

多くの施設で作つた小川培地の結核菌分離性能についての一観察

佐 藤 直 行

国立予防衛生研究所結核部 (部長 室橋豊穂)

受付 昭和 39 年 1 月 7 日

COMPARATIVE OBSERVATIONS OF OGAWA'S MEDIA PREPARED IN DIFFERENT LABORATORIES IN THE ISOLATION OF TUBERCLE BACILLI

Naoyuki SATO*

(Received for publication January 7, 1964)

Not only in the isolation of tubercle bacilli from specimens but also in the direct drug sensitivity test, 3% Ogawa's whole egg medium which contains KH_2PO_4 in a concentration of 3% is most widely used in Japan. Because, it is generally recognized that this medium is superior to Löwenstein-Jensen medium both in the simplicity in construction and in the practical usability. However, concerning the uniformity of the efficiency of all media prepared in different laboratories no observation has been made yet.

On the occasion of the Tuberculosis Mass-survey carried out in 1963 in Japan each 10 slants of 3% Ogawa's medium prepared in 47 different local Public Health laboratories were collected to the National Institute of Health laboratory to make the comparative studies on the efficiency in the isolation of tubercle bacilli. Number of slants tested was 149 in total including each 3 slants of 3 different batches of media prepared in NIH laboratory.

Two sputum specimens from tuberculosis patients were homogenized strongly with equal volume of 2% NaOH solution employing homogenizer and were diluted ten-fold with 2% NaOH.

Two dilutions of 10^{-3} and 10^{-4} of one sputum and a dilution of 10^{-3} of the other were inoculated onto 149 slants of 3% Ogawa's media by three technicians.

From the former sputum (a) the growth of tubercle bacilli appeared after 4 weeks incubation, but from the latter (b) it was after 6 weeks as shown in Tables 1 and 3. Square root of the average colony number developed on 149 slants was 5.60.

Table 2 shows the statistical analysis of the variance of the colony number listed in Table 1. According to the colony number these different 50 batches of media samples were grouped into 3, ie, A, B and C. To the group A 39, to B 3 and to C 8 batches belonged respectively as shown in Fig. 1. Square root of the average colony number in each group was 5.73, 6.78 and 4.60 respectively.

In each group the difference was statistically insignificant between different batches. But, the differences between group A and B, and group A and C were highly significant.

That the average number of group B was larger than that of group A may be effected by the rather larger content of the condensed water in slants. Contrary to this, the smaller mean number of group C than group A may be due to some special conditions in the process of media preparation.

* From Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Kamiosaki-Chojamaru, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan.

The latter sputum (b) gave the results that growth of tubercle bacilli was greatly affected by the type of stopper on the slants; namely, retarded growth or no growth was observed on the slants with air passable rubber stopper.

From these observation it was shown that 3% Ogawa's media prepared in different laboratory in Japan are rather uniform and not so much different in the efficiency of isolating tubercle bacilli from specimens.

結核菌の分離用培地として、わが国では3%小川培地が常用されている。その性能については、すでに定評があり、Löwenstein-Jensen 培地よりも実用性において勝ると考えられている。そしてこの培地は、患者材料からの結核菌直接分離をかねて、直接法による薬剤耐性検査にも広く用いられている。耐性検査法やその成績の評価は、異なつた施設で作られた培地を用いて得たそれぞれの成績に基づいてなされてきた。この場合にも、小川培地は、その製法が簡単で、均一なものを作りやすく、かつその性能は優秀であるという前提のもとに、積み重ねられた成績を資料としている。しかし小川培地がその性能において優秀な培地であるとしても、異なつた施設でそれぞれの作製条件で作られた培地を用いて、結核菌の検索を行なうときには、それらの培地の性能に差のないことを一応確認しておくことが必要であろう。また一方においては、いわゆる市販の小川培地がかなり普及されつつあるようにみられるが、これに伴つて全国的な調査を行なう場合にはむしろそれによつたほうがよくはないかという考え方もないではない。これらの点についての議論はさておき、昭和38年の結核実態調査にさいしては、全国都道府県市の衛生研究所で作った3%小川培地を用いて、結核菌の分離検索を実施することになつた。その理由は、小川培地の製法については均一性を想定しうることに、製造後比較的短時間に用いるために、保存による動揺をさけるからである。

