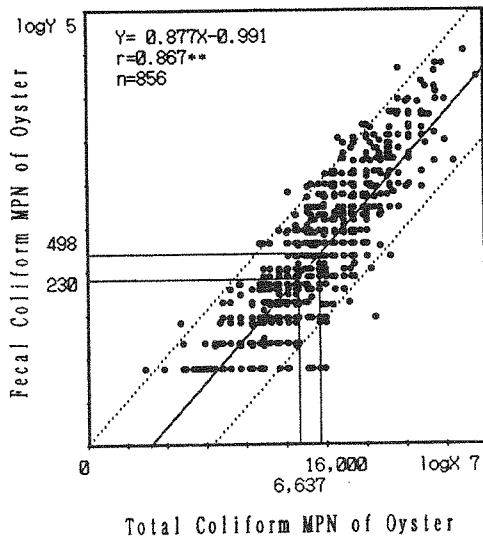


Fig. 3. Correction between total coliform MPN and fecal coliform MPN in oysters

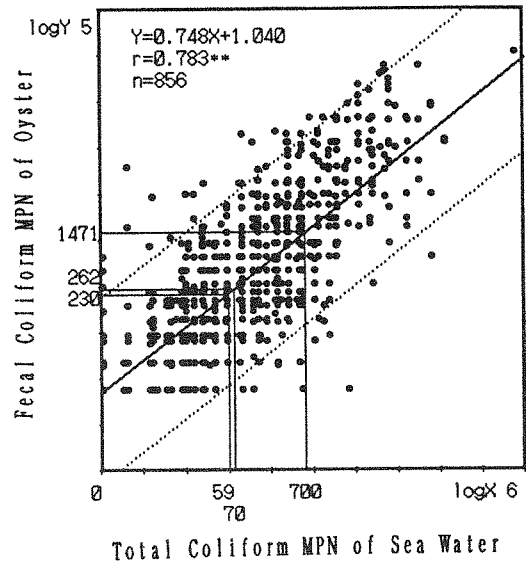


Fig. 4. Correlation between total coliform MPN of sea waters and fecal coliform MPN of oysters

Table 3. Correlation between total coliform MPN and fecal coliform MPN in the oysters<sup>a</sup>

Sampling areas	No. of samples	Regression coefficient	F values	P values	Regression linear	Average of TC MPN (X)	Average of FC MPN (Y)	Y <sup>d</sup> X=16000	FC/TC <sup>e</sup> ratio
Unapproved (cl)	656	0.860±0.010	1873	<0.001	Y=0.917 X-1.138	4.17±0.92	2.69±0.98	524	0.033
Approved (op)	200	0.748±0.030	260	<0.001	Y=0.618 X-0.245	3.16±0.86	1.70±0.70	225	0.035
Total areas	865	0.867±0.009 <sup>b</sup>	2578	<0.001	Y=0.877 X-0.991	3.94±1.00 <sup>c</sup>	2.47±1.02 <sup>c</sup>	498	0.034

a ; Total and fecal coliform MPN were transformed to logarithms      b ; Standard error of regression coefficient  
 c ; Standard deviation of average      d ; estimated by using regression linear with TC (X)=16,000  
 e ; FC/TC ratio was evaluated by each average

Table 4. Correlation between total coliform MPN in the seawater and fecal coliform MPN in the oysters<sup>a</sup>

Sampling areas	No. of samples	Regression coefficient	F values	P values	Regression linear	Average of TC MPN (X)	Average of FC MPN (Y)	Y <sup>d</sup> X=70	FC/TC <sup>e</sup> ratio
Unapproved (cl)	656	0.759±0.017	884	<0.001	Y=0.755 X+1.054	2.16±0.99	2.69±0.98	280	x3.4
Approved (op)	200	0.577±0.044	119	<0.001	Y=0.517 X+1.175	1.03±0.81	1.70±0.70	135	x4.7
Total areas	865	0.783±0.013 <sup>b</sup>	1350	<0.001	Y=0.748 X+1.040	1.91±1.06 <sup>c</sup>	2.47±1.02 <sup>c</sup>	262	x3.6

a ; Total and fecal coliform MPN were transformed to logarithms      b ; Standard error of regression coefficient  
 c ; Standard deviation of average      d ; estimated by using regression linear with TC (X)=70  
 e ; PFC/TC ratio was evaluated by each average

