

Leptospira 菌 培養에 관한 研究

—加熱處理한 토끼血清加培地와 Thiamine 添加培地에서의
Leptospira 菌의 發育에 관하여—

徐 鈺 洙

서울大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

Leptospira 菌 培養에는 여러가지 方法이 알려져 있다^{2,5,8-11,13,15,18,20}. 그러나 지금까지 간편하고 發育을 풍부하게 하는 培地는 없다. 왜냐하면 Leptospira 菌은 培地에 健康家兔血清이 添加되어야 發育이 可能하다는 점과 酸性에 지극히 弱하기 때문이다. 그처럼 Leptospira 菌은 發育이 微弱하므로 이의 分離培養, 繼代培養을 필요로 하는 여러가지 研究에 어려움이 많았다. Leptospira 菌의 培養을 가능케 하는 動物血清으로는 健康家兔의 血清이 가장 이상적이나 乳牛, 염소, 그리고 오리 등의 血清을 利用할 수도 있다. 그러나 여기에는 몇가지 문제점이 있다¹⁴. 이들 動物血清은 無菌의으로 採血되고 分離血清은 다시 無菌의으로 濾過되어야 하며 또 無菌의으로 培地에 첨가되어야 한다. 이러한 過程을 줄이고 豊富한 培養物을 쉽게 얻기 위해 chemically defined medium 이 만들어졌으나 아직 滿足할만한 培地가 되지 못하고 있다^{16,19,21}.

이러한 實情에서 간편하면서도 豊富한 Leptospira 菌 培養物을 얻기 위해 家兔血清을 Korthof 培地¹⁰와 2% Tryptose phosphate Broth (Difco)^{3,22}에 각각 血清을 添加하고 培地를 加熱處理하여 *Leptospira icterohaemorrhagiae*와 *Leptospira canicola* (以下 Leptospira 菌이라 칭함)를 培養하여 좋은 成績을 얻었다. 한편 Leptospira 菌培養에 不適當한 것으로 나타난 家兔血清에 thiamine hydrochloride²¹를 培地에 함께 添加하여 發育케 한 결과 다음과 같은 成績을 얻었기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

Leptospira 菌의 培地에서의 發育最適溫度는 28°C 內外이므로 이 실험에서는 28°C~29°C에서 21日間 培養 觀察하였다^{17,22}.

供試培地: Leptospira 菌 培養에 흔히 쓰이는 Korthof 培地¹⁰와 Cox 가 제창한 0.2% tryptose phosphate broth^{3,22}를 使用하였으며 培地量에 10%가 되게끔 健康家兔血清을 添加하였다^{1,6,17}. 또 Leptospira 菌培養에 利用될 수 없을 정도로 菌發育이 나쁜 7個體分의 血清 (No. 1, 3, 4, 6, 7, 9, 10)을 넣어 만든 培地에는 각각 thiamine hydrochloride를 添加하여 thiamine 加培地를 만들었다. Leptospira 菌 培養에는 screw capped tubes (10×12 mm)를 使用하였고 培地量은 5.0 ml로 하였다. 그리고 각 血清加培地를 i) 新鮮한 血清加培地群, ii) 56°C 60分 加溫處理培地群, iii) 100°C 30分 加熱處理培地群, iv) 121°C 15分 加熱處理培地群의 네 가지로 하였다.

供試血清: 健康한 白色家兔 10마리에서 全採血하여 血清을 分離하여 個體別로 冷凍機에 保管하면서 一部는 個體別로 一部는 10마리 血清을 混合하여 使用하였다.

供試菌株: Leptospira 菌은 1973年 2月 23日 梁川良 教授(日本國 北海道大學 獸醫學部)로부터 分讓받은 菌株의 一部로서 *Leptospira icterohaemorrhagiae* (R. G.A.)와 *Leptospira canicola* (Ut IV)를 使用하였다.

Leptospira 菌 接種: Korthof 培地와 2% tryptose phosphate broth에서 각각 14日間 잘 培養된 菌液을 한 白金耳(직경 3 mm)씩 각각 同系培地가 들어있는 培地에 接種培養하였다¹⁴.

