

Osol 法 結核菌 染色 の 経 験

長崎大学医学部細菌学教室(主任 青木教授)

国立大村病院内科 林 敏 信

(昭和26年2月24日長崎医学会第181回例会発表)

結核菌の染色には周知の通り Ziehl-Neelsen 法, Ziehl-Gabbet 法等の復染色法が汎用されている。これらが適当な対照染色による見易さ, 錯誤の恐れがないこと, 他菌や血球組織成分等を同時に見得る諸点から, その標準的な方法としての価値は決して早急には失墜されまいと思ふが, 仮に結核菌の発見という点でこれに勝るものがありとすれば, 他の欠点はともかくとし, 検査者の技術習熟と目的を考えてのその使用は当然許されるべきである。

この目的で提唱されている種々な方法の一つとして Osol 法, その変法たる Johanson 法など戸田教授の所謂非復染色検査法⁽¹⁾に属する一群がある。Osol 法⁽²⁾は脱色に多少考案が加えられ Methylene blue の後染色が全然省略された方法であつて, 1927年の提唱にかかわる。氏によれば 6451 例の喀痰中本法で結核菌陽性のもは 988 例, これに対して Ziehl-Neelsen 法では陽性 654 例であり, 氏はこの点から本法が Ziehl-Neelsen 法に優れていると述べた。Johanson⁽³⁾はその後に脱色剤の保存性に考案を加えたのであつて, これにより Ziehl-Neelsen 法よりも2乃至9倍に菌陽性率を高め得るとした。本邦においては植田, 近藤⁽⁴⁾, が追試し, 更に占部, 高木, 山田⁽⁵⁾は本法と共に単に Ziehl-Neelsen 法の後染色を省略した方法をも併試し, 熟練は要するがこれらの方法による菌陽性率の増大化を認め, その他発表に至らないまでも一部人士により試みられたことは想像に難くない。(仮え国立嬉野病院などは一時常用していたと報ぜられる)。この外 Egli⁽⁶⁾は染色後に本法標本を暗視野で見て, この場合も Ziehl-Neelsen 法に比し検出率が大であつたと報告している。なおこれに先立つて Pothman⁽⁷⁾も Osol 暗視野法は Ziehl-Neelsen 法よりその4分の1だけ陽性率を高め得ると述べた。

余は最近本法を Ziehl-Neelsen 法, Johanson 法, Bender のピクリン酸法と同一材料に就き比較実施する機会を得たのでその成績を発表する。

実験方法

(A) 材料 国立大村病院入院中の結核患者 100名の喀痰。

(B) 喀痰染色法 同一患者の喀痰について各々次の染色法を施した。

(1) Ziehl-Neelsen 法。

(2) Osol 法。

(4) Ziehl 液で水蒸気のたつ程度に2分間染色し次

に強く加熱すること1分30秒(煮払2乃至3回)。

(a) 5分間程放置して標本冷却後充分に水洗する。

(b) 5%硫酸水を10乃至15秒間作用せしめて脱色し水洗乾燥する。

(c) 亜硫酸ソーダ酒精(1%亜硫酸ソーダ10純アルコール1)を滴下してほとんど無色となるまで脱色する(凡そ10乃至15秒間)

(d) 後染色を施すことなく水洗乾燥する。

(3) Johanson 法。

上記の方法の亜硫酸ソーダ酒精にかえて保存性あるアンモニヤ酒精を用いた点が異なるのみ。

(4) Bender ピクリン酸法。

(1) Ziehl 液で加温染色。

(a) 3%塩酸アルコール脱色。

(b) 1%ピクリン酸水溶液で後染色1分間。

(c) 水洗乾燥。

(C) 鏡検法

(1) 100例の患者の各染色標本についてまず明視野法により各々50視野を鏡検し, その結核菌数を比較検討した。

(2) 10例の患者喀痰については Osol 法の明視野, 暗視野, Ziehl-Neelsen 法の明視野, 暗視野の各50視野における菌数を比較検討した。

実験成績

(1) 上記100例明視野による検菌成績を菌数総計として表わし比較に供したものは第1表である。すなわち総菌数は Ziehl-Neelsen 法以外の三法いずれも Ziehl-Neelsen 法より多く, 特に Osol 法は約二倍, Johanson 法は約一倍半, Bender 法またそれに近きものであつた。

第1表

染 色 法	50視野の菌数 100例の合計	Z. N. 法菌数を 100とした場合
Ziehl-Neelsen法	6414	100
Osol 法	12570	196
Johanson 法	9888	154
Bender ピクリン酸法	8994	140