意差 ( $p < 0.047$ ) が認められた。回帰式による海水 TC MPN 70時, カキFC MPN推定値が230以下を示したのは, 指定海域の135のみで, 指定外海域では280を示した。

(4) 海水FC MPNとカキFC MPNの相関

同一場所で同時に採取した海水のFC MPNとカキFC MPNの関係を Table 5, Fig. 5に示した。全海域では $\log Y = 0.920 \log X + 1.627$ ,  $r = 0.782^{**}$  ( $p < 0.001$ )と有意な相関で示された。 $Y_0$ の95%信頼幅は,  $\log$ 値で $\pm 1.24$ であった。得られた回帰式による海水FC MPN 7.4 (海水TC MPN 70時の海水FC MPNの推定値)時のカキFC MPNの推定値は267が得られた。また, 海水FC MPN 14 (FDAの基準値)時のカキFC

MPNの推定値は, 230を超えて480であった。逆にカキFC MPN 230時の海水FC MPNの推定値は6.3を示した。海域別には, Table 5に示すように指定外海域  $r = 0.762^{**}$ , 指定海域で  $r = 0.591^{**}$ と有意 ( $p < 0.001$ )な相関を示した。また, 海域別の相関係数間にも有意差 ( $p < 0.045$ ) が認められた。(3)海水TCとカキFCとの関係と同様に(1)海水, (2)カキの場合に比較して低い相関係数を示した。

(5) 海水, カキの汚染指標菌のパーセンタイル

Fig. 6にBell曲線を用いて汚染指標菌のデータ分布をパーセンタイルで示した。指定外海域の海水TC MPNの中央値 (Me: 50%値) は, 130/100ml (全海域79) を示し, TC MPN 70は38%値を示した。また,

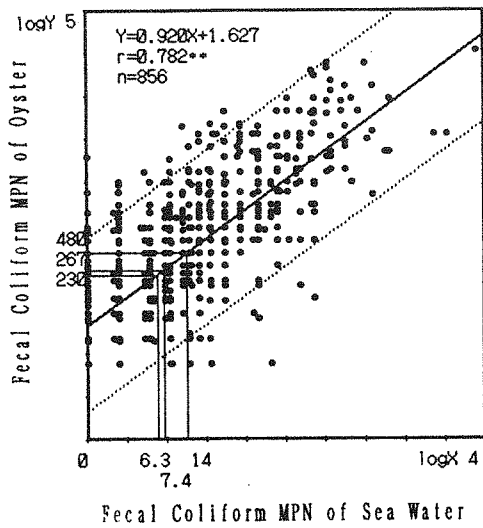


Fig. 5. Correlation between total coliform MPN of sea waters and fecal coliform MPN of oysters

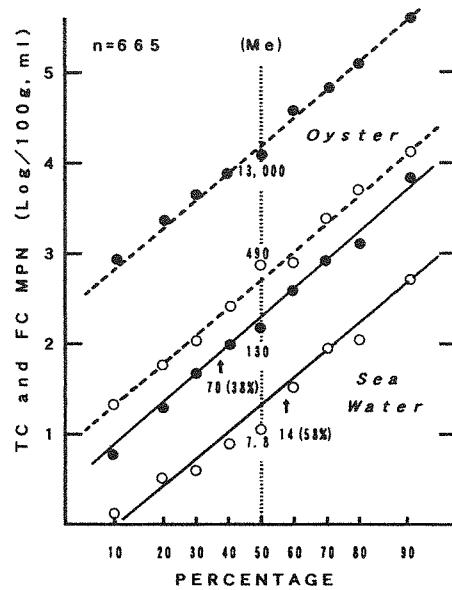


Fig. 6. The bell shaped curve of TC and FC in sea waters and oysters in unapproved area

●:TC ○:FC —:Oyster .....:Sea Water

Table 5. Correlation between fecal coliform MPN in the seawater and fecal coliform MPN in the oysters<sup>a</sup> (Analysis log's MPN)

