

大腸菌群試験用C T 錠の考案

大 和 平 易

Method of 'C. T. tablet' for Coli form group test

HIRAYASU YAMATO

緒 言

水中の大腸菌群の存否の検査は、飲料水の尿尿性汚染の有無判定に関する直接の試験法として、衛生的水質試験法中最も重要不可欠なものの一つである。

又近年公衆衛生の発展と共に、海水浴場、プール、公衆浴場に於ける汚染の検定等に必ず用いられて、ますますその重要性を増してきている。

又一般に広く飲食物の尿尿性汚染の判定にも重要な試験法として用いられ、食品衛生上も有用不可欠な方法である。

著者は、この大腸菌群の推定試験について、従来B. T. B. 加乳糖ブイオン醗酵管による培養法の代りに、より簡単便利に、検水に単に一個の錠剤を投入して、培養する事によって、同様に大腸菌群の存在を推定する事の出来る一新法(C. T. 錠法)を考案完成したので、その製法、使用法、従来法との比較試験結果、及びその特長等を報告する事とした。

第一 試験錠の製法と使用法

〔製法〕

ガラス繊維をまるく切り、その周囲を熔接したものを

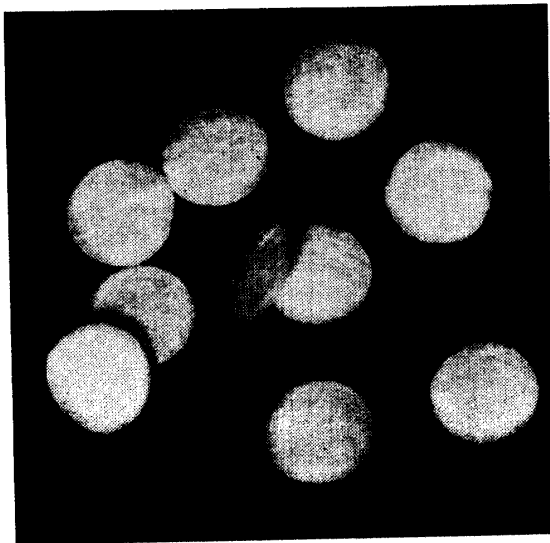


図 I

浮標と名付け(図 I)、この滅菌浮標に、下記養分を一定量、無菌的に含ませ、十分に乾燥したものである(図 II)。

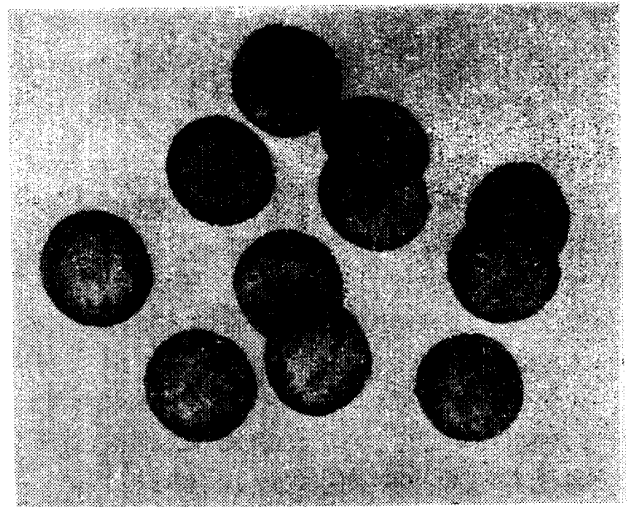


図 II

(i) 浮標について

a 繊維類が水中で発生する微細なガスを附着して浮上する事を応用したものであるが、種々な繊維で検討した結果、ガラス繊維(比重 2.5)が、最もこの目的の為に、好結果を与え、これを用う事とした。

b ガラス繊維による浮標の型についても、種々検討したが、その結果、円板型のものが最も好都合であった。

c ガラス繊維を接着する方法についても、種々な接着剤を使用して検討したが、ガス熔接が最も簡単で、この目的の為に勝れていた。

但し、余り強くその周囲を熔接したものは、浮上し難くなるから注意を要する。

d 浮標の大きさは、検水10cc用は直径1.5mm、50cc用は2mmの大きさとし、厚み及び量は、出来るだけふうわりするようにして、10cc用については含水量が、約0.5cc、50cc用では、約2.5ccになるように厚みを限定した。

e 浮標の浮上状態を、従来行われている醗酵管法と比較検討した結果、次表 I のようであった。

(実験方法)

規定の濃度になるように、検水中に滅菌した養分を加

え、その中に滅菌浮標を投入し、一方同一検体を同量、対照試験として、Smith 醱酵管で、常法に従い、共に24時間～48時間培養して結果を比較判定した。

第 I 表

		128 例 中					
		対照試験と同結果のもの 113例				異ったもの 15例	
浮標	培養時間	+	-	-	+	+	-
		24h	+	-	-	+	+
	48h	+	-	+	+	+	-
対照	24h	+	-	-	-	-	-
	48h	+	-	+	+	-	+
		79例	27例	2例	5例	10例	5例

(ii) 養分について

浮標に処定量の養分を含ませて、二十数種類の錠剤を試作してみたが、B. T. B 指示薬並びに乳糖が、最も変質され難く、又製錠過程において、PH値が余り変動しない下記の方法が良好な結果を得た。

(養分組成)

A液：肉エキス20g、ペプトン40g、を水に加熱溶解して、全量100ccとなし、高压滅菌又は間歇滅菌し、これに3gのNa₂CO₃を無菌的に加え、溶解せしめる。

B液：乳糖40g、0.2% B. T. B. 溶液40ccを水に加温溶解して、全量100ccとなし、100°C、30分間、連続3日間、間歇滅菌しておく。

(B液は寒冷中、長日時放置すると乳糖結晶が折出するから注意を要す)

