26. *Über ein neues Phänomen bei Wasserleptospirenkultur.*

*Eine Methode zur Reinkultur der Wasserleptospiren
mittels dieses Phänomens.*

Von Masami KITAOKA.

Medizinische Klinik von Prof. Inada, Kaiserliche Universität, Tokyo.

(Rec. and Comm. by R. INADA, M.I.A., Feb. 12, 1931.)

Während der Manipulation von verunreinigter leptospirahaltiger Kultur in 0.5% Ringer-Agar, haben wir eine reine Kolonie von Wasserleptospiren in Form eines weissen Ringes 2 bis 3 cm tief unterhalb der weissen verunreinigten Oberfläche bemerkt. Um aus diesem weissen Ring die Leptospiren rein, ohne Berührung der verunreinigten Oberfläche, fischen zu können, habe ich ein Reagenzglas mit einem Seitenzweig herstellen lassen und habe in das Reagenzglas ein Stück Material hineingebracht. Da bemerkte ich, dass der genannte weisse Ring, welcher nur aus reinen Wasserleptospiren bestand, im Seitenzweig gebildet wird.

Die Grösse des Reagenzglases für den oben beschriebenen Nährboden ist 170:17 mm und die des Seitenzweigs 90:6 mm. Der Seitenzweig ist in der Höhe von 2.0 bis 4.5 cm vom Boden des Hauptstückes und im Winkel von 25° am Hauptstück angebracht. Der Nährboden besteht aus Ringer-Agar, welches Kaninchenserum in der Konzentration von 5.0% enthält. Zur Kultur geht man wie folgt vor: Zuerst füllt man das Reagenzglas mit 0.8% Ringer-Agar aus und überschichtet ruhig darauf 0.5 bis 1.0 cc Material. Es ist am geeignetsten, wenn die Oberfläche des Nährbodens ca. 1.5 cm höher als der Abgang des Seitenzweigs steht. Es kommt hier sehr auf die Konzentration des Agars an, ob es gut gelingt oder nicht. Je stärker die Konzentration des Agars, um so später kommt der weisse Ring von Leptospiren im Seitenzweig zu Stande. Die geeignetste Agarkonzentration ist etwas geringer als 0.8%. Schon nach 12 bis 24 Stunden entsteht zuweilen ein weisser Ring oder eine diffuse weisse Zone auch im Seitenzweig an der Oberfläche des Agars. Dieser weisse Ring oder diese Zone besteht hauptsächlich aus Kokken, zum Teil aber aus Stäbchen. Der fast vollkommen aus reinen Leptospiren bestehende weisse Ring tritt aber im Seitenzweig einige Millimeter unterhalb der Oberfläche meist nach 36 bis 48 Stunden, unter Umständen erst nach

72 Stunden auf. Wir versuchten Reinkultur von Wasserleptospiren zu erzielen aus Material von mit *Spirochaeta icterohämorrhagiae* verseuchten Feldern, Teichen und Sümpfen der Präfekturen Toyama und Chiba, aus mit Akiyami verseuchten Orten der Präfektur Shizuoka und aus nicht verseuchten Orten der Präfekturen Nagano und Fukushima. Wir haben die Leptospiren mittels der *Hindleschen* Methode angereichert und durch Filtrieren mit Berkefeld-N, Reinkultur teilweise mit Erfolg hergestellt. Aus den 20 verunreinigten Stämmen habe ich mit meinem Apparate in wenigen Tagen Reinkultur isolieren können. Der weisse Ring in dem Seitenzweige entsteht leichter, wenn das Material mehrere zehn Leptospiren in einem Gesichtsfeld enthält. Der weisse Ring im Seitenzweig entsteht früher beim verunreinigten Material als bei den reinen Kulturen. Die Bildung des weissen Ringes bei pathogenen Leptospiren scheint schwieriger zu sein als bei Wasserleptospiren, darin liegt wohl der quantitative Unterschied zwischen beiden Leptospiraarten. Mit diesem Verfahren ist es mir leider nicht gelungen, die Wasserleptospiren direkt aus dem Leitungswasser rein anzureichern.