Leptospira 菌 檢査: 菌을 接種한 後 21日間 培養하
면서 接種 第3日, 7日, 14日 그리고 21日까지 네 번
씩 暗視野裝置顯微鏡(10×10)으로 檢査하였다. 各 視
野當 Leptospira 菌의 數는 slide glass 위에 培養菌液
을 한 白金耳(직경 2mm)씩 놓고 鏡檢하여 계산하였
는데 두 번 計測하여 그 平均値를 취했다. 計數한
發育菌數는 實宜上 다음 基準에 의해서 0, 1, 2, 3, 4 그
리고 5 등의 數字로 表記하였다¹⁴⁾. 0: 한 視野에 活性

이 강한 菌이 보이지 않을 때, 1: 菌數가 한 視野에
1~10개 정도 보일 때, 2: 한 視野에 菌數가 11~20個
정도 보일 때, 3: 한 視野에 21~30個 정도 보일 때,
4: 한 視野에 菌數가 31~50個 정도 보일 때, 5: 한
視野에 菌數가 50個 이상 보일 때.

供試 Thiamine: thiamine hydrochloride (Kasei
Kogyo Co. 製品)를 溶解시켜 濾過하여 使用할 培地에
0.04 mg/100 ml, 0.03 mg/100 ml, 그리고 0.02 mg/

Table 1. Effect of Heating of Rabbit Serum Added to Media on Growth of Leptospira

No. of Serum	Tem.	Fresh		56°C				100°C				121°C					
		Serotypes		<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>		<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>		<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>			
		Day of Inc.	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>			
	3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14	21	
1		0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1
2		1	3	4	4	1	3	4	3	1	3	4	2	1	3	4	3
3		0	1	2	2	0	1	2	2	0	1	2	2	1	1	2	2
4		0	1	2	2	0	1	2	1	0	1	2	2	0	1	1	1
5		1	3	4	4	1	4	5	4	1	3	5	4	1	3	4	4
6		0	0	1	1	0	1	2	2	0	0	1	1	0	2	2	1
7		0	1	1	1	0	1	2	1	0	1	1	1	0	2	2	1
8		1	3	5	4	1	4	5	3	1	3	4	4	1	3	3	3
9		0	1	1	1	0	1	1	1	1	2	2	1	0	1	1	1
10		1	2	2	2	0	2	3	3	0	2	2	2	0	2	2	2
Pooled Serum		1	3	4	4	1	3	5	4	1	3	4	3	1	3	4	4

0: less than 1 organism per field. 1: 1~10 organisms per field. 2: 11~20 organisms per field
3: 21~30 organisms per field. 4: 31~50 organisms per field. 5: More than 50 organisms per field

Table 2. Effect of Heating of Rabbit Serum Added to Cox's Liquid Media on Growth of Leptospira

No. of Serum	Tem.	Fresh		56°C				100°C				121°C					
		Serotypes		<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>		<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>		<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>			
		Day of Inc.	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>	<i>L. ictero-haemorrhagiae</i>	<i>L. canicola</i>			
	3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14	21	
1		0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
2		1	3	3	3	1	3	3	4	1	2	3	2	1	3	4	4
3		0	1	2	2	0	1	2	2	0	1	2	2	0	1	2	2
4		0	1	1	1	0	1	2	2	0	1	2	2	0	1	1	1
5		1	3	3	2	1	3	4	3	1	2	3	2	1	3	3	3
6		0	1	1	1	0	1	1	3	0	1	0	0	0	1	1	1
7		0	2	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2	1
8		1	3	4	3	1	3	3	3	1	3	3	3	1	3	3	2
9		0	2	2	1	0	1	1	1	0	1	2	2	0	1	2	2
10		1	3	4	3	1	3	4	4	1	2	3	3	1	2	4	4
Pooled Serum		1	3	3	3	1	3	3	3	1	2	3	2	1	3	3	3

100 ml 이 되도록 無菌的으로 添加하였다²¹⁾.

結 果

本實驗에서 觀察된 *Leptospira* 菌의 發育 增殖狀態를 세가지로 要約할 수 있었다. 첫째 細菌數가 增加되고 있는 狀態, 둘째 接種된 細菌數가 그대로 유지되고 있는 狀態, 셋째 細菌數가 점차 減少되고 있는 狀態이다

다음 表 1, 2에서와 같이 全體 10個體別 血清中에서 *Leptospira* 菌 培養에 利用할 수 있는 血清 즉 *Leptospira* 菌數를 크게 增加시킬 수 있는 血清(31個以上/視野)은 겨우 3個體血清(No. 2, 5, 8)에 불과하였다(Table 1, 2) 나머지 7個體血清(No. 1, 3, 4, 6, 7, 9, 10) 중에는 *Leptospira* 菌의 發育을 전혀 도움지 못하는 血清(No. 1, 6)과 어느 程度까지는 發育에 關與하는 血清 등 여러 가지였다.