Sampling areas	No. of samples	Regression coefficient	F values	P values	Regression linear	Average of TC MPN(X)	Average of FC MPN(Y)	Y <sup>d</sup> X=14	FC/TC <sup>e</sup> ratio
Unapproved (cl)	656	0.762±0.016	919	<0.001	Y=0.868 X+1.749	1.08±0.86	2.69±0.94	554	x40
Approved (op)	200	0.591±0.045	114	<0.001	Y=0.782 X+1.458	0.32±0.54	1.70±0.70	226	x25
Total areas	865	0.782±0.013 <sup>b</sup>	1347	<0.001	Y=0.920 X+1.627	0.91±0.86 <sup>c</sup>	2.47±1.01 <sup>c</sup>	480	x36.5

a ; Total and fecal coliform MPN were transformed to logarithms  
 c ; Standard deviation of average  
 e ; FC/TC ratio was evaluated by each average

b ; Standard error of regression coefficient  
 d ; estimated by using regression linear with FC (X)=14

海水FC MPNの中央値は7.8 (指定海域4.5) であり, FDA基準のFC MPN 14は58%値に相当し, FC MPN 38%値 (TC MPN 70) は5.0を示した. また, カキにおいてはTC MPN中央値は全海域で13,000 (全海域7,900) を示し, FCでは490 (全海域で230) を示した.

(6) 1975~1984年と1985~1996年のデータ比較

同様の調査を行った1975~1984年とのデータとの比較結果をTable 6に示した.

①測定中央値 (Me: 50%値) の比較

海水TCの全海域で130から79, 指定外海域で240から130と減少した. FCにおいても全海域で13から4.5, 指定外海域で17から7.8と海水の指標菌中央値は有意 (*Wilcoxon* 検定  $p < 0.001$ ) に減少した.

カキTCについても全海域でMPN値17,000から7,900, 指定外海域で24,000から13,000と減少した. カキFCにおいても全海域で490から230, 指定外海域で790から490と有意 ( $p < 0.001$ ) に減少した.

②汚染指標菌間の相関係数の比較

相関係数(r)で比較するとTable 6に示すように, 海水のTCとFCでは0.848と0.880と近似し有意差 (*F* 検定  $p < 0.380$ ) を認めなかったが, カキのTCとFC間では0.713と0.783 ( $p < 0.0047$ ) と有意な変化が認められた. 海水とカキのTC(W)とFC(O)では, 0.728と0.783 ( $p < 0.038$ ), FC(W)とFC(O)で0.713と0.782 ( $p < 0.047$ ) といずれも有意な変化が認められた.

③回帰式より得られる推定値の比較

海水TC MPN 70時のFC MPN推定値は8.2から7.4に, 700時44.3から38に減少した. カキTC 16,000時のカキFC MPNは550から496, 海水TC 70時のカキFC推定値は373から236に, 海水FC 14時のカキFCも599から266といずれも減少し, 生食用カキの成分規格230に近似化した.

④海水・カキのTC/FC比の比較

いずれの期間とも海水で10%, カキで3.4%と変化

Table 6. Comparisons of data in 1975-1984 and 1985-1996

Item		1975-84	1985-96
Seawater (W)	TC median value (all area)	130	79 <sup>e</sup>
	TC median value (unapproved)	240	130 <sup>e</sup>
	FC median value (all area)	13	4.5 <sup>e</sup>
	FC median value (unapproved)	17	7.8 <sup>e</sup>
	FC/TC ratio	10%	10%
	Correlation coefficient <sup>a</sup>	0.878	0.880 <sup>g</sup>
	FC MPN for TC MPN of 70	8.2	7.4
	FC MPN for TC MPN of 700	44.3	38
	TC MPN for FC MPN of 14	145	176
Oysters (O)	TC median value (all area)	17,000	7,900 <sup>e</sup>
	TC median value (unapproved)	24,000	13,000 <sup>e</sup>
	FC median value (all area)	490	230 <sup>e</sup>
	FC median value (unapproved)	790	490 <sup>e</sup>
	FC/TC ratio	3.4%	3.4%
	Correlation coefficient <sup>b</sup>	0.713	0.867 <sup>f</sup>
	FC MPN for TC MPN of 16,000	550	496
	TC MPN for FC MPN of 230	6,165	6,659
Seawater (W) and Oysters (O)	Correlation coefficient <sup>c</sup>	0.728	0.783 <sup>f</sup>
	FC(O) MPN for TC(W) MPN of 70	373	236
	FC(O) MPN for TC(W) MPN of 700	1,735	1,468
	Correlation coefficient <sup>d</sup>	0.713	0.782 <sup>f</sup>
	FC(O) MPN for FC(W) MPN of 14	599	266
	FC(W) MPN for FC(O) MPN of 230	4.2	6.1
FC(O)/FC(W) ratio		x43.1	x36.5

