文 献

- (1) D. L. Cramer and M. C. Dodd: J. Bact. 51, 293, 1945.
(2) D. L. Cramer: J. Bact. 54, No. 2, 1947.
(3) 柴田清人: 抗菌物質研究 2, 152, 1948.
(4) 春日齊: 日本醫科大學雜誌掲載豫定
(5) 八田貞義青山好作, 丹治園枝: 東京醫事新誌 66, 471, 1949.
(6) 田宮博, 柳田友道, 鈴木芳雄: ペニシリン I.

- 257, 1947.
(7) Struss. Lowell u. Finland: J. Clin. Investigation 20, 189, 1941.
(8) Spink and Jermsta: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 47, 395, 1941.
(9) 鶴岡正夫: 日本細菌學雜誌 3, 20, 1948.
(10) Richard O. Roblin Jr.: Metabolite Antagonists. Science of Drugs. Spec. No. 1. 10, 1949.
(11) 宮本晴夫: 東京醫事新誌 66, 222, 1949.

腸内病原菌分離培養基 S.S. 寒天培地に就いて (第二報)

S. S. Agar Medium for Isolation of Intestinal Pathogene
(Report 2.)

豫防衛生研究所

(指導 副所長 小島博士)

厚生技官 岡

亨

Oka Tōru.

第 一 章

著者は前報¹⁾に於て, S.S. 寒天培地中の Bile Salts No. 3 の主役に任ずるものはデスオキシコール酸ソーダであり, 粗成膽汁酸鹽にデスオキシコール酸ソーダを添加して Bile Salts No. 3 の代用とし得る事により, 價格及び性能の點に於ても, 十分普及性のある事を報告した。デスオキシコール酸ソーダ及び其の近縁物を添加する場合, 大腸菌は美しい紅色の集落を呈し, その集落の周圍の培地が, デスオキシコール酸の沈澱のために混濁を呈する缺點があつたが, 此の混濁を除去する目的を以て低級膽汁酸鹽を作成實驗を行つた。

第 二 章

前編に於て, 粗成膽汁酸鹽より高級膽汁酸鹽を分離して, 低級膽汁酸鹽のみを以て代用すれば一層良い結果を得られるものと推論したが, 著者は膽汁より低級膽汁酸鹽を實驗的に試作した。

第一節 實驗方法²⁾

↓
アルコールを溜去、減壓乾燥
↓
3 倍量アルコールに溶解
↓
減壓濾過、無機鹽を除去
↓
濾液
↓
沈澱
↓
乾燥（前行程と同じ操作を 3 回）収量 18 g

以上の操作により得た低級膽汁酸鹽は黄白色粉末で、吸湿性強く、115°C より融け初め 145°C にて完全に融解す。苦味を有し、水及びアルコールに易溶である。水に溶解して pH 7.2 である。

分析の結果 デスオキシコール酸ソーダ、80%
コール酸ソーダ 20%

であつた。

第二節 前節に於て作成せる膽汁酸鹽及びこれにコール酸ソーダを添加して Bile Salts No. 3 の代用とした實驗

第一項 實驗材料及び實驗方法

pH. 7.0 1L の 3% 濾過寒天に

乳 糖 10 g.
枸橼酸ソーダ 9 g.
チオ硫酸ソーダ 8.5 g.
枸橼酸鐵 1 g.
ブリリヤントグリーン 0.33 mg.
中性紅 0.03 g.

各成分を混合、溶解 pH 7.0 に再修正したものを基礎培地とし、100 c.c. づゝコルペンに分注、之に Bile Salts No. 3 の代用として著者の作成せる低級膽汁酸鹽の培地中デスオキシコール酸ソーダ量 0.34% となる様にし、之にコール酸ソーダを第 1 表の如くに配分實驗に使用した。

第 1 表

	培地 1L 中デスオキシコール酸ソーダ量	コール酸ソーダ量	追加セルコール酸ソーダ量	比
No. 1	3.4 g	0.85 g	0 g	80:20
2	"	1.46	0.61	70:30
3	"	2.26	1.41	60:40
4	"	3.4	2.55	50:50
5	"	5.1	4.25	40:60
6	"	7.9	7.05	30:70
7	"	13.6	12.75	20:80
8 (對照 Bile Salts No. 3 Difco)	8.5g			