昭和38年4月、結核実態調査のための講習会を予研結核部が主催して開いた。そのさい全国都道府県市の衛生研究所で作られた3%小川培地を各受講者に持参してもらい、これらの培地を用いてかくたん中の結菌核の分離培養を試み、その成績から培地性能の均一性について検討した。この試みはただ1回の観察にすぎないが、前提となつている培地性能の均一性については、ほぼ満足すべきものがあることを認めた。それとともに、さらに将来研究課題とすべき問題点も認められたので、それらの観察成績をここに考察を加えて資料として報告する。

実験方法

1. 各衛生研究所の受講者が持参した3%小川培地を任意に3本ずつ3群に分けた。これら3群の培地にNaOH液で処理したかくたん材料を0.1mlずつA, B, C

3名の接種者それぞれ1人で1群の培地にうえた。すなわち2つのかくたん(a, b)をとつて、これに2%NaOH液をそれぞれ約2倍量加えたのちモーターつきかくはん機で均等化した。その材料につき、Malachitegreen・Fuchsin 染色を施し、材料0.1ml中の緑染菌数を算定した。a, b両材料1ml中の緑染菌数は、それぞれ 9.3×10^6 , 1.4×10^6 と推定された。この算定数を考慮して、a材料はさらに2%NaOH液を用いて希釈し、100倍および1,000倍希釈材料を0.1mlずつ、それぞれB, C両人が一斉にうえた。b材料は100倍希釈したものを0.1mlずつAが接種した。接種前に、培地上に凝固水を認めたものはすべてこれを振つて捨てた。A, B, C3名ともほぼ同時にうえ始め、約150本の培地に前後約40分間で接種を終わつた。型どおりフラン器におさめたのち、綿せんを使用している培地は、1週間後にゴムキャップにかえ、以後立てて培養した。スクリーキャップ、穴あきゴムキャップなどを使用している培地は、2週間斜位におき、以後立ててそのまま培養を続けた。a材料については、培養3週、4週間後に1名の術者がこれを観察し成績を読みとつた。b材料については、8週間後まで他の術者が観察した。

2. 講習第3日目に受講者中の有志24名が、5実験室に分かれて、それぞれBCG浮遊液を用いて、いわゆる定量培養を実施した。すなわち、当日80mg入り凍結乾燥Vaccineより浮遊調製した1mg/mlのBCGを中試験管に分注して各室に分けておいた。これより試料をとつて各自が滅菌蒸留水で10段階希釈を行ない、 10^{-4} mg/ml および 10^{-5} mg/ml 希釈菌液を1mlピペットを用いて0.1mlずつ、それぞれ1%小川培地3本計6本に接種した。接種終了後、全培地を一室に集めたのち培養、ゴムキャップの交換、集落数の算定は1名の術者が実施した。

実験成績

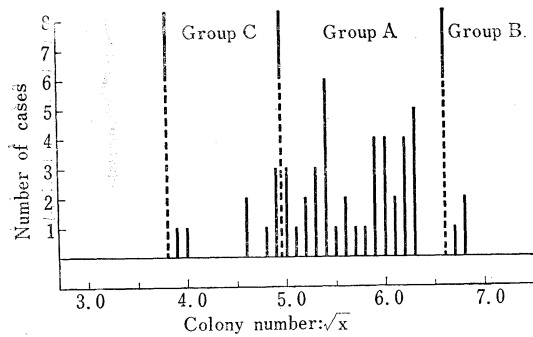
1. かくたん(a)について 10^{-8} 希釈を接種したとき、培養4週間後の成績はほとんどすべて $\pm$ と判定されたので、表に示すことは省略した。表1には 10^{-4} 希釈を接種したときの成績を示した。施設No.は接種したときの順番に従っている。C1, C2, C3は予研結核部製の3%小川培地についてそれぞれ最初、中間、最後にうえ