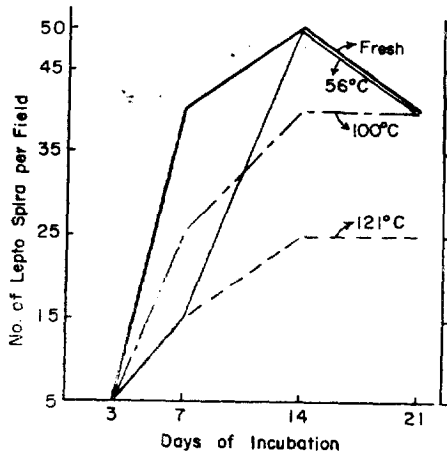


Fig. 1. Effect of various degrees of inactivation of Korthof's media added with No. 5 rabbit serum on growth of *L. icterohaemorrhagiae*

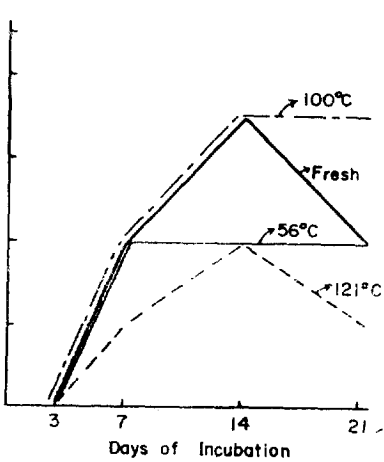


Fig. 2. Effect of various degrees of inactivation of Cox's liquid media added with No. 5 rabbit serum on growth of *L. icterohaemorrhagiae*

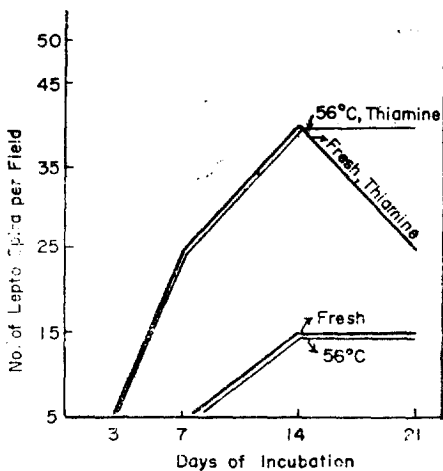


Fig. 3. Comparison of effect of inactivation of Korthof's media added with No. 3 rabbit serum, thiamine and serum only on growth of *L. icterohaemorrhagiae*.

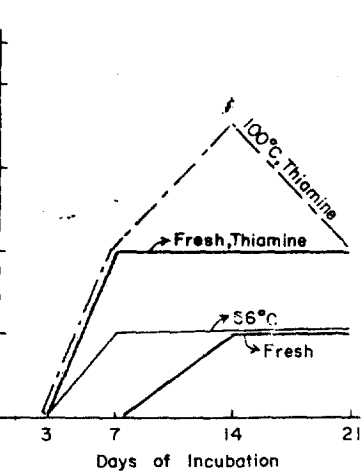


Fig. 4. Comparison of effect of inactivation of Cox's liquid media added with No. 3 rabbit serum, thiamine and serum only on growth of *L. icterohaemorrhagiae*

Table 3. Effect of Supplementation of Rabbit Serum or Thiamine Hydrochloride Added to Korthof's Medium or Cox's Liquid Medium on Growth of *Leptospira* after 14 days Inoculation

No. of Serum	Media Serotypes Thiamine mg/100 ml	Korthof's Medium						Cox's Liquid Medium					
		<i>L. icterohaemorrhagiae</i>			<i>L. canicola</i>			<i>L. icterohaemorrhagiae</i>			<i>L. canicola</i>		
		0.04	0.03	0.02	0.04	0.03	0.02	0.04	0.03	0.02	0.04	0.03	0.02
1		0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
3		1	3	3	2	4	3	2	3	3	1	4	4
4		1	2	2	1	2	3	2	2	2	1	2	2
6		1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1
7		1	1	1	1	1	2	1	0	2	1	1	1
9		2	0	1	1	1	1	0	2	2	1	2	1
10		1	1	1	1	1	2	1	2	2	1	1	1

Table 4. Effect of Heating of No. 3 Rabbit Serum or Thiamine Added to Korthof's Media or Cox's Liquid Media on Growth of *Leptospira*