以上夫々正確に秤量し、前述の基礎培地に夫

々加へ pH 7.0 に再修正し、ペトリ皿に約 20 c.c. づゝ分注凝固せしめ、表面を完全に乾燥してから實驗に使用した。對照に Bile Salts No. 3 を使用した。實驗に使用した菌株は當研究室保存菌株の大腸菌（池田₂）、腸チフス菌（S. 57）、パラチフス A 菌（S. 1）、パラチフス B 菌（S. 3）、大野菌（府中株）、大原菌（渡枝株）、駒込 A 菌（原株）、1 及び居石菌（九大株）の各菌株で、S 型菌の 37°C、24 時間ブイオン培養液を使用した。菌液は、1 白金耳づゝ移植した。

第二項 實驗成績。第 2 表の如し。

第 2 表

	大腸菌	腸チフス菌	パスラチ菌	パスラチ菌	大野菌	大原菌	駒込 A 菌	居石菌	大混濁菌度
No. 1	++	++	+	++	++	++	++	+	卅
2	++	++	+	++	++	++	++	+	++
3	++	++	+	++	++	++	++	+	+
4	++	++	+	++	++	++	++	+	±
5	++	++	+	++	++	++	++	+	—
6	++	++	+	++	++	++	++	+	—
7	++	++	+	++	++	++	++	+	—
8	++	++	+	++	++	++	++	+	—

+

 普通の發育
++ 良好なる發育
混濁度
卅 混濁強度
++ 混濁中等度
+ 混濁
± 輕度ノ混濁
— 混濁全く認めラレズ。

第三項 小 括

以上の實驗成績の如く、デスオキシコール酸ソーダ單獨のみの場合は、乳糖分解菌集落の周囲の寒天培地は混濁を著明に呈して居たが、コール酸ソーダを 40:60 の割合に添加、即ちデスオキシコール酸ソーダ 3.4 g、コール酸ソーダ 5.1 g、總量 8.5 g を S.S. 寒天培地中に加へる事により、今迄の乳糖分解菌による培地表面の混濁を取り除く事が出来、又各病原菌の發育は全く良好の發育を示してゐた。

第 三 章

第 一 節

S. S. 寒天培地中に、デスオキシコール酸ソーダにコール酸ソーダを添加する事により、乳糖分解菌集落の周囲に培地中の混濁が認められ

ない。此の發現が單に デスオキシコール酸 ソーダの化學的な變化、即ち乳糖分解菌が酸を形成して之からデスオキシコール酸ソーダの Na が取られてデスオキシコール酸になり、此の時中性紅によつて乳糖分解菌は美しい赤色の集落を呈し、培地中に入つて居るデスオキシコール酸ソーダが乳糖分解菌の集落の周圍まで影響するものであつて、此の時コール酸ソーダが加はると、沈澱はデスオキシコール酸の場合と同様であるが、デスオキシコール酸ソーダとコール酸ソーダが醋鹽狀の所謂抱合體を作つて居る爲に、單獨の場合に比してよく溶解してゐる。乳糖分解菌が酸を作つた場合は、集落周圍のデスオキシコール酸の沈澱と共にコール酸も沈澱し、しかし沈澱物は非常に微細となつて、デスオキシコール酸單獨の場合の様に大きな沈澱物でない。それ故寒天中にあつた場合は、乳糖分解菌の集落の周圍が肉眼的に透明に見られるものであらうと云ふ見解により實驗を行つた。

第一項 實驗方法

肉水 1L. にペプトン (亞鈴) 10 g, 食鹽 5 g, 寒天 10 g で、pH 7.0 の普通寒天を作成し、之に中性紅 0.03 g を加へ中性紅加普通寒天培地を夫々 500 c.c. づゝコルベンに分注、之に乳糖 5 g, 一方に葡萄糖 2.5 g を乳糖の代りに加へて、乳糖加中性紅寒天培地、葡萄糖加中性紅寒天培地を作成し、第 3 表の如く 夫々寒天培地 100 c.c. づゝにデスオキシコール酸ソーダ、コール酸ソーダを添加し、各 10 c.c. づゝ中試験管に分注、型の如く 100 °C, 15 分間間歇滅菌し、實驗に使用した。使用の菌株は當研究室保存の腸チフス菌 (S. 57), パラチフス A 菌 (S. 1), 中村菌 (傳研株), 駒込 A 菌 (原株), 居石菌 (九大 Y 株), 大原菌 (渡枝株), 及び大腸菌 (池田株),

第 3 表

	培地 1L. 中のデ スオキシコール 酸ソーダ量	〃 コール酸ソーダ 量	比
No. 1	3.4 g	0	100: 0
2	〃	2.26 g	60: 40
3	〃	5.1	40: 60
4	〃	13.6	20: 80
5	Bile Salts No. 3 Dilco	8.5g	