Table 1. Colony Number of Tubercle Bacilli Isolated from Sputum (a) on 3% Ogawa's Medium Prepared in Different Laboratories

No.	x_1	x_2	x_3	$\sqrt{x}$ ⁽¹⁾	No.	x_1	x_2	x_3	$\sqrt{x}$ ⁽¹⁾
C 1	22	25	26	4.93	C 2	16	20	36	4.82
1	32	49	62	6.84	25	21	32	35	5.39
2	35	40	45	6.31	26	30	36	37	5.85
3	31	46	65	6.80	27	37	39	40	6.22
4	33	33	39	5.91	28	21	29	39	5.40
5	36	37	45	6.26	29	28	28	39	5.61
6	27	33	40	5.75	30	19	25	38	5.17
7	35	36	38	6.03	31	31	40	47	6.25
8	35	43	58	6.70	32	38	40	41	6.29
9	27	40	42	6.00	33	29	32	34	5.63
10	27	42	44	6.10	34	22	30	38	5.44
11	21	40	46	5.89	35	18	25	34	5.02
12	31	40	43	6.15	36	20	21	37	5.04
13	33	36	40	6.02	37	13	14	23	4.05
14	12	17	17	3.90	38	28	31	35	5.59
15	22	29	33	5.27	39	30	32	35	5.69
16	32	37	40	6.02	40	23	35	—	5.36
17	37	40	41	6.26	41*	26	30	33	5.44
18	30	40	43	6.12	42*	17	27	38	5.16
19	27	29	31	5.38	43*	19	21	38	5.03
20	26	28	30	5.29	44*	19	32	35	5.31
21	36	38	40	6.16	45*	19	27	28	4.95
22	33	36	37	5.94	46	19	21	24	4.61
23	29	31	31	5.51	47*	17	28	30	4.96
24	31	36	49	6.19	C 3	18	21	24	4.57

Note: (1) $\sqrt{x} = (\sqrt{x_1} + \sqrt{x_2} + \sqrt{x_3}) \cdot 1/3$
(2) *Special plug used.

Fig. 1. Grouping of 50 Samples According to the Colony Number Isolated from Sputum (a)



たものである。表中には各施設の3本の培地上に分離しえた集落数の実数 x_1 , x_2 および x_3 を示した。 $\sqrt{x}$ は x_1 , x_2 および x_3 の平方根の算術平均である。

これより48施設で作られた3%小川培地のうち、最高の集落数を示したものはNo. 1の6.84であり、以下No. 3の6.80, No. 8の6.70であつた。最低の集落数を示したものは、No. 14の3.90, No. 37の4.05である。そしてC1, C2, C3の成績が示すように、接種所要時間40分の間に、分離集落数がとくに減少したとは認められなかつた。図1は、 $\sqrt{x}$ について度数分布をとつたものである。

表2は、表1の結果を図1のようにグループ分けし、

Table 2. Analysis of Variance for the Data of Table 1

Factor	SS	df	MS	FS
(1) On 50 samples from C 1 to C 3.				
Between media	61.4915	49	1.2549	3.207**
Error	38.7427	99	0.3913	
Total	100.2342	148		
(2) On 3 samples group B ; No. 1, 3 and 8.				
Between media	0.0326	2	0.0163	
Error	7.0540	6	1.1756	
Total	7.0866	8		
(3) On 8 samples of group C ; C 1, 14, C 2, 37, 45, 46, 47 and C 3.				
Between media	3.6200	7	0.5171	1.533
Error	5.3974	16	0.3373	
Total	9.0174	23		
(4) On 39 samples of group A, excluded the samples in group B and C.				
Between media	19.2306	38	0.5060	1.482
Error	26.2912	77	0.3414	
Total	45.5218	115		
(5) Between group A and group B.				
Between media	9.1775	1	9.1775	21.45**
Error	52.6074	123	0.4277	
Total	61.8849	124		
(6) Between group A and group C.				
Between media	25.5518	1	25.5518	44.34**
Error	54.5398	138	0.5762	
Total	80.0916	139		