Media	Temp. Serotype Day of Inc.	Fresh				56°C				100°C				121°C											
		<i>L. icterohaemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>		<i>L. icterohaemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>		<i>L. icterohaemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>		<i>L. icterohaemorrhagiae</i>		<i>L. canicola</i>									
		3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14	21								
Korthof's		1	3	4	3	1	3	4	4	1	3	4	4	1	3	4	3	1	2	3	3	1	3	3	3
Cox's Liquid		1	3	3	3	1	3	3	3	1	2	3	3	1	3	4	3	1	3	3	2	1	2	3	2

10個體의 血清을 같은 比率로 混合한 것을 培地에 添加하여 培養에 利用한 것은 좋은 發育狀態를 나타냈다(Table 1, 2). 그러나 이 混合血清을 加한 培地에서의 菌의 發育程度는 個體別 血清中에서 菌數를 크게 增加시킬 수 있었던 血清(No. 2, 5, 8)보다 못하였다.

Korthof 培地에서는 加熱處理培地群보다 新鮮한 血清과 加溫處理培地에서의 發育이 보다 豊富하였다(Fig. 1). 다음이 100°C 그리고 121°C 加熱群의 順으로 좋은 發育을 보였다(Fig. 1).

Cox의 液體培地에서는 新鮮한 血清을 加한 것과 100°C로 加熱處理한 두 培地에서의 發育狀態가 비슷하였다(Fig. 2). 그 다음이 56°C 그리고 121°C의 順으로 나타났다. 그리고 121°C 加熱處理培地の 경우에는 두 가지 培地가 모두 저조한 發育을 가져왔다(Fig. 1, 2).

Leptospira 菌 培養에 利用될 수 없는 나쁜 7個體의 血清을 攪라서 培地에 섞어 만들어 一定量의 thiamine을 添加한 結果 그 중에서 오직 1個體의 血清(No. 3)에서만이 좋은 發育狀態를 보였다. 나머지 血清加培地에서는 發育菌數의 差는 있으나 全體的인 發育狀態

는 극히 不良하였다. 그리고 thiamine 加培地에서는 thiamine을 0.02~0.03 mg/100 ml 加한 것이 가장 좋은 發育을 보였다(Table 3). 121°C 加熱處理培地群을 除外한 新鮮한 血清群, 56°C 그리고 100°C 群에서는 Korthof, Cox 두 가지 培地에서 다같이 비슷한 發育狀態를 보였다(Table 4).

個體血清 No. 3을 添加한 培地와 그 培地에 thiamine을 一定量 加한 培地에서의 *Leptospira icterohaemorrhagiae*와 *Leptospira canicola*의 發育 增殖度는 큰 差가 있었다(Fig. 3, 4). 즉 thiamine을 添加한(0.02~0.03 mg/100 ml) No. 3의 血清은 豊富한 發育을 보였던 血清(No. 2, 5, 8)과 비슷한 정도의 發育을 보이게 하였다.

考 察

Leptospira 菌 培養을 위해 지금까지 많은 培養方法이 알려졌다^{5,9,10,11,20}. 그러나 아직 많은 어려움을 지니고 있다. 그 原因은 培地에 添加하여야 할 *Leptospira* 菌의 發育因子인 血清成分이 個體마다 다르기 때

문이다. 이러한 가운데서 菌 發育에 가장 適合한 血清을 얻고자할 때에는 複雜한 選擇過程이 必要하다¹⁴⁾. 이같은 複雜한 過程을 줄이기 위해서 여러 個體의 混合된 血清을 使用해 왔다. 그러나 接種된 菌數가 극히 적고 菌의 活性이 弱할 때에는 最適條件에서 약간 벗어나게 되어도 菌은 死滅하게 된다¹⁷⁾. 이처럼 細菌發育 增殖에 직접적인 役割을 하는 血清을 培地에 添加하는 뜻을 크게 두가지로 集約할 수 있을 것 같다. 그 하나는 細菌이 必要로 하는 營養素를 供給하는 것과 다른 하나 培地중에 있는 發育抑制物質을 吸着 또는 中和하는 것으로 생각하고 있다²²⁾.

Leptospira 菌의 培養을 위해 血清添加培地를 高溫度에서 處理하여도 좋은 發育을 나타내는 結果는 앞으로 *Leptospira* 菌培養이 보다 간편하고 쉽게 될 수 있음을 말해주고 있다. 그리고 同一한 血清을 使用하여도 基礎培地の 成分과 處理方法에 따라 菌의 發育과 增殖이 조금씩 달라진다¹⁷⁾. 이 실험에서 토끼血清을 使用하였을 때는 Korthof 培地나 Cox의 液體培地에서나 다같이 121°C 處理群에서 發育增殖度가 가장 低調하였다. 그런데 反對로 牛血清을 添加한 Cox의 液體培地에서는 121°C 處理群이 가장 좋은 發育을 보였고 56°C 處理群이 가장 낮은 發育狀態를 나타내고 있다²²⁾.