以上のA液及びB液を使用のつど同量混和し、10cc用浮標には、約0.5cc、50cc用には2.5ccを含ませる。

(iii) 乾燥方法について

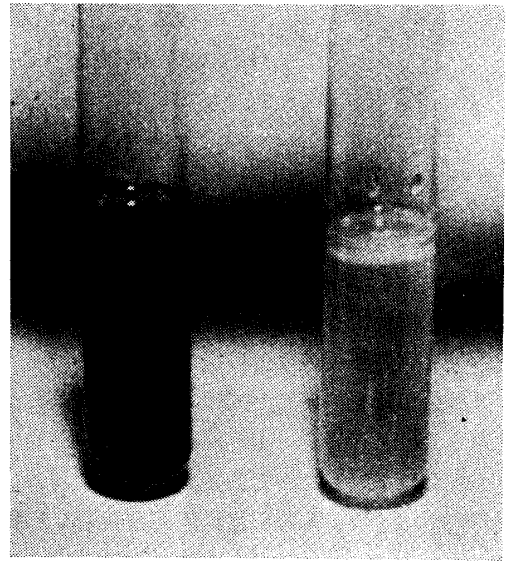
乾燥は60°C～70°C以下の温度で、無菌的に乾燥する必要があり、それ以上の温度では、乳糖、B. T. Bが変質した。

尚、乾燥法として減圧乾燥法、凍結真空乾燥法を用いると好結果を得るものと思う。

〔使用方法〕

10cc又は50ccの標線のある滅菌試験管に、検水を無菌的に標線迄加え、10cc用錠剤又は50cc用錠剤を滅菌したピンセットで投入し、2～3分間放置したのち、養分の溶出をまって、良く振盪し、養分濃度を均等にして、37°Cで24時間～48時間培養する。

試験陽性の場合、B. T. B指示薬が黄変し、浮標が浮き上がる。浮標が浮上しない場合は陰性である。(図Ⅱ)



図Ⅱ

第二 従来の方法と著者の方法による検査成績の比較
同一検水につき、10ccを5本、著者の方法と、対照試験として、常法によりSmith 醱酵管で、共に37°C、24～48時間培養して、その結果を比較したところ、第2表の如くであった。

第三 総 括

以上の試験結果から、著者のC. T. 錠法は、従来の大腸菌群推定試験法に比して、その成績上何んら異なるところがないに拘らず、従来法のような特別の醱酵管や培養基を要せず、非常に簡易便利である。

又従来法では、試料を氷詰めにして設備ある検査室迄送附するような場合、目標菌の消滅するような事も考えられるが、本法によると、この心配もなく、野外その他種々な現場で、迅速簡易に、試験操作をする事が出来るのも大利点である。

又この錠剤は長期間の保存に堪える利点もある。

それ故本法は、水中の大腸菌群推定試験、最確数の測定試験、食品衛生に関する大腸菌群の諸試験、浮標を用いて細菌の糖類分解によるガス産生試験、その他臨床上各種大腸菌検索に、従来法に代り広く使用する事が可能であり、より便利と考えられる。

(1960年7月20日受理)

第 2 表

培養時間 試料番号	C. T. 錠 法		従 来 の 方 法		培養時間 試料番号	C. T. 錠 法		従 来 の 方 法	
	24h.	48h	24h.	48h		24h.	48h	44h.	48h
1	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		18	$\frac{5}{5}$		$\frac{4}{5}$	$\frac{4}{5}$
2	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		19	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
3	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		20	$\frac{2}{5}$	$\frac{2}{5}$	$\frac{0}{5}$	$\frac{1}{5}$
4	$\frac{3}{5}$	$\frac{4}{5}$	$\frac{2}{5}$	$\frac{4}{5}$	21	$\frac{0}{5}$	$\frac{0}{5}$	$\frac{0}{5}$	$\frac{0}{5}$
5	$\frac{5}{5}$		$\frac{3}{5}$	$\frac{3}{5}$	22	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
6	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		23	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
7	$\frac{4}{5}$	$\frac{5}{5}$	$\frac{2}{5}$	$\frac{5}{5}$	24	$\frac{2}{5}$	$\frac{2}{5}$	$\frac{2}{5}$	$\frac{2}{5}$
8	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		25	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{0}{5}$	$\frac{0}{5}$
9	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		26	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
10	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		27	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
11	$\frac{1}{5}$	$\frac{3}{5}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{3}{5}$	28	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
12	$\frac{0}{5}$	$\frac{2}{5}$	$\frac{0}{5}$	$\frac{0}{5}$	29	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
13	$\frac{5}{5}$		$\frac{1}{5}$	$\frac{2}{5}$	30	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
14	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		31	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
15	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{0}{5}$	$\frac{0}{5}$	32	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
16	$\frac{0}{5}$	$\frac{0}{5}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{5}$	33	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$	
17	$\frac{5}{5}$		$\frac{5}{5}$		34	$\frac{0}{5}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{0}{5}$	$\frac{1}{5}$

($\frac{5}{5}$, $\frac{2}{5}$ とは5本中5本, 2本が陽性である事を示す)

以 上 1 7 0 例 中			
従来方法と同結果のもの		従来の方法と異った結果のもの	
158例	12例	CT錠法が陽性で対照試験が陰性のも の 11例	
		CT錠法が陰性で対照試験が陽性のも の 1例	