要因を培地として、一元配置法により分散分析した分析表である。C1 から C3 まで全標本50の平均値は5.60で、それらについて分散分析した結果、(1)に示すように培地間に1%以下の危険率で有意差を認めた。No. 1, 3, 8の標本(B群とする)の平均値は6.78で、それらの間には(2)に示すように、培地間に有意差を認めない。またC1, No. 14, C2, 37, 45, 46, 47, C3の8標本(C群とする)の平均値は4.60でそれらの間にも(3)に示すように、培地間に有意差を認めない。さらに全標本よりB群およびC群計11の標本を除いた39の標本(A群とする)の平均値は5.73で、それらの間には(4)に示すように、培地間に有意差を認めない。つぎにA群とB群とにつき分散分析すると(5)に示すように、培地間に著しい有意差を認め、A群とC群との間にも(6)に示すように著しい有意差を認めた。

つぎに、かくたん(b)について得られた成績を表3に示した。本菌は分離培養時に毎回発育のとくに遅いことが知られていたが、その目標に一致して、37°C培養で4週、5週および6週間後において陽性と判定されたものは、48施設の培地のうちそれぞれ4, 20, 43培地であつ

Table 3. Isolation of Tubercle Bacilli from Sputum (b) on 3% Ogawa's Medium Prepared in Different Laboratories

Grade of growth	Laboratory number, same as in table 1	Total cases
++	6 15 20 24 25 29 33 34 36	9
+	2 3 7 13 16 21 27 44* 45* 46	10
±	1 4 5 8 9 17 18 19 22 23 30 31 32 37 38 39 C 1	17
(+)	10 11 12 14 28 40 C 3	7
1~20	26 41 42 47 (M1) (M2)	4(2)
0	35 43 (M3)	2(1)

Note: Growth reading is after 8 weeks incubation at 37°C.

* Special plug used.

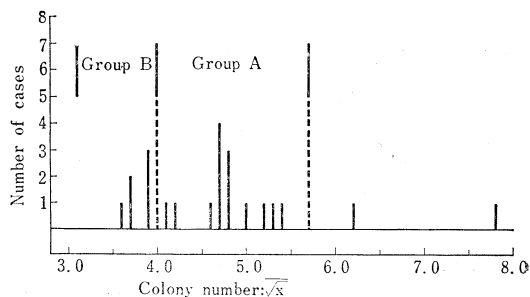
(M): marketing media.

Table 4. Quantitative Culture of BCG on 1% Ogawa's Medium by Twenty Four Technicians

No.	Viable units in 10^{-5} mg				Viable units in 10^{-6} mg			
	x_1	x_2	x_3	$\sqrt{x}$	x_1	x_2	x_3	$\sqrt{x}$
1	52	52	56	7.30	5	7	12	2.77
2	24	26	30	5.15	1	2	4	1.47
3	22	22	24	4.75	1	2	3	1.38
4	13	14	15	3.74	2	3	4	1.71
5	+	+	+		3	6	6	2.20
6	20	22	23	4.65	2	6	6	2.09
7	21	23	26	4.82	1	2	4	1.47
8	27	27	30	5.28	3	4	7	2.12
9	25	29	34	5.40	2	3	4	1.71
10	21	23	25	4.79	1	3	4	1.57
11	11	15	20	3.88	1	2	3	1.38
12	16	25	27	4.73	1	1	2	1.13
13	36	40	41	6.24	4	6	10	2.53
14	13	19	19	4.10	2	3	4	1.71
15	13	23	33	4.71	2	2	3	1.51
16	11	16	18	3.85	1	1	4	1.33
17	14	21	31	4.62	0	2	5	1.21
18	15	19	20	4.23	1	2	3	1.38
19	+	+	+		1	1	3	1.24
20	9	12	22	3.71	3	3	4	1.82
21	17	21	28	4.66	1	1	2	1.13
22	12	14	14	3.64	0	1	2	0.80
23	21	25	35	5.04	5	5	5	2.23
24	17	18	23	4.38	1	2	5	1.54