培地에 添加할 家兔의 血清이 *Leptospira* 菌을 發育 可能케 할 수 있느냐 없느냐는 그 家兔에 주는 飼料의 種類와 그것의 狀態에 따라 크게 變化될 수 있다¹⁵⁾. 즉 飼料에 따라 家兔의 血清成分에 어떤 變化를 가져 온다는 것이며 어떤 變化라는 것은 血清內의 여러成分의 質的 量的 差異를 말한다. 이것은 *Leptospira* 菌 培養에는 脂肪酸의 量的 變化도 크게 關與된다는 것^{7, 12)}과 一致하는 것이라 생각된다. 그리고 脂肪酸中에서도 ester 化된 脂肪酸(Monoolein, monostearin, methyle palmitate 등)은 어느정도 血清을 대신할 수 있다고 한다²¹⁾.

Thiamine 도 *Leptospira* 菌 培養에 必須的 成分으로 알려져 있다²¹⁾. 때문에 *Leptospira* 菌 培養에 不適當하다는 家兔의 個體別 血清을 添加한 培地에 thiamine 을 加하여 菌을 培養한 結果 豊富한 發育을 얻었다는 것은 thiamine 이 必須的인 成分이라는 事實을 뒷받침하고 있다. 또 나머지 6個體의 血清은 다른成分(血清 蛋白質, 脂肪酸, 그리고 vitamin 등)의 어느것이 不足한 것이라 추측되기 때문에 앞으로 이 문제가 追究되어야 할 것으로 믿어진다.

結 論

Leptospira 菌 (*Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira canicola*)의 培養을 위해 토끼 血清加 Korthof 培地와 Cox 液體培地를 比較 溫度로 處理하고 細菌을 培養하여 그 發育度를 比較 觀察하였다. 그리고 *Leptospira* 菌 培養에 不適合하다고 判定된 토끼 血清을 加한 Korthof 培地와 Cox 液體培地에 각각 微量의 thiamine hydrochloride 를 첨가하여 *Leptospira* 菌을 培養한 실험에서 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Korthof 培地에서는 新鮮한 토끼血清加培地와 토끼血清加培地를 56°C, 60分間 加溫된 狀態에서 *Leptospira* 菌의 發育이 가장 豊富하였다.
2. Cox 液體培地에서는 토끼血清加培地를 100°C, 30分間 加熱處理한 경우와 新鮮한 토끼血清加培地에서의 *Leptospira* 菌의 發育이 다같이 豊부하였다.
3. *Leptospira* 菌 培養에는 不適合한 血清으로 判定된 一部の 토끼血清을 加한 培地에 微量의 thiamine hydrochloride 를 첨가하여 *Leptospira* 菌을 培養한 결과 豊부한 菌의 發育을 얻을 수 있었다.
4. Korthof 培地와 Cox 液體培地에 無菌操作을 하지 않은 토끼血清을 添加하고 이것을 100°C, 30分間 加熱處理한 狀態에서 *Leptospira* 菌을 接種 배양한결과 좋은 發育을 얻을 수 있었다.

參 考 文 獻

1. Armstrong, J.C. and Goldberg, H.S.: Observations on the colonial morphology of leptospires. Am. J. Ve. Res. (1960) 21 : 311.
2. Burger, G. et al.: Trace elements and reproduction of leptospirose J. Appl. Bact. (1970) 33 : 317.
3. Cox, C.D.: Hemolysis of sheep erythrocytes sensitized with leptospiral extracts. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1955) 90 : 610.
4. Cox, D.C. and Larson, A.D.: Colonial growth of leptospires. J. Bact. (1957) 73 : 587.
5. Fletcher, W.: Recent work on leptospirosis, tsutsugamushi disease, and tropical typhus in the Federated Malay States. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. (1928) 21 : 265.
6. Galton, M.M., Menges, R.W., Shotts, E.B.,

