

BCG ワクチンの定量培養用培地について

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳沢 謙)

室橋豊穂・橋本達一郎・金井興美

(昭和 26 年 12 月 19 日受付)

緒 言

BCG ワクチンの力価検定方法¹⁾の一つとして、わが国においては、固形培地による定量培養方法が行われているが、この目的に用いられる培地としては、ワクチン中に含まれる生菌量 Viable Unit をできる限り鋭敏に証明する性能を備える必要のあることはいふ迄もない。検定基準には初め、従来わが国結核研究の分野において広く賞用されている岡・片倉(鶏卵)培地²⁾が規定されたが、その際、硫酸処理の下に分離培養用として考案されたこの培地が、一旦分離された菌の純粋培養や、なかならず定量培養に対して好適であるか否かについては、殆んど、考慮が払われていなかったようである。しかしながら日常の実験に際して、純粋培養や定量培養を行うにあたり培養時毎の集落数の動揺や、同一量培養に対する試験管毎の集落数の差異が相当著しく現われることから、この培地の性能が従来考えられていたようには鋭敏でないように思われたので、これを検討するために、岡・片倉、小川及び Kirchner 血清寒天の三種の固形培地を用いて、BCG ワクチンの定量培養を行い、その成績を比較しようとして企てた。

実験方法

〔1〕培地

三種の培地の組成及び製法は次の如くである。

1) 岡・片倉培地:

| | | |
|-----|----------------------------------|--------|
| 原液: | KH ₂ PO ₄ | 0.5 g |
| | Na ₂ HPO ₄ | 0.5 |
| | グルタミン酸ソーダ | 1.0 |
| | 蒸餾水 | 100 cc |

原液 100cc に全卵液 200cc, グリセリン 6.0cc 及び 2% マラカイト緑 6.0cc を加え、分注、第 1 日 85°C, 40 分、第 2 日、第 3 日各々 80°C, 40 分宛凝固滅菌する。

2) 小川培地:

| | | |
|-----|---------------------------------|--------|
| 原液: | KH ₂ PO ₄ | 1.0 g |
| | グルタミン酸曹達 | 1.0 |
| | 蒸餾水 | 100 cc |

原液 100cc に全卵液 200cc, グリセリン 6.0cc 及び 2% マラカイト緑 6.0cc を加え、90°C, 60 分 1 回凝固滅菌、岡・片倉培地とは Na₂HPO₄ を含まず、KH₂PO₄ の倍量を含む点で異つている。

3) Kirchner-血清-寒天培地: Kirchner 氏原液

に血清を 10%, 寒天を 3% の割に加えて凝固せしめた固形培地である。

| | | |
|----|------------------------------------------------------|----------|
| 原液 | アスパラギン | 5.0 g |
| | KH ₂ PO ₄ | 4.0 |
| | Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O | 3.0 |
| | 枸橼酸ナトリウム | 2.5 |
| | MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0.6 |
| | グリセリン | 20.0 cc |
| | 蒸餾水 | 1000. cc |

この原液に対し寒天 30g を加え、30 分間 Koch 釜にて加熱溶解、直ちにガーゼ 4 枚にて濾過し、適量を分注し、120°C, 20 分間高圧滅菌を行う。およそ 50°C 近くになる迄放置して冷却し、これに 10% の割に血清を加えてよく混和 (50°C に調節した恒温槽を用うると便利である) 後、滅菌容器に分注し、冷却凝固せしめる。フラン器に一晩おき無菌検査を行つてから使用する。

〔2〕菌液及び培地接種量

使用した菌液は、検定に提出された液体ワクチン及び乾燥ワクチンから作られた。稀釈にはすべて蒸餾水を用い、10⁻³ mg/cc の菌液となし、その 0.1cc (10⁻⁴ mg) 宛を、3 種の培地の 5 本宛に同時に接種し、37°C フラン器内にて培養、毎週の集落数を記録した。必要に応じては、菌液をさらに稀釈して 10⁻⁵ mg の接種をも行つた。