た。培養8週間で打切りとし、陽性となつたものにつき sign test により集落数の多少の程度、個々集落の大小に基づき、これを5段階に分けてみた。すなわち++, +, ± (±の約半分程度の発育), (+) (+よりはるかに集落数が小さい) および微小集落 (1~20 ぐらいで数えられない) とすると、表2のように48種の培地のうちそれぞれ9, 10, 17, 7, 4 培地となり、陰性となつたものは2種となつている。衛研製培地のうち特別のせんをしてある培地は6種であつた。このうち+と判定された2種類の培地 No. 44, 45 はスクリュウキャップつき試験管を使用していた。その他の4種類の培地はいずれも通気を計つたゴムキャップないしその他のせんをしたものであつた。これら a, b の2材料について、府県施設で

Fig. 2. Grouping of 22 Samples According to the Colony Number in 10^{-5} mg of BCG



持参したいいわゆる市販培地について2メーカーの3 Lot. の3%小川培地の性能を検討することができた。

a 材料については、表2のC群の成績とほぼ等しい集落数を得たが、b 材料では表3に示した M1, M2, M3 の結果であつた。これら市販の小川培地を含み、b 材料の場合菌発育の程度が劣る培地は、なんらかの工夫ないし装置を施して、いわゆる通気を計つたせんをした試験管入りの培地に多い傾向にあることは注目に値すると思う。

2. 有志24名の手による定量培養の成績を表4に示した。表中の x_1, x_2, x_3 および $\sqrt{x}$ は、表1に示した事項と同じである。 10^{-5} mg を接種したとき、術者 No.5

Table 5. Analysis of Variance for the Data of Table 4

Factor	SS	df	MS
(1) On 22 samples from No. 1 to No. 24.			
Between technicians	46.1873	21	2.1994**
Error	10.5504	44	0.2397
Total	56.7377	65	
(2) On 20 samples excluded No. 1 and No. 13.			
Between technicians	16.6135	19	0.8744**
Error	10.4122	40	0.2604
Total	27.0257	59	
(3) On 15 samples of Group A.			
Between technicians	5.4822	14	0.3915
Error	7.6573	30	0.2552
Total	13.1395	44	
(4) On 5 samples of group B; that is No. 4, 11, 16, 20 and 22.			
Between technicians	0.1151	4	0.0287
Error	2.7549	10	0.2754
Total	2.8700	14	
(5) Between group A and group B.			
Between technicians	20.9995	1	20.9995**
Error	6.0095	58	0.1036
Total	27.0090	59	

および No. 19 の集落数は、それぞれおよそ 170, 200 であつたが、 10^{-6} mg を接種したときの集落数より推定すれば、これらは明らかに希釈試験管を誤つて接種したためと思われる。この場合、最高の集落数を認めたものは、術者 No. 1 の (7.30, 2.77) であり、最低のものは No. 22 の (3.64, 0.80) である。図 2 は、 $\sqrt{x}$ をとって表 4 の結果を度数分布図にしたものである。つぎに表 4 に示した 10^{-6} mg 中の生菌単位数に基づき、これをグループ分けして、一元配置法により術者間の分散分析を行ない、その結果を表 5 に総括した。術者 No. 1 より No. 24 までの標本 22 の平均値は 4.71 で、それらについて分散分析の結果、(1) に示すように危険率 1% 以下で有意差を認めた。また術者 No. 1 と No. 13 を除いた標本 20 の平均値は 4.50 で、それらについても、(2) に示すように、なお術者間に有意差を認めた。術者 No. 1, 13, 4, 11, 16, 20, 22 を除いた標本 15 (A 群とする) の平均値は 4.75 で、それらについては、(3) に示すように術者間に有意差を認めず、術者 No. 4, 11, 16, 20, 22 の 5 標本 (B 群とする) の平均値は 3.76 で、それらについても、(4) に示すように術者間に有意差を認めない。そして、A 群と B 群との有意性を検定すると、(5) に示すように A, B 両群間に有意差を認めた。