a ; between TC(W) and FC(W)

b ; between TC(O) and FC(O)

c ; between TC(W) and FC(O)

d ; between FC(W) and FC(O)

e ;  $p < 0.001$  (*Wilcoxon* test)

f ;  $p < 0.05$  (z test)

g:  $p = 0.35$

は認められなかった。しかし、海水FCとカキFCの濃縮比は43.1倍から36.5倍に減少した。

海水の汚染指標菌がTC, FCいずれの場合においても、カキFCとの相関は、それぞれ  $r=0.783^{**}$ ,  $r=0.782^{**}$ と両者に有意差は認めなかった。以上の結果から広島湾での指標菌分布は、TC MPN 70はFC MPNで  $7.4 \pm 6.4$  (95%信頼幅)であることが明かにされた。平均値によるカキFC/海水FC比(濃縮比)は、25~40倍(全海域36.5倍)を示した。海域別では清浄な指定海域の25倍に比較し、汚染レベルの高い指定外海域で40倍と高い濃縮を示した。

## 考 察

今回の調査で、海水とそこに養殖されるカキのTCとFCの関係は、海水で  $r=0.880^{**}$ , カキで  $r=0.867^{**}$ といずれも高い相関を示した。これは著者らの前回の調査結果とも良く一致した。カキについてのFDAの報告[17]では、カルフォルニア州での  $r=0.846$ , テキサス州での  $r=0.804$ の報告があるがこれらに近似した。このように今回高い相関を示したことは、いずれも海水、カキの同一試料内での分布比較のためと考えられる。また、海域別にみると海水、カキとも汚染源(河川口)からの距離、汚染濃度が高い指定外海域が、 $r=0.883$ ,  $r=0.867$ と指定海域の  $r=0.746$ ,  $r=0.716$ に比較し高い相関を示した。

海水のTC, FCの汚染量と同一場所で養殖されるカキのTC, FC汚染との関係についての報告は少ない。わずかにHopeら[18]の海水TCとカキTCは  $r=0.76$ の相関を認めたとの報告がある。前回の著者らの報告[15]では  $r=0.785$ であり、今回の結果はこれと一致し、全海域で  $r=0.783$ を示し、Hopeらの相関係数( $r=0.76$ )と近似した。

海域の汚染状況を評価する場合、その汚染指標菌に何を採用するかは、糞便汚染や病原微生物の存在との関連の強さ、検出感度、試験法の迅速性などから採用されてきた。このような考え方から国際的には多くの試料についてTCに替えてFCの採用が勧められてきた[13]。今回の海水FCとカキFCの相関性は、いずれの海域においても海水TCとカキFCの相関と同様の結果がえられ、また対応する海域ごとの両者の相関には有意差は認められなかった。このことは養殖海域の衛生評価に汚染指標菌TC, FCのいずれを用いても、相関性には差異のないことが示された。しかし、指定海域でのTC MPNの中央値が11を示すのに対し、FCは測定限界の $<1.8$ であることから検出感度の面で問題があると考えられる。

以上の結果から、日本での現行の海水TC MPN 70

以下の基準をFCに切り替えて評価する場合、①海水TC MPN 70時の海水FC MPNの推計値が全海域で7.4を示すこと。②カキFC MPN 230時の海水FC MPN推定値は、全海域で6.3を示したことから、広島湾ではTC MPN 70のFC水準では6.3~7.4と考えられた。また、①FDAの海水FC 14 (TC 70相当値)時のTC推計値は、全海域で172, 指定海域で174と現行TC 70をはるかに上回ること。②広島湾でのTC 70は38%値に分布し、またFC 14は57%値に相当することから「TC 70=FC 14」に切り替えることは基準緩和となり不適当と考えられた。