〔3〕集落数

集落数はできる限り正確に算えるように努めたが、300 個以上になると、多くの場合、融合して算定が不可能である為に、∞の記号を以て表わした。表中∞の記号は培地の約半分を覆うて無数に集落の生じている状態である。なお雑菌の混入ある場合は C (Contamination) を以て表わした。

実験成績

〔1〕液体ワクチンを培養した成績は第 1 表の如くである。

まず岡・片倉培地と小川培地とを比較すると Lot 235 ~ Lot 247 の 12 Lots については、2 週目に集落を認めたものが前者では甚だ少いのに対して、後者ではすでに相当多量に集落を生じ、4 週末の集落数も、前者に比して後者では明らかに多かつた。なかならず、Lot 239 のように岡・片倉培地に全然集落を発生しなかつた場合でも、小川培地には相当多くの集落を見ることができた。以上は

いずれも 10^{-4} mg の BCG を接種培養した成績である。

次に小川培地と Kirchner 血清寒天培地とでは、後者の方が明らかに良好な成績を示し、5本の試験管には殆

Table 1. Culture Result of Liquid Vaccine.

Inoculation : 10^{-4} mg of BCG on each test tube.

| Med ia | Lot No | Week | OKA-KATAKURA'S | | | | | OGAWA'S | | | | | Kirchner-Sy-Ser-Agar | | | | |
|--------|--------|------|----------------|-----|-----|-----|-----|--------------|-----|-----|-----|-----|----------------------|-----|----|----|-----|
| | | | Test Tube No | | | | | Test Tube No | | | | | Test Tube No | | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 235 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 | 4 | 9 | 8 | 11 | ∞ | 98 | ∞ | ∞ | ∞ |
| | III | | 2 | 325 | 130 | 224 | 47 | 236 | 263 | 192 | 292 | 381 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | IV | | 9 | 359 | 141 | 224 | 77 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| 236 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 12 | 8 | 9 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | III | | 3 | 11 | 0 | 0 | 5 | 443 | 235 | 429 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | IV | | 21 | 45 | 18 | 19 | 76 | ∞ | 235 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| 237 | I | | 0 | 0 | 0 | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 1 | 1 | — | — | ∞ | 118 | ∞ | 38 | 41 | ∞ | — | ∞ | ∞ | ∞ |
| | III | | 274 | 183 | 99 | — | — | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | 384 | ∞ | — | ∞ | ∞ | ∞ |
| | IV | | ∞ | ∞ | 239 | — | — | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | 389 | ∞ | — | ∞ | ∞ | ∞ |
| 238 | I | | 0 | 0 | 0 | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 8 | 0 | 3 | — | — | 212 | 215 | 134 | ∞ | 80 | ∞ | ∞ | 17 | ∞ | ∞ |
| | III | | 75 | 69 | ∞ | — | — | 440 | 375 | ∞ | ∞ | 265 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | IV | | ∞ | 174 | ∞ | — | — | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| 239 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 29 | 130 | 7 | 5 | 14 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | III | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 369 | ∞ | 225 | 232 | 252 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | IV | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 414 | ∞ | 225 | 252 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| 240 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 32 | 4 | 11 | 1 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | III | | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 193 | 219 | 256 | 312 | 132 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | IV | | 4 | 13 | 0 | 0 | 0 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | 201 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| * 241 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 4 | 4 | 8 | 3 | 14 | 74 | 87 | 5 | 46 |
| | III | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 255 | 128 | 138 | 171 | 186 | 109 | 139 | 93 | 70 | 93 |
| | IV | | 0 | 0 | 0 | 0 | 14 | ∞ | 150 | ∞ | 179 | 208 | 109 | 139 | ∞ | 70 | 112 |
| * 242 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 0 | 3 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | III | | 220 | 160 | 264 | 237 | ∞ | 106 | 56 | 109 | 93 | 124 | 48 | 70 | 80 | 34 | 59 |
| | IV | | 320 | 214 | ∞ | ∞ | ∞ | 124 | 79 | 109 | 106 | 130 | 48 | 70 | 82 | 34 | 59 |
| * 245 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 5 | 5 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | III | | 4 | 30 | 78 | 0 | 8 | 117 | 350 | 208 | 126 | ∞ | C | 97 | 29 | 32 | 77 |
| | IV | | 41 | 85 | 93 | 1 | 13 | 130 | 350 | 219 | ∞ | ∞ | C | 97 | 29 | 32 | 93 |
| * 246 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 6 | 12 | 4 | — | — | C | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | III | | 159 | 152 | 286 | 0 | 147 | ∞ | ∞ | ∞ | — | — | C | 77 | C | C | 21 |
| | IV | | ∞ | ∞ | ∞ | 55 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | — | — | C | 77 | C | C | 21 |
| 247 | I | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 1 | 0 | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | III | | 84 | 178 | 0 | 254 | 145 | 145 | 109 | 0 | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | IV | | ∞ | ∞ | 4 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | 17 | — | — | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Note: 1) C means Contamination.