夫々の S 型菌 37 °C 24 時間ブイヨン培養、1 白金線を移植した。

第二項 實驗成績 第 4 表の如し。

第 4 表

	大腸 菌	腸 チフ ス菌	パ ラ チ フ ス A 菌	パ ラ チ フ ス B 菌	大 野 菌	大 原 菌	駒 込 A 菌	居 石 菌
乳糖 No. 1	⊕ G	—	—	—	—	—	—	—
2	⊕ G	—	—	—	—	—	—	—
3	+ G	—	—	—	—	—	—	—
4	+ G	—	—	—	—	—	—	—
5	+ G	—	—	—	—	—	—	—
葡萄糖 No. 1	⊕ G	⊕	⊕ G	⊕ G	⊕	⊕	⊕	⊕
2	⊕ G	⊕	⊕ G	⊕ G	⊕	⊕	⊕	⊕
3	+ G	⊕	⊕ G	⊕ G	+	+	⊕	+
4	+ G	⊕	⊕ G	⊕ G	+	+	+	+
5	+ G	⊕	⊕ G	⊕ G	+	+	⊕	+

+ 糖分解 ○ 混濁
 ⊕ 混濁中等 ○ 軽度 = 混濁
 G ガス產生

第三項 小 括

以上の實驗により、乳糖加培地に於ては大腸菌のみ著明な變化が認められ、乳糖、を分解してガスを產生して居た。即ち No. 1, 2, に於ては試験管内培地全く淡桃紅色な混濁を呈して居た。No. 3, 4, 5, に於ては穿刺線にそつた部位のみ軽度に菌發育による混濁のみにて、對照と同等に透明であつた。葡萄糖加培地に於ては供試菌は全部變化が認められ、大腸菌に於てはガスを產生し No. 1 は混濁を呈し No. 2 は軽度に混濁を呈し他は培地に混濁は認められなかつた。赤痢供試菌屬は No. 1, No. 2, 夫々試験管培地に淡桃紅色の混濁を呈し、No. 3, 5, に於て、駒込 A 菌のみ軽度に上層部のみ淡桃紅色の混濁を呈して居た。其の他の供試菌は、No. 3, 4, 5, に於て全く透明にて菌の發育は十分認められたが混濁は認められなかつた。腸チフス菌は全實驗を通じて葡萄糖を分解して淡桃紅色

の混濁を呈して居た、パラチフスA菌、パラチフスB菌夫々全實驗でガスを發し淡桃紅色の沈澱が認められた。

第二節 デスオキシコール酸ソーダにコール酸ソーダが添加される事により寒天培地の混濁が減退する理由に就いて實驗を行つた。

第一項 實驗方法

前節に於て述べたる實驗方法と全く同様の手法にて、只寒天をブイオンに入れずに實驗を行つた。デスオキシコール酸ソーダ、コール酸ソーダも前節と全く同様の分類術式により實施した。實驗使用菌株も前節と同様のS型菌ブイオン浮遊液1白金耳づゝを移植使用した。

第二項 實驗成績 第5表の通りである。

第 5 表

	大腸菌	腸チフス菌	パラチフス菌	パラチフス菌	大野菌	大原菌	駒込A菌	居石菌
乳糖 No. 1	⊖ G	—	—	—	—	—	—	—
2	⊕ G	—	—	—	—	—	—	—
3	⊕ G	—	—	—	—	—	—	—
4	⊕ G	—	—	—	—	—	—	—
5	⊕ G	—	—	—	—	—	—	—
葡萄糖 No. 1	⊖ G	⊕	⊕ G	⊕ G	⊕	⊖	⊖	⊖
2	⊕ G	⊕	⊕ G	⊕ G	⊕	⊕	⊕	⊕
3	⊕ G	⊕	⊕ G	⊕ G	⊕	⊕	⊕	⊕
4	⊕ G	⊕	⊕ G	⊕ G	⊕	⊕	⊕	⊕
5	⊕ G	⊕	⊕ G	⊕ G	⊕	⊕	⊕	⊕

— 試験管上層部透明 ○ 沈澱物
± " 半不透明 G ガス產生
+ " 不透明

第三項 小 括

乳糖加中性紅ブイオンに No. 1, 2, 3, 4, 5, 夫々に於て大腸菌のみ分解ガスを產生し, No. 1, は上層部は透明にて試験管下に桃紅色の沈澱物が認められた。No. 2, No. 3, No. 5, は上層部は白濁不透明で、試験管下に桃紅色の沈澱物が認められた。No. 4 は、上層部軽度白濁半透明で試験管底に桃紅色の沈澱物が認めれ