(2) 次に Gaffky 番号(Ziehl-Neelsen 法による)を規準とつて成績を比較した。即ち先ず Gaffky 0号即ち直接塗抹による無菌者, 1号より5号に至るも

の、6号以上に分けてみると、その菌数合計は第2表の成績となつた。0号の場合は比較値を挙げることができないが、Osol法が最も多数の菌を立証し、次でJohanson法、Bender法であつた。1—5号の喀痰ではOsolは4倍近くの数字を示し、Johanson、Bender亦3倍程度、これが6号以上の群でOsol2倍以下、Johanson、Bender1倍半に満たない成績と比較すると、菌数少ない喀痰程Osol法の効果が高いことが認知され興味深く感じた。なお100例中Ziehl-Neelsen法陰性者は29名であり、その総てがOsol法で僅か1、2個のものもあるとしてもとにかく陽性に変つたが、Johanson法では4名、Bender法では11名なお陰性所見を示した。この外Gaffky各番号別に資料を整理し、これをOsol法による菌数で番号を附したものと対照する観察も行つたが、成績の傾向は全く同じであつたので省略する。勿論これによつて番号が1番も2番もときには数番も増加するものがある。しかし大体において低番号のものにおいてこの傾向が著しかつた。

第2表

染 色 法	Gaffky 0号 (29名)	1—5号 (49名)		6号以上 (22名)	
	菌数	菌数	Z. N. を100 として	菌数	Z. N. を100 として
Ziehl-Neelsen	0	515	100	5899	100
Osol法	113	2024	393	10433	177
Johanson法	90	1478	287	8320	141
Bender ピクリン酸法	58	1572	305	7364	125

(3) EgliやBenderの実験にならぬ、上記材料中の一部10例について、Ziehl-Neelsen、あるいはOsolで染色したものを普通視野及び暗視野顕微鏡で観察して成績を比較した。合計菌数はZiehl-Neelsen明視野314、同暗221、Osol明406、同暗607であつて、Ziehl-Neelsenでは暗視野で減少、Osolでは増加の数字がでてゐるが、暗視野法では結核菌たる認定に自信を持ち得ないものが時々現れ、例数が少ないこととともにこの成績に意義を与え難い。

結核菌の発育に関する研究

第二報 牛血清中結核菌深部発育促進因子について

九大医学部細菌学教室(主任 戸田忠雄教授)

三 淵 一 二

まへがき

結核菌の深部培養基としてはKirchner血清加培地⁽¹⁾をはじめ、その他多くの培養基が考案改良⁽²⁾⁽³⁾せられて

要 約

結核菌のいわゆる非復染色法に属するOsol法を、その変法たるJohanson法、復染非復染色法の中間的存在と認められるBender法とともに、Ziehl-Neelsen法と比較する目的の実験を行つた。同一結核喀痰に対し4法同時に施行、その100例の合計菌数からそれらの成績を比較すると、Osol法は約2倍、Johanson法は約1.5倍、Bender法は約1.4倍、それぞれZiehl-Neelsen法にまさる効果を示している。染色法の優劣はただ単に目的菌検出の感受性だけで判ずべきものでなく、実施の容易、対照上の色調、同時に観察し得る他の所見など考慮に入れるべきであるが、これらは術式の改良いかによつては附加される可能性があり、この意味で非復染色法は今後大いに留意さるべきものと思う。

本法が何が故にZiehl-Neelsen法以上の菌数を立証するか、この点に関しては、細胞その他の組織成分中に封入されたものまで透見されるという在来の見方も受入れられるとして、植田教授が説かれるように、強度の加熱と強度の脱色、それと後染色を施さないことによる正常型ならざる結核菌体検出の可能性も一応考へるべきである。さらにこれは今のところ全くの想像であるが、Ziehl-Neelsen法ではいわゆる青色菌が見逃され易いのに對して、本法でこの菌体は所定の色調をとつて計算に入れられたと解し得る場合なしとも思へない。

主要文献

- (1) 戸田忠雄；結核菌とBCG, 107, 3版, 昭22
- (2) Osol; Johanson より引用 (Dtseh, Med, Wschr. 1927, 24)
- (3) Johanson, A.; Zbl, Bakter, I Orig, 141, 424, 1938
- (4) 植田三郎, 近藤達雄；日微生物誌, 34, 610, 昭15
- (5) 占部薫, 高木篤, 山田倫子；日医健保, 3286, 1254, 昭17
- (6) Egli; H.; 全科技聯科学技術蒐録, 第9部 (10), 259, 昭19より (Schw, Med, Wschr より梅沢抄訳)。

いるが、これ等はほとんど総て血清または血漿を培地に添加したものである。一般に結核菌深部培養のために培地に血清を加えることが最も必要なことであつて、こ