2) Samples with the sign of * were cultivated on Kirchner-sy-ser-Agar alone with 10^{-5} mg of BCG.

んど集落数に異同がなく、しかも培養2週目にすでに無数の集落を認めることができた。ただし、Lot 235~240は両培地とも 10^{-4} mg を培養、Lot 241~247 は小川培地 10^{-4} mg, Kirchner 寒天培地 10^{-5} mg 接種培養の成績である。このよう

に Kirchner 寒天培地では、 10^{-5} mg を培養した場合でも相当に集落の発生は良く、試験管毎の差も少い点で優秀な成績を示したが、僅かながら雑菌の混入が見られた。

〔2〕乾燥ワクチンを培養した成績は第2表、第3表の如くである。第2表は岡・片倉培地と小川培地との比較、第3表は岡・片倉培地と Kirchner 寒天培地との比較である。

岡・片倉培地と小川培地とを比較すると、前者で全然か或いは殆んど集落の発生を見ない場合でも、後者では相当多量に集落を発生し、しかも試験管毎の集落数の差が少なかった。液体ワクチンの場合に比して集落出現の時期がやや遅れているが、これは接種菌液そのものの性質、例えば凍結乾燥の影響による菌の生活力の減弱或いは生菌量の多少というようなことに基くであらう。

岡・片倉培地と Kirchner 寒天培地とでは、前者と小川培地との場合よりも一層顕著な差異が見られた。すなわち Kirchner 寒天培地では2週目から集落を発生しその数も多く、且つ試験管毎の差が少く、それ等の点において岡・片倉培地に数等優つているが、なかならず凍結乾燥の影響も殆んどないと思われる程に早期に集落の発生した点は注目し値するところである。

総括考按

以上の実験成績から、岡・片倉培地では培養2週目にまだ全然集落を発生しないか、或いは発生しても極く僅かに認めうるにすぎず、多くの場合には3週目から集落を生じ、4週に至つてその数を増加するに対して、小川培地及び Kirchner 寒天培地では、すでに2週にして相当多数の集落を生じ、3週に至つてその数を増加するが、4週に至れば殆んどその増加は見られないという相違を知ることができる。すなわ

Table 2. Culture Result of Dried Vaccine (I)

Inoculation: 10^{-4} mg of BCG on each tube.