論 議

47 施設で作られた 3% 小川培地を概観すると、培地の色調は全く異なつていた。総括者側のミスで、作製月日を調査しえなかつたが、数名の受講者も一致してどうしてこんなに違つた外観を呈するのかと、感想を述べ合うほどであつた。培養の結果をみなければ、外観のみで小川培地の性能を云々しえないとしておいたが、観察の結果はまさにそのとおりであつた。

ここで気のついた試験管その他 1, 2 の点についてふれてみる。まず綿せんについてみると、細菌学で常識とされている点に注意が払われていないことである。シンのない綿せん、原子雲型の綿せんには、培地の移動ごとに細心の注意を払わせられた。現代は、綿せんのあり方について要点を説く時代でないともよくいわれている。しかし、多数の培地を取り扱う側にとっては、神経をいらだたせるものであるが、この点はやはり必要最低限の制約を守るべきである。

つぎに中試験管の外径、長さをおおよそ測定してみると、外径では 17 mm, 18 mm のものが 50 施設のもののうち、それぞれ 13, 32 種であつた。長さは 15 cm, 16 cm, 17 cm, 18 cm のものが、それぞれ 11, 18, 4, 7 種であつた。外径と長さを組み合わせると、種々の型の試験管が使用されていることになるわけである。経済的理由によつて、ガラスの質の不良なものを使用するのは止むをえないであろうが、これらの中試験管をみると、わ

が国の研究検査室の現状の一端、すなわち消耗品にいかにか費用をかけぬようにするかという点が、ほぼ推定しうるようであつた。

さて、主題の小川培地の結核菌分離性能について考察してみよう。ここで問題となるのは、試験菌側の条件である。実験成績の中でふれたように、この観察においては 2 種の結核菌を用いた。その 1 つは通常に発育するもの (a) であり、他の 1 つは発育の遅いもの (b) である。後者すなわち集落の形成に 6 週間以上を要するような結核菌が、現在どれくらいの率で存在するのか具体的には知りえないが、少数例ながら存在することは確かである。しかしその率の低いことからしてこのような特殊の結核菌を用いて培地の性能をしらべることは主目的からはずれるという評もありえよう。しかし、本観察のような場合、こうした特殊な結核菌を用いた意義は少なくとも思っているが、このような特殊の結核菌を分離するさいの培養条件についてはなお検討すべき点があると思われる。

さて菌研製 3% 小川培地の分離性能を普通の生理的条件をもつ結核菌の集落数より見ると、表 2 に示した結果より 48 施設 50 標本のうち、B 群の 3 標本では集落数が A 群より多く、C 群の 6 施設 8 標本では集落数が A 群より少ないといひうる。B 群では凝固水が多いために、1 本の培地上の集落数の移動による増加が平均値に影響したものとみられる。C 群について集落数減少の原因を推定することは難しいが、予研製の C1, C2, C3 に関するかぎり、凝固温度の上昇 (92°C になった) が特記すべきことであつた。その他 45, 46, 47 は綿せんを用いない試験管を使用しており、培地の凝固過程にその原因を求むべきかも知れない。14, 37 については、全く推定しえないが、施設 14 ではその後鋭意改善に努力され、ほぼ満足すべき状態に達したと報告を受けている。(付記参照)

ここで、表 1 と表 3 との成績の間に連関があるかどうかをみると、両者間に連関がない。ゴムキャップについて模型実験を試みた結果でも、前述した通気せんによる発育への影響は認められた。すなわち、本実験で培養した菌集落をとって菌液を作り、それを 1% 小川培地にうえ、綿せんを交換するとき培地を切半して、一方にゴムキャップ、他方に絹糸縫合糸を通したゴムキャップをもって培地を閉じた。培養 4 週間後に、 10^{-3} mg, 10^{-5} mg をうえた培地上に、前者ではそれぞれ平均 11, 7.6、後者ではそれぞれ + (微小集落)、0 という発育を認めた。すなわち初代分離培養のときほど著明ではないが、通気せんによつて本結核菌の発育が抑制されるという性状は、継代 2 代目においてもなお持続していた。

