

「濾紙・ポリ袋法」によるこうじかび病菌の簡易検出

(蚕試 環境部)

1. 背景とねらい

蚕飼育場所におけるこうじかび病菌の検出法や消毒効果の判定には、これまで主としてアガースタンプ法、滅菌脱脂綿拭き取り培養法、塵埃培養法等が行われてきた。しかし、スタンプアガールの製造が中止され、また、滅菌脱脂綿拭き取り培養法等では多くの煩雑な操作と日時を要する等問題点が多い。そこで、アガースタンプ法に替わる、こうじかび病菌の簡易検出法として培地吸着濾紙とポリエチレン製袋（以下ポリ袋と略称）を利用した「濾紙・ポリ袋法」を考案した。本法は検出精度が優れ、安価で、誰にでもできる極めて簡易な現場向きの菌検出法であることが確認されたので、普及奨励事項に供する。

2. 技術内容

1) こうじかび病菌の検出法

- (1) 培地吸着濾紙の調製：120℃・2時間乾熱滅菌した生産用濾紙（T社製 No.63 G、 50×50 mm）をローズベンガル液体培地に瞬時浸漬して培地を吸着させ、シャーレに収容し、冷蔵保存しておく。
- (2) こうじかび病菌の検索・消毒効果の判定：新しいポリ袋（ $0.03 \times 200 \times 300$ ）を裏返して、手を入れ、シャーレ収容の培地吸着濾紙を取り出し、濾紙の両面を検査対象に軽く押し当てる。濾紙をポリ袋に回収し、ポリ袋の口を固く結ぶ。そのまま30℃の恒温器に入れ、2日間培養後の菌検出の有無・多少を判定する。

2) 濾紙・ポリ袋法の特徴

本法は菌検出精度が優れ、30℃・48時間の培養でこうじかび病菌検出の判定が可能であり、消毒後の検査で菌が検出された場合でも再消毒可能な時間的余裕ができる。また、従来法に比べ安価であり、培養容器が不要で、培養済みの濾紙、ポリ袋の処理も容易である。誰にでもできる極めて簡易な現場向き菌検出法である。

3) 適応地帯

県下全域；蚕の飼育に関連する場所・用具等の微生物汚染程度や経時的変化を追跡する手段・指標として適応できる。

3. 指導上の留意事項

- 1) 調製した培地吸着濾紙の保存は1か月以内とする。乾熱滅菌濾紙と培地を小量ずつ分けて保存し、使用直前に培地吸着濾紙を調製することもよい。
- 2) 検体採取後の濾紙回収は濾紙の両面をポリ袋と密着したまま培養すると、菌の発育が阻害されるので、ポリ袋を膨らませた状態にして袋の口を固く結ぶとよい。

4. 試験成績の概要

表1 培地吸着濾紙の取り扱い難易度

供試濾紙	厚さ (mm)	形・大きさ (mm)	取り扱い難易度 ¹⁾	
			液体培地 ²⁾	寒天培地 ³⁾
定性濾紙 No. 2	0.26	円形・径 70	×	△
クマト用濾紙 No. 526	0.70	正方形・辺 50	○	×
クマト用濾紙 No. 590	0.93	正方形・辺 50	○	×
生産用濾紙 No. 63G	1.35	正方形・辺 50	◎	×

注：1) ポリ袋に入れた手での取り扱い難易度；×困難、△やや難、○容易 ◎極めて容易
 2) ローズベンガル液体培地
 3) ローズベンガル寒天培地

表2 濾紙・ポリ袋法と現行2法によるこうじかび病菌の検出比較

培養温度	検出法	培養時間と検出結果			
		24	48	72	96
24℃	濾紙・ポリ袋法	- -	- -	- +	- +
	アガースタンプ法	- -	- -	+ +	+ +
	脱脂綿拭き取り培養法	- -	- -	- -	- -
27℃	濾紙・ポリ袋法	- -	+ +	+ +	+ +
	アガースタンプ法	- -	+ +	+ +	+ +
	脱脂綿拭き取り培養法	- -	- -	- -	- -
30℃	濾紙・ポリ袋法	- -	+ +	+ +	+ +
	アガースタンプ法	- -	+ +	+ +	+ +
	脱脂綿拭き取り培養法	- -	- -	+ +	+ +

- 1) 濾紙・ポリ袋法の濾紙； No. 63G
- 2) 調査場所；岩手県蚕業試験場病理蚕室、床面
- 3) 調査時期；晩秋蚕期飼育終了後・消毒前