海域別の汚染指標菌の分布構成比(FC/TC比)は、海水で10%, カキで3.4%と安定した比率を示した。海水に比較してカキでその比率が小さいことは、FCがTCに比較して海水条件下(カキ腸管内で濃縮期間)で生残期間が短いことに起因するものと考えられた。

FC/TC比率については、Shundaer[19]のスプーン川での9.5%の報告や、Gallagher[20]のイギリスの河川水で8.9~24%の報告がみられる。FC/TC比は、一般的には糞便の新鮮汚染や、下水の未処理水の流入時などに高い値を示すと言われている。今回の成績から広島湾では、海水で8.3~9.9%, カキで3.3~3.5%と安定した比率で分布していることが明かにされた。

一般的には、汚染指標菌の海水水中での分布・消長は、海水の水温、塩分濃度、有機物濃度などの物理化学的環境条件の影響に左右されていると考えられている。著者らの成績でもFCはTCに比較して、海水水中での減少速度が早いことを示す結果であった。Savageら[21]は海水中のTCの消長は、 $10^5 \rightarrow 10^3/\text{ml}$ に減少するのに9日間、FCで6日間と報告している。また、Gerba[22]は自然海水水中でのFCの消長は、 $10^3 \rightarrow 10/\text{ml}$ 減少に3日間と報告している。McFetersら[23]は、FCの海水水中での半減時間T(1/2)は、水温10℃で3日間、15℃で15日と報告している。さらに、Manciniら[24]は海水t℃におけるTC死滅係数K(Mortality rate)は、 $Kt = [0.8+0.006(\text{salt}\%)] \times 1.07^{(t-20)}$ と報告している。

以上のようにFCがTCに比較して早い死滅速度を示すことは、TCを構成する菌群の90%は自然界由来のNon fecal coliformであり、主としては乳動物腸管由来の菌群で構成されるFCとでは、海水水中での生残性、蓄積性(濃縮)に差が生じるものと考えられる。

1975~85年の調査との比較では、回帰式や相関係数においては、どの期間とも近似した結果を示した。しかし、TC 70時のFC推定値は8.2から7.4に、海水からカキへのFC濃縮比も43.1倍から36.5倍にそれぞれ減少した。このことは、広島湾の汚染指標菌は比較的安定した相関のもとに分布し、調査期間による差異は認め



られなかった。しかし、今回の調査で各汚染指標菌の中央値 (Me: 50%値) は、いずれの試料中でも、有意な減少を示しており、広島湾は従前の汚染レベルより改善されていることが明らかにされた。推計値の変化はわずかに回帰式 (a) の変化により各指標菌の推計値にも微少な変化が生じたものと考えられた。

今回、広島湾における汚染指標菌の分布、汚染構成比、相互の相関性について明かにすることができた。これらの結果は、汚染源としての河川から流入する汚染指標菌の菌量、湾の水深や構造、潮流による拡散・希釈条件により、湾固有の値を示すものと考えられた。とくに、汚染指標菌の分布と消長は、このような湾固有の環境条件を背景に、河川からの継続的汚染と、海水の有する希釈・拡散、殺菌などの自浄作用等の循環条件下で推移していると考えられる。そして、汚染指標菌は各湾、各海域ごとに一定のレベルで相互に高い相関状況で分布し、そこに養殖されるカキの分布も、それに強く関連していることが明かにされた。

汚染指標菌のモニタリングにより、カキ養殖海域の衛生把握を行う根拠には、当然のことながら汚染指標菌と病原微生物存在の関連が高いことによる。カキおよび海水における汚染指標菌と病原細菌の分布と出現の関連については、多くの報告 [25-30] がみられ、また、汚染指標菌と病原ウイルスの分布についても多くの報告がある [31-36]。

従って、今後もHACCP的考え方を基本にカキの生産、加工、流通、消費の各過程で、衛生的基準で生産処理されたカキが、消費されるまでの確な衛生対応により、生食用カキによる食品事故を未然に防止することが重要と考えられる。

## 要 約

カキ養殖海水およびカキの細菌学的衛生評価は、汚染指標菌として広く大腸菌群が採用されている。今回、広島湾における海水とカキの大腸菌群 (TC) と糞便性大腸菌群 (FC) の相関性について検討した。

