

# グリセリン保存液における 赤痢菌の消長について

細菌病理科 小林 運 蔵

## 実験の目的

近年県内の赤痢菌健康保菌者検索の際、保菌者の検出率が著しく低下しており、その原因についていろいろ思考されているが、検体の保存、即ち糞便を採取してから検査にいたるまでの保存日数、保存時の温度、あるいは使用培養基など、その要因と考えられるので、つぎの実験を試みた。

供試菌株

S. sonnei 1, S. flexneri 2a(2株)

供試培地

選択培地. S.S寒天, 非選択培地. ドリガルスキー改良培地 (B. T. B)

## (I) 実験の方法

供試菌株 S. sonnei および S. flexneri. 2b の 2 株を 24 時間 37°C 孵卵器で純粋培養して、それぞれ標準白金耳で 1 エーゼを、生理的食塩水 10 ml に浮遊させ、これより

1/10 希釈倍数 5 段階の赤痢菌浮遊液をつくり、その 1 エーゼを供試培地平板上に硝子棒を用いて全面に平等塗抹 24 時間培養、2 回反復試験の結果、肉眼で容易に数えられる範囲 1/10, 1/100 の希釈倍数を得たので、可検材料を

- 1) 中温 (室温 26°C ~ 29°C) 保存
  - 2) 低温 (冷蔵庫 1°C ~ 4°C) 保存
- の 2 条件下で実験観察した。

## (II) 実験成績

### A 中温保存の赤痢菌の消長

26°C ~ 29°C の室温に保存した赤痢菌浮遊検体 1 ~ 4 について保存時間 24 時間ごとと 6 日間菌の消長を観察するに、保存 2 日目から赤痢菌の発育が著しく低下、ことに選択培地 S.S 寒天平板において著明であった。又非選択培地 (B. T. B) において保存 5 日目の検体には全く赤痢菌が認められなかった。

(表 I 参照)

表 I 中温保存 (26°C ~ 29°C) の赤痢菌の消長実験

培養日数	可検材料		1. グリセリン保存液 ガラス採便管小		2. 糞便入グリセリン保存液 ガラス採便管小				3. ポリ容器保存液 ポリ採便管中				4. 生理的食塩水 ガラス採便管小				
			供試菌株		S. sonnei, I		S. f. 2a		S. sonnei, I		S. f. 2a		S. sonnei, I		S. f. 2a		
	菌の希釈	供試培地	Sh. sonnei, I	S. f. 2a	S. sonnei, I	S. f. 2a	S. sonnei, I	S. f. 2a	S. sonnei, I	S. f. 2a	S. sonnei, I	S. f. 2a	S. sonnei, I	S. f. 2a			
一 日目	S.S 培地	1/100	1/1000	17	3	39	15	12	5	44	5	16	2	62	29	21	4
	B.T.B 培地	60	12	55	23	154	52	118	12	134	33	103	11	160	57	60	10
二 日目	S.S 培地	7	0	4	1	2	5	0	0	4	0	1	0	1	0	2	0
	B.T.B 培地	34	4	24	6	43	0	29	0	68	4	42	4	52	7	0	0

三 日 目	SS培地	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	BTB培地	0	0	0	0	7	1	0	0	10	0	0	1	0	0	0	0
四 日 目	SS培地	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	BTB培地	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
五 日 目	SS培地	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	BTB培地	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

B 低温保存の赤痢菌の消長

1℃～4℃の冷蔵庫に保存した赤痢菌浮遊検体をAの場合と同じく、その消長を観察比較実験したところ著しい差異が認められた。即ち低温にあつては6日間の保存にもかかわらず、(B.T.B)培地平板において、その

位下は殆んど認められず、選択培地のSS寒天板においてのみ保存日数の経過とともに次第に発育の低下が見られた。

(表II参照)

表II 低温保存(1℃～4℃)赤痢菌の消長実験

培養 日 数	可検材料 供試菌株 菌の希釈 供試培地	1. グリセリン保存液 ガラス採便管小				2. 糞便入りグリセリン 保存液ガラス採便管小				3. ポリ容器保存液 ポリ採便管 中				4. グリセリン保存液 ガラス大型採便管			
		S. sonnei, I		S.f. 2a		S. sonnei, I		S.f. 2a		S. sonnei, I		S.f. 2a		S. sonnei, I		S.f. 2a	
		1/100	1/1000	1/100	1/1000	1/100	1/1000	1/100	1/1000	1/100	1/1000	1/100	1/1000	1/100	1/1000	1/100	1/1000
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
一 日 目	SS培地	11	2	17	2	30	4	31	8	13	1	24	2	15	0	17	2
	BTB培地	6	7	55	10	40	10	210	24	25	6	193	10	19	3	52	16
二 日 目	SS培地	6	1	12	1	15	2	13	0	4	0	7	2	4	1	6	4
	BTB培地	7	3	26	4	44	8	140	32	17	2	90	12	15	2	45	4
三 日 目	SS培地	3	1	3	0	6	1	5	0	0	0	2	1	2	0	5	0
	BTB培地	10	4	36	2	32	5	175	25	21	2	106	11	18	2	76	5
四 日 目	SS培地	2	0	11	0	2	1	4	0	6	1	5	1	3	0	8	1
	BTB培地	13	2	90	12	31	11	214	29	35	8	105	24	30	1	95	13
五 日 目	SS培地	1	1	4	0	3	0	1	0	0	0	2	0	3	0	4	0
	BTB培地	11	1	76	5	44	4	151	20	33	3	182	20	11	3	56	12
六 日 目	SS培地	1	0	4	0	3	0	1	0	2	0	5	0	2	0	8	2
	BTB培地	8	3	71	10	30	2	210	26	46	5	190	29	10	4	74	15

※培養は検査別各2枚づつ平板を使用しその平均数を記載した。

(III) 考 察

本実験の結果を考察すると、グリセリン保存液中における赤痢菌の消長は、検体保存時間や温度等によって著しく左右されること。又培養基において、選択培地SSより非選択培地使用の方が消長が少ない。これは保存日数の経過に伴い菌の生存力が減弱するので選択培地SSの胆汁酸塩などに更に菌が弱められるなども考えられる。又採便管は大型のものより中型(約15ml)位の容器の方がよい。

グリセリン保存液(厚生省指針)、生理的食塩水、滅菌した糞便(約5%)を入れたグリセリン保存液の比較は糞便入りが一番よく、次にグリセリン、食塩水の順であった。以上本試験成績は一回の実験結果にすぎず、又供試菌株は10数年継代の標準株を使用したので菌の変異減弱等も考えられるので、このまま呑みすることは出来ない。しかし保存液といえども、長時間の保存はよい成績は得られず、使用培地も選択培地、非選択培地を併用する必要性など考察される。