

寒天培地および液体培地によるヒトらい菌の培養

竹本 正

神秘的な菌として長い間の夢であったヒトらい菌の培養が、室橋らによってヒトらい患者結節を材料として*in-vitro*の方法を用いて報告された。この方法で、特定の施設だけでなく一般のらい療養所、研究機関等で容易に実施出来たならば、らい患者はもとより関係者にとってこんな幸せな出来事はあるまい。そこで、私達もこの方法で、追試実験を行ったので報告する。

I 実験材料ならびに方法

1 使用菌

使用菌は、ヒトらい腫型患者の新しい結節を外科的に無菌的に摘出されたものを用いた。

2 方法

菌乳剤作製には、まず結節を鉄で無菌的に細切りし、滅菌乳鉢に海砂を入れてよく摺りつぶして蒸留水を適量に加えて、滅菌ガーゼにて濾過して粗大な組織片を除き(染色して菌の確認をする)、これをまず普通寒天、普通ブイヨン、サブロー各培地に接種し雑菌の混入していないことを確かめた。この無菌乳剤を培養に供した。

3 使用培地

M-Y-14b 固型培地、液体培地を用いた。培地組成は、下記のとおり。

KH_2PO_4 -4.0g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ -3.0g, クエン酸ナトリウム-2.0g, ブドウ糖-10.0g, アスパラギン-3.0g, グルタミン酸ナトリウム-3.0g, 硫酸マグネシウム-0.1g, 塩化カルシウム-0.0025g, 焦性ブドウ酸ナトリウム-2.0g, パントテン酸ナトリウム-0.1g, ツィーン80-0.1g, 酵母RNA-100 μg , 牛血清アルブミン-5.0g, 粉末寒天-25g, 水を加えて1,000mlとする。(PH: 6.0~6.8に修正)

上記のうち、ブドウ糖, RNA, アルブミンは、別に濾過滅菌する。他は、高圧滅菌する。これを45~50°Cに保ち前記濾過滅菌したものを混和し、試験管に10ml分注し斜面培地とした。液体培地は、上記組成から寒天を除いたものである。

4 培養

前記乳剤を白金耳と毛細管ピペットを用いて、それぞれの培地に濃厚に菌液を接種して、37°Cで培養する。(試験管のキャップは、小川培地のものを用いた。)培地の乾燥を防ぐために、1ヶ月後には、キャップにパラフィル

ムをかぶせて固定した。

5 経過観察

目安としては、接種部位および周辺の培地の変化、また雑菌の混入などにも注意し、後は、4週間隔で観察した。

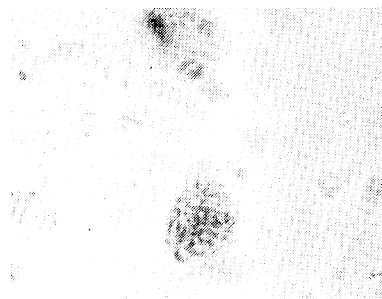
II 成績

1 4週間では、固型および液体両培地とも接種した時点と変化は認めず。

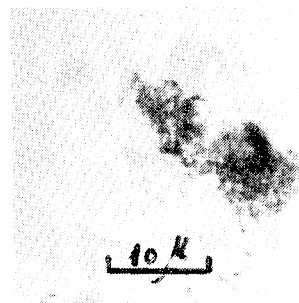
2 25週で液体培養の試験管を取り出して、試験管々底の菌塊らしいものをふくむ沈殿物を毛細管ピペットで採取し、塗抹染色標本にして検鏡した。その所見では、培養前の標本に較べて多少増えたと考えられる菌塊を認めたが、はっきりとした増殖とは断定し難かった。

培養成績は、下記のとおり

培地別		培養日数(週)				
		4	10	15	20	25
液	体	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	多少増殖傾向にある
固	体	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	培地表面が少し乾燥



培養前 MF



培養後 (22W) MF

III 考 察

M-Y-14b 固型培地および液体培地に接種された菌の両培地における増殖を調べた。その結果、肉眼的には集落を明確に認めうるまでには至らなかったが、顕微鏡的には、種々の形態を示す菌塊が得られた。このことからみて、in vitroにおける培養という初期の目的は、かなりの程度まで果たされたとみてよからうと思う。培養においては、まず材料を濃厚に接種することが必要で、うすい菌液では、増殖を見出すことがむずかしいように思われる。

IV 結 論

M-Y-14b 固型、液体両培地に、ヒトらい結節乳剤を濃厚に接種することにより、増殖傾向を示すと思われ

る所見を得た。現段階では、この菌の増殖は極めて遅く貧弱であり、それを促進させることが今後の研究課題であると思う。

V 謝 辞

この追試にあたり、終始御指導と原稿の校閲を賜った元国立予防衛生研究所結核部長、室橋豊穂博士、吉田幸之助技官に深謝いたします。又、貴重な材料を分与下さった国立療養所大島青松園、松本淑子博士、同研究室の諸生先方に厚く感謝します。

文 献

- 1) 室橋豊穂, 吉田幸之助: 日細菌誌, 24, 202~211, 1969
- 2) 室橋豊穂, 吉田幸之助: 医学と生物, 39, 217~222, 1974