供試材料は1985~96年の12年間に広島湾の59ポイントで採取された856ペアー計1,712検体の材料から得られたデータを解析処理した。

また、これらの結果と同様の調査を行った1975~1984年のデータと比較検討を行った。

- 1) 海水中におけるTC (X) とFC (Y) の相関は  $\log(Y) = 0.715 \log(X) - 0.452$ ,  $r = 0.880^{**}$ , カキでは  $\log(Y) = 0.877 \log(X) - 0.991$ ,  $r = 0.867^{**}$  と高い相関を示した。
- 2) 海水TC (X) とカキFC (Y) の関連は  $\log(Y) = 0.748 \log(X) + 1.040$ ,  $r = 0.783^{**}$  を示した。
- 3) 海水FC (X) とカキFC (Y) の相関は  $\log(Y) = 0.920$

$\log(X) + 1.627$ ,  $r = 0.782^{**}$  を示した。

4) 海水におけるFC/TC比は10%, カキで3.4%, 海水からカキへのFC濃縮比は36.5倍を示した。

5) 1975~85年調査とのデータ比較では、回帰式や相関係数ではどの期間とも近似した結果を示したが、各指標菌の中央値は海水、カキとも有意に減少した。さらに、TC 70時のFC推定値は8.2から7.4に低下し、海水からカキへのFC濃縮比も43.1倍から36.5倍にそれぞれ減少した。

これらの結果から、海水とカキにおける汚染指標菌の相関は高く、カキ衛生対策には清浄な養殖海域の確保が重要である。また、海水の汚染指標菌を現行TC 70/100mlをFCに切り替える場合、そのMPN値は6.1~7.4と推計された。

## 文 献

- [1] 中国四国農政局 (1988): 広島農林水産統計年報 (水産編) 1987-1988. 248, 広島農林統計協会, 広島。
- [2] 中国四国農政局 (1996): 広島農林水産統計年報 (水産編) 1995-1996. 208, 広島農林統計協会, 広島。
- [3] Wood, P.C. (1976): Guide to shellfish hygiene. WHO offset publication No.31, World Health Organization, Geneva.
- [4] 持永泰輔 (1969): 広島産生カキによる食中毒事件. モダンメディア, 15, 89-92.
- [5] 小川博美 (1992): カキ衛生と広島湾 (総説). 広島県衛生研究所報, 39, 1-22.
- [6] 厚生省 (1958): 「かきに関する衛生上の指導について」. 厚生省衛発96号, 昭和33年2月1日付。
- [7] 厚生省 (1962): 「食品, 添加物等の規格基準の一部改正」. 厚生省告示第192号, 昭和37年5月26日付。
- [8] 厚生省 (1967): 「食品, 添加物等の規格基準の一部改正」. 厚生省告示第349号, 昭和42年8月2日付。
- [9] Martinez-Manzanares, E. et al. (1992): Relationship between indicators of fecal pollution in shellfish-growing water and the occurrence of human pathogenic microorganisms in shellfish. J. Food. Prot., 55, 609-614
- [10] U.S. Food and Drug Administration (1970): Shellfish growing area survey procedures. U.S. Publ. Health Service, Washington, DC.
- [11] U.S. Public Service (1986): National shellfish sanitation program manual of operation. part 1. Sanitation of shellfish growing areas., U.S. Publ. Health Service, Washington, DC.
- [12] U.S. Food and Drug Administration (1987): National