ここで培地試験管の閉じ方が問題となる。もちろん、この点は発育の遅い特殊な結核菌の発育に及ぼす影響の

ほかに、培地調製時に培地のでき上りに及ぼす影響も見のがすわけにいかぬと思う。綿せんにかかわる人力を節約する意味で、それに変わるものとして、スクリーキャップつき試験管、ガラスキャップ、金属製キャップ、ポリエチレンキャップなど、さらにゴムせんに種々の考案を施したものなど、今日では種々の形式のものが用いられている。

人型結核菌のニコチン酸産生量は、小川培地上の発育菌量の多少に比例し、ゴムせんで密封すると、ニコチン酸陽性であるべき株まで陰性と判定される場合のあることは、現在周知の事実となっている。したがってこの検査では、いわゆる通気を計ることが、成績の判定に絶対有利であり、必要な条件である。

これに反し、通気を計ることが検査の結果に相当の影響を及ぼしているとみられる例として、ストレプトマイシン耐性検査の場合がある。それは少数例の耐性菌であるが、ゴムせん法と通気を計ったゴムせん法とを比較すると、前者に比し後者のほうで耐性値が低く出るということである。この場合も、臨床的意味づけはもちろん分かっていないが、検査法の要因としては、ゆるがせにしない点と考えている。それと、前述した特殊な結核菌の分離培養の場合である。このような結核菌を排出している患者が、入院例であれば、前回の成績からしてある程度の予備知識も得られ、適当に処理しようと思うが、疫学的調査や外来患者例を取り扱う現場ではそうした予備知識を得ることは難しいと思う。

未解決の点をあげて考察してきたようにみえるが、前述したように、こうした現在の検査にまつわる培地の問題点をときほぐすことは、培地側と菌側の条件が錯雑するため、至難中の難である。しかし、日常の臨床検査の現場で観察のできることがらであるから、多くの人々が深い関心を向けられ、よりよい解決が得られるよう望むものである。

結 び

全国都道府県市の衛生研究所で作られた3%小川培地を一方所に集めて、かくたん中結核菌の分離培養を実施し、培地の分離性能を比較した。普通の培養期間で発育しうような結核菌を分離培養し、計数できる集落数に基づき、一元配置法により培地間の分散分析を行なった。その結果、48施設で作られた培地のうち、6施設の培地では得られた集落数が甚しく有意に少ないと判定された。しかし、発育のきわめて遅い特殊な結核菌の場合には、結核菌の発育に著しい差のあることを認めたが、それは培地の閉じ方によって影響される傾向が強いようであった。

いづれにしろ、この観察によつてみるかぎり、これら48施設で作られた3%小川培地の性能は、ほぼ満足すべきものがあるといつてよい。

付 記

表1の集落数の実数は、結果判明すると同時に各衛生研究所に報告した。とくに集落数の少ないことを問題とされた1, 2の施設では、鋭意その原因の探求に努められ、ほぼ満足すべき段階に達したと、その後報告を受けている。その施設では技術者の入れかえ、凝固器の更新、試薬の吟味、試験管の型の検討などを実施したという。それぞれの因子が、培地の出来上りに相当関連することは間違いない。一度くずれて固定化したルチンワークを、正しく調整して満足できる小川培地を作るとなると、いかに抜本的な処置を要し、多くの労力を費やすものであるかを、この報告は物語っている。

本観察のために、部内の高橋宏、吉田幸之助、岡本茂広、丸山米夫の諸君、加藤睦子さんの技術的援助を受けた。また資材面では結核実態調査協力会のご協力を得た。ここに記して感謝の意を表する。

最後に、室橋部長のご指導ご校閲を感謝する。