| Media | | OKA-KATAKURA's | | | | | OGAWA's | | | | | Media | | OKA-KATAKURA's | | | | | OGAWA's | | | | | |
|------------|------|----------------|---|---|---|---|--------------|----|-----|-----|-----|------------|------|----------------|-----|-----|-----|----|--------------|-----|-----|-----|-----|---|
| Filling No | Week | Test Tube No | | | | | Test Tube No | | | | | Filling No | Week | Test Tube No | | | | | Test Tube No | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| 130-C | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 133-A | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 68 | 55 | 46 | 42 | 111 | | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 171 | 217 | 174 | 152 | 163 | |
| | IV | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 68 | 70 | 59 | 49 | 117 | | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 171 | 217 | 175 | 152 | 165 | |
| 130-D | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 133-B | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 41 | 87 | 109 | 101 | 66 | | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 144 | 141 | 133 | 116 | 102 | |
| | IV | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 83 | 87 | 109 | 101 | 78 | | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 144 | 141 | 133 | 116 | 105 | |
| 130-E | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 133-C | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25 | C | 18 | 30 | 28 | | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 26 | C | 24 | 31 | 37 | | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | | |
| 132-A | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 133-D | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0 | 4 | | |
| | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 16 | 1 | 4 | |
| 132-B | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 133-E | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | | |
| | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 7 | | |
| 132-C | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 134-A | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 83 | 95 | 132 | 219 | 80 | |
| | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 | | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 83 | 97 | 132 | 225 | 83 | |
| 132-D | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 134-B | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | | III | 51 | 18 | 47 | 87 | 6 | 67 | 256 | 283 | 179 | 222 | |
| | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 2 | | IV | 107 | 162 | 138 | 131 | 89 | 206 | 256 | 324 | 186 | 222 | |
| 132-E | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | | | | | | | | | | | | | |
| | IV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | | | | | | | | | | | | | |

Note: C means Contamination.

ち集落発生時期が早く、菌の発育が迅速に行われてしかも集落数が多い、という点において、小川培地とKirchner 寒天培地とは、岡・片倉培地よりも、少なくとも発育促進的であると考えることができるであろう。

さらに同一量の菌を各培地5本に接種した成績では、岡・片倉培地においては5本の試験管(培地)毎の集落数の差が相当著明に現われ、他の両培地においてはこのような試験管毎の差を殆んど示さないのと著しい対照をなしているが、これは液体ワクチンの場合よりも、凍結乾燥操作によつて菌の生活力の減弱が予想される乾燥ワクチンの場合において一層著明であつた。

なかんずく、岡・片倉培地で集落を全然認め得ない場

合においてさえも、他の両培地では相当多数に集落を生じていたのであり、少くとも菌の発育に対して促進的に作用し得ない何等かの因子が岡・片倉培地には存するのではないかと考えられるのである。

その理由が何であるかを今直ちに結論することはできないが、この場合培地組成の上から考える可能性について考察することが必要であろう。

小川培地と岡・片倉培地とは、その培地組成が僅かに KH_2PO_4 1.0g と $\text{KH}_2\text{PO}_4(0.5g) + \text{Na}_2\text{HPO}_4(0.5g)$ との差にあるにすぎない。従つて存在する相違はKイオンの多寡と、Naイオンの有無並びに之に基くPHの相違であるといえるのである。この点について小川³⁾が

Table 3. Culture Result of Dried Vaccine(II)