- Shellfish sanitation program manual of operation. Part II. Sanitation of the harvesting, processing and distribution of shellfish., U.S. Publ. Service, Washington, DC.
- [13] Hunt, D.A. (1974): Preliminary report on a comparison of total coliform and fecal coliform values in shellfish growing area waters and approposal for a fecal coliform growing area standard. Proceeding 8th national shellfish sanitation workshop., New Orleans, Louisiana.
- [14] Food and Drug Administration (1989): Sanitation of shellfish growing areas. National Shellfish Sanitation Program Manual of Operations Part I. Center for Food Safety and Applied Nutrion, Division of Cooperative Program, Shellfish Sanitation Branch, Washington, D.C.
- [15] 小川博美, 岸本敬之, 得能弘志ほか (1986) : かき養殖海水とかきにおける大腸菌群MPNと糞便性大腸菌MPNの相関性. 食品と微生物, 3, 87-94.
- [16] American Public Health Association (1985): Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed., American Public Health Association, DC.
- [17] Food and Drug Administration (1975): 9th National Shellfish Sanitation Workshop, Charleston, South Carolina. 62-67.
- [18] Hope, J.A. et al. (1961): Coliform E.C. gas positive relationships in shell stock, sea water and bottom sediments from areas of varying bacterial quality. Proc. Shellfish Sanitation Workshop, NEW, PHS.
- [19] Shundaer, L. (1974): Bacteriological assessment of spoon river water quality. Appl. Microbiol., 28, 288-297.
- [20] Gallagher, T.P. et al (1968): The significance of numbers of coliform bacteria as an indicator of enteric pathogens. Wat. Res., 2, 169-175.
- [21] Savage, H.P and Hanes, N.B (1978): Toxicity of seawater to coliform bacteria. J. WPCF., 43, 854-861.
- [22] Gerba, C.P. et al (1976): Effect of sediment on the survival of *Escherichia coli* in marine waters. Appl. Environ. Microbiol., 32, 114-120.
- [23] McFeters, G.A. and Stuert, D.G. (1972): Survival of coliform bacteria in natural water: Field and laboratory studies with membrane-filter chambers. Appl. Microbiol., 24, 805-811.
- [24] Mancini, J.L. and Ridgewood, N.J. (1978): Numerical estimates of coliform mortality rates under various conditions. J. WPCF., 50, 2477-2484.
- [25] Andrews, W.H., Diggs, C.D., Presnell, M.W. et al. (1975): Comparative validity of members of the total coliform and fecal coliform groups for indicating the presence of *Salmonella* in eastern oyster, *Crassostrea virginica*. J. Milk Food Technol., 38, 453-456.
- [26] Venkateswaran, K. and Hashimoto, H. (1988): Infuence of indicator bacteria on the incidence of *Salmonella* in aquatic environment. Nippon Suisan Gakkaishi, 54, 253-258.
- [27] 福田伸治, 岸本敬之, 得能弘志ほか (1981) : カキ衛生からみた広島湾の*Salmonella*汚染について. 広島県衛研所報, 28, 19-25.
- [28] 小川博美, 得能弘志, 佐々木実己子ほか (1980) : かき生育環境における病原大腸菌の分布, *E.coli* MPNと病原大腸菌汚染との関連性. 食衛誌, 21, 5-12.
- [29] Hood, M.A., Ness, G.E. and Blake, N.J. (1983): Relationship among fecal coliforms, *Escherichia coli*, and *Salmonella* spp. in shellfish. Appl. Environ. Microbiol., 45, 122-126.
- [30] D'aoust, J.Y., Gelinass, r. and Maishment, C. (1980): Presence of indicator organisms and recovery of *Salmonella* in fish and shellfish. J. Food Prot., 43, 679-682.
- [31] Dutka, B.J., Shaarawi, A.E., Martins, M.T. et al. (1987): North and south american studies on the potential of coliphage as a water quality indicator. Wat. Res., 21, 1127-1134.
- [32] Labelle, R.L., Gerba, C.P., Goyal, S.M. et al. (1980): Relationships between environmental factors, bacterial indicators, and occurrence of enteric viruses in estuarine sediments. Appl. Environ. Microbiol., 39, 588-596.
- [33] Fattal, B.T., Vasl, R.J., Katzenelson, E. et al. (1983): Survival of bacterial indicator organisms and enteric viruses in the Mediterranean coastal waters of Tel-Aviv. Wat. Res., 17, 397-402.
- [34] Fugate, K.J., Gliver, D.O. and Hatch, M.T. (1975): Enteroviruses and potential bacterial indicators in Gulf coast oyster. J. Milk Food Technol., 38, 100-104.
- [35] Gerba, C.P., Smith, E.M. and Melnick, J.L. (1977): Development of a quantitative method for detecting enteroviruses in estuarine sediments. Appl. Environ. Microbiol., 34, 158-163.
- [36] Gerba, C.G. and Goyal, S. (1978): Detection and occurrence of enteric viurues in shellfish: A Review. J. Food Prot., 41, 743-754.