た。他の供試菌は發育良好であつたが、菌移植前對照培地と大差なく沈澱等認められなかつた。葡萄糖加中性紅ブイオンに於ては、大腸菌は葡萄糖を分解してガスを產生してゐた。其の他の供試菌に於ても葡萄糖を分解して桃紅色の沈澱物が認められた。乳糖加中性紅ブイオン及び葡萄糖加中性紅ブイオン共大腸菌は、No. 1 試験管に於て上層部は透明であつた。

しかし No. 2, No. 3, に於て不透明となり No. 4 に於て半透明となつた。對照の No. 5 は不透明であつた。其の他の供試菌に於ても葡萄糖加中性紅ブイオンは大腸菌の場合と大差なく, No. 3, 即ちデスオキシコール酸ソーダ 3.4g コール酸ソーダ 5.1g の場合に於てのみ上層部が著明に白濁し、下層に桃紅色の沈澱物が認められた。

總括並に考案

デスオキシコール酸ソーダ單獨で使用した時は、乳糖分解菌の周圍に微細な淡桃紅色の沈澱を生ずる。之がコール酸ソーダを種々の比で添加して行くと、沈澱が肉眼的に消失して來る事が實證された。此の量はデスオキシコール酸ソーダ 40 と、コール酸ソーダ 60 の割合である。尙ブイオンを基礎としてこの實驗を行ふと、含有されてゐる糖を分解した場合、デスオキシコール酸ソーダ單獨の時は、極めて大きな沈澱となつて來て上層は透明となる。之にコール酸ソーダを添加して行くと、次第に上層の透明度は減じ Suspension 状態となる。

良好な Suspension 状態發現の所が 40:60 比率である。同様の實驗を 1% の寒天を加へた同様の培地で實驗すると、既に詳述した様に菌は穿刺線に沿つて發育し、其周圍にデスオキシコール酸ソーダ單獨の場合は明瞭に微細な沈澱の析出を認められ、之がコール酸ソーダ量の比を變へて行くと肉眼的に消失する個所が認められる。この個所が前の實驗と同様にデスオキシコール酸ソーダ 40, コール酸ソーダ 60, である。此事實より考案すれば、デスオキシコール酸ソーダが、單獨の場合は產生した酸に依つて Na が置換されてデスオキシコール酸となり、

之は水に不溶であるから沈澱する。

然し此場合コール酸ソーダが共存して居る時は、デスオキシコール酸ソーダとコール酸ソーダとが自然状態にある如く抱合體として存し、しかもこの抱合體は自然状態に見られる様に水によく溶解する。従つてコール酸ソーダの添加により沈澱を生ずる場合は極めて微細な沈澱物として析出する事は容易にうなづける所であるこの際果してデスオキシコール酸ソーダ單獨の時とコール酸ソーダを添加した場合との沈澱の量的な問題は更に實驗を要するものである。

この Suspeusion 状最良の状態がデスオキシコール酸ソーダ 40, コール酸ソーダ 60, の位置であらう。尙、前述の培地に鹽酸を少量添加すると、糖分解菌の作用した如き沈澱を直ちに發現し、NaOH で中和する事により再び Suspeusion 状となる。更に乳糖に於ては大腸菌の如く乳糖分解菌により、葡萄糖の時は其他多くの葡萄糖分解菌により同様な結果が出ると思へばこのデスオキシコール酸ソーダの機構は全く化學的と推論せざるを得ない。

結 論

1. デスオキシコール酸ソーダ單獨添加によつては培地の混濁は認められるがコール酸ソーダの添加により肉眼的には消失する。

2. 培地の肉眼的に透明となる量の比はデスオキシコール酸ソーダ 40, コール酸ソーダ 60, である。

稿を終るに臨み、小林豫防衛生研究所長並に鹽田日本醫科大學學長に敬意を表し、終始御懇篤なる御指導を賜はつた恩師小島豫防衛生研究所副所長並に現在外遊中の豫防衛生研究所第二細菌部長福見博士に深甚なる謝意を捧げ、種々の實驗に數々の御援助、御助言を賜はつた豫防衛生研究所第二細菌部増山博士に厚く御禮申し上げる次第である。又本實驗に當り御援助を賜はつた日本榮養の柴、和田、兩氏に謝意を表す。本研究は文部省科學研究費によるものである。

文 献

- 1) 岡 亨; 日醫大誌 17 卷, 3 號, 6~16, 1950.
- 2) Heinrich wieland und Paul ueylend; Hoppe Seyler's Zeitschrift. Bd. 110. 123~142, 1920.