- Nahmias, A.J. and Heath, C.W.: *Leptospirosis, epidemiology, clinical manifestation in man and animals, and methods in laboratory diagnosis.* U.S. Department of Health Education and Welfare Public Health Service (1962) p. 34.
7. Helprin, J.J. and Hiatt, C.W.: The effect of fatty acid on the respiration of *Leptospira icterohaemorrhagiae*. *J. Inf. Dis.* (1957) 100 : 136.
 8. Johnson, R.C. and Gary, N.D.: Nutrition of *Leptospira pomona* 11. Fatty acid requirements. *J. Bact.* (1963) 85 : 976.
 9. Johnson, R.C. and Rogers, P.: 5-Fluorouacil as a selective agent for growth of leptospirae. *J. Bact.* (1964) 87 : 422.
 10. Korthof, G.: Experimentelles schlammfieber beim menschen. *Zbl. Bakt. I. Orig.* (1932) 125 : 429.
 11. Manako, K. and Otsuka, S.: Studies on the Cultivation of *Leptospira*. (1) New medium in organs infusion. *Jap. J. Bact.* (1957) 12 : 763.
 12. Power, D.A. and Pelczar, M.J. Jr.: Growth enhancement of the Reiter treponeme by fatty acids. *J. Bact.* (1959) 77 : 789.
 13. Ryu, E.: Inhibitory action of rabbit serum on the growth of leptospirae. *Bull. Int. Zool., Academia Sinica.* (1964) 3 : 1.
 14. Ryu, E.: Screening test of animal sera for the cultivation of *Leptospirae*. *Canad. J. Comp. Med. Vet. Sci.* (1965) 29 : 75.
 15. Ryu, E.: Promotion of the nutritional value of rabbit serum on the growth of *Leptospira* by using incomplete feeds. *J. Taiwan Ass. Animal Husb. Vet. Med.* (1969) 15 : 1.
 16. Shenberg, E.: Growth of pathogenic *Leptospira* in chemically defined media. *J. Bact.* (1967) 93 : 1598.
 17. Shimizu, T., Yanagawa, R., Hiramune, T., Fujita, J., and Ishii, S.: Cultural studies on *Leptospira*. 111. A comparison between Cox's and Korthof's medium for cultivation of leptospirae. *Jap. J. Vet. Sci.* (1959) 21 : 15.
 18. Shimizu, T., Yanagawa, R., Hiramune, T., Fujita, J. and Ishii, S.: Cultural studies on leptospirae. 111. A comparison between Cox's and Korthof's media for cultivation of *Leptospira*. *Bull. Nat. Inst. Animal Hlth.* (1960) 33 : 175.
 19. Stalheim, O.H.V.: *Leptospiral selection, growth, and virulence in synthetic medium.* *J. Bact.* (1966) 92 : 946.
 20. Stuart, R.D.: The preparation and use of a simple culture medium for leptospirae. *J. Path. Bact.* (1946) 58 : 343.
 21. Vogel, H. and Hutner, S.H.: Growth of *Leptospira* in defined media. *J. Gen. Microbiol.* (1961) 26 : 223.
 22. Yanagawa, R., Hiramune, T., Shimizu, T. and Ishii, T.: Cultural studies on leptospirae. I. On the growth of leptospirae in liquid medium inactivated at 100°C. and 121°C. *Jap. J. Vet. Sci.* (1959) 21 : 173.
 23. Yanagawa, R., Hiramune, T. and Fujita, J.: Effects of carbon dioxide on the colonial growth of pathogenic leptospirae. *J. Bact.* (1963) 85 : 875.

Studies on Culture of Leptospires

On Growth of Leptospires in Cox's Liquid Media and Korthof's Media, Added Rabbit Serum and Thiamine Hydrochloride, Inactivated at High Temperature

Ik Soo Seo, D.V.M., M.S., Ph.D.

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture
Seoul National University*

Abstract

The rate of growth of Leptospires were studied by culturing in Korthof's media and Cox's liquid media which were treated at four different temperatures. The effect of thiamine hydrochloride in the culture of leptospires were also studied.

The results obtained were summerized as followings:

1. The best growth of *Leptospira icterohaemorrhagiae* and *Leptospira canicola* was observed in Korthof's media with the rabbit serum heated for 60 minutes at 56°C.

2. A good degree of growth of *Leptospira icterohaemorrhagiae* and *Leptospira canicola* was observed in both Cox's liquid media with rabbit serum heated for 30 minutes at 100°C and with fresh rabbit serum.

3. The growth of *Leptospira* was enhanced by adding small amount of thiamine to the both media which were shown to be unsatisfactory for the growth of the organisms.

4. Culture of leptospires were attained by simply heating for 30 minutes at 100°C both Korthof's media and Cox's liquid media containing rabbit serum obtained without asptic procedures.