Inoculation: 10^{-4} mg of BCG on each test tube

| Media | | OKA-KATAKURA's | | | | | Kirchner-Sy-Ser-Agar | | | | | Media | | OKA-KATAKURA's | | | | | Kirchner-Sy-Ser-Agar | | | | | | | | | |
|------------|------|----------------|----|----|-----|-----|----------------------|-----|-----|-----|-----|------------|------|----------------|----|----|----|----|----------------------|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|
| Filling No | Week | Test Tube No | | | | | Test Tube No | | | | | Filling No | Week | Test Tube No | | | | | Test Tube No | | | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | | | | |
| 225-B | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 225-A | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 96 | 83 | 58 | 47 | 8 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 | 58 | 87 | | | | | |
| | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154 | 127 | 98 | 78 | 41 | | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 205 | 122 | 234 | 169 | 231 | | | | | |
| | IV | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 154 | 127 | 98 | 78 | 51 | | IV | 0 | 0 | 0 | 70 | 0 | 205 | 122 | 234 | 170 | 231 | | | | | |
| 222-E | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 226-A | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 74 | 77 | 55 | 59 | 101 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 59 | 68 | 76 | 59 | | | | | | |
| | III | 34 | 1 | 0 | 0 | 0 | 164 | 221 | 176 | 158 | 196 | | III | 44 | 0 | 3 | 0 | 0 | 192 | 167 | 114 | 116 | | | | | | |
| | IV | 65 | 63 | 0 | 7 | 8 | 203 | 258 | 224 | 158 | ∞ | | IV | 113 | 59 | 89 | 60 | 82 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | | | | | | |
| K-24 | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 226-B | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 431 | 387 | 235 | 376 | 353 | | II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 19 | 30 | 76 | 17 | | | | | | |
| | III | 7 | 14 | 0 | 29 | 65 | 431 | 456 | 396 | 408 | 432 | | III | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 61 | 121 | 76 | 34 | | | | | | |
| | IV | 98 | ∞ | 83 | 341 | 286 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | | IV | 6 | 1 | 0 | 8 | 1 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | | | | | | |

KH_2PO_4 を培地に不可欠のものであるのに対して Na_2HPO_4 をそれ程重要なものではないと詳細な比較実験の成績から述べていることは興味深いところである。

しかしながら他面 Kirchner 寒天培地が Na_2HPO_4 を組成として含有している点を考えるならば、Na イオンの存否にのみその原因を求めることは困難であり、磷酸塩という緩衝剤の培地 PH に与える影響についての考察が必要となるのである。従つて、もつと詳細な分析が行われなければ、このように培地の性能の差が現われた原因を明らかにし得ないであろう。

次に、小川培地と Kirchner 寒天培地とについて比較を行うならば、次の点において一長一短があるように思われる。すなわち、

集落発生がより早期に且つ多数に認められ、乾燥ワクチンのように菌の生活力が或程度低下していると思われる場合においてもよく集落の発生を見、しかも試験管毎の集落数の差異が甚だ少ないという点で、Kirchner 寒天培地は小川培地に勝っている。

しかしながら、集落の形態が小川培地の場合に比して Kirchner 寒天培地では一般に小さく、背景の培地色調が淡黄色であるために集落数の算定に困難を感じることが多いこと、加之培地にマラヒット緑のような色素を含まないために、時に雑菌の混入を許すことがあるという点において、Kirchner 寒天培地は小川培地に劣ると考えられる。

以上のことから、BCG ワクチンの力価を検定すべき定量培養用培地としては、岡・片倉培地は用いるべきではなく、小川培地或いは Kirchner 寒天培地を用いるべき

であるが、この両者の間には集落発生に対して左程の差異はないように思われるので、日常の操作に便利な小川培地を用いる方が、雑菌の混入を防ぐ上からもよいように思われるのである。

結 論

BCG ワクチンの定量培養用培地としていずれが適当であるかを知るために、岡・片倉、小川及び Kirchner-血清-寒天の三種の固形培地についての比較実験を行った。

1) 菌集落の発生時期が早く、発育が迅速で、集落数が多くしかも試験管(培地)毎の差が殆んどない点で、小川培地及び Kirchner-血清-寒天培地は岡・片倉培地に勝っていた。

2) このような差異は液体ワクチンの場合よりも乾燥ワクチンの場合に著明であつた。

3) 集落発生時期、集落数の多少、試験管差の多少という点において、Kirchner-血清-寒天培地は三者の内最も勝れていたが、集落の算定に困難を感じる場合のあること、時に操作中に雑菌の混入することなどの点から考えれば、小川培地が最も実用的である。

4) すなわち定量培養用培地としては、小川培地が最も適当であるといふことができる。

文 献

- 1) 室橋豊穂：総合医学，7巻，6号，254—258，1950.
- 2) 岡 捨己：日本臨床結核，1，829，1940.
- 3) 小川辰次・佐波 薫：結核，24巻，45—50：403—406，1949.