

# 結核菌の荷電集菌法

楠 信男・熊田富貴子

福島医大楠内科教室

受付 昭和 35 年 5 月 22 日

## 緒 言

先に教室の門屋は田村集菌法<sup>1)</sup>を用いて喀痰中結核菌を検索し、塗抹陰性、培養陰性の多数例から菌が証明されることを明らかにして、化学療法の結果として培養成績の低下した今日、結核菌検出手技として集菌法が用いられるべきであることを強調し<sup>2)</sup>、鏡検陽性培養陰性の臨床的意義を検討した<sup>3)</sup>。また門屋および著者ら<sup>4)</sup>はこの方法に蛍光染色を施すことにより検出率を約 50% 向上せしめうることを報じた。しかしながらこれらの方法においては塗抹標本の辺縁に沿って視野をずらして菌を搜索する必要がある、そのことは田村集菌法の能率高きゆえんであり特徴でもあるが、若干の労苦を伴う。そ

こでわれわれは載物ガラス上の沈渣に電圧を加え結核菌を一局部に泳動集合せしめることを試みたところ、著しく検出率を高めかつ労力を減ずることができたので、この方法を仮に荷電集菌法と名づけ以下にこれを報告する。

## 実 験 材 料

- 1) 化学療法実施中の肺結核患者について菌がほとんど陰性またはそれに近いもの 120 名の喀痰。
- 2) 結核または非結核の鑑別困難な肺疾患 15 名の喀痰。
- 3) 泌尿器科由来の腎結核の疑われる 23 名および腎腫瘍の疑われる 2 名の患者尿。

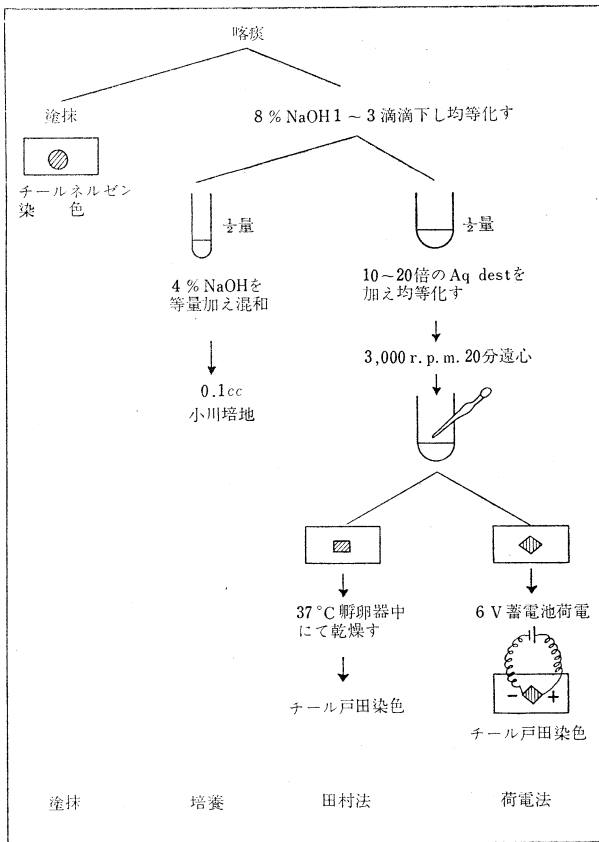
## 実 験 方 法

喀痰の場合には早朝喀出された喀痰をとり、単純塗抹、田村集菌法、荷電集菌法、培養の 4 方法を同時に実施する。そのシェーマは図 1 のとおりである。滅菌シャーレに採取した喀痰のなるべく濃厚な部分を選び、型のごとく単純塗抹に付し、次に残りの喀痰全部に 8% NaOH を 1~3 滴滴下して攪拌均等化し、その半分を滅菌試験管にとりさらに 4% NaOH を等量加えてよく混和し、30 分後その 0.1 cc ずつを小川培地 2 本に接種し 6 週および 8 週後に判定する。残りの半分は容量大なる遠心管にとり、10~20 倍の蒸溜水を加え均等化し、毎分 3,000 回転 20 分間遠心し、多少の水を残して沈渣を攪拌し毛細管ピペットで吸い上げ、2 枚の載物ガラスにそれぞれ 1 辺が 1.5 cm の正方形になるよう沈渣を盛り上げる。この 1 枚は 37°C 孵卵器中で乾燥させ田村法にあて、他の 1 枚は荷電法にあてる。

菌の搜索には単純塗抹標本については 100 視野を、田村法標本については正方形の 2 辺の辺縁に沿って全視野を鏡検した。

荷電法の電源には 6 V 蓄電池を用い、その両極端子からの導線を正方形に盛られた載物ガラス上の沈渣の対角線上の両端に触れさせる。このとき流れる電流は標本 1 枚につき通電初期

図 1 実験方法



においても数ミリアンペアにすぎない。通電時間と菌の泳動の様相との関係は表 1 のとおりで、時間とともに陽極側へ結核菌の集まる割合を増し、30分後にはほとんど陽極側の尖端部およびきわめてそれに近い辺縁部に集合しており、陰極側には見出だされなくなる。しかしガフキー 3~4 号程度の菌数の多いものになると、なお陰極側にも多少残存している。この結果から通電時間を30分と定めた。通電後標本を孵卵器中で乾燥させ、軽く火焰固定し、チール戸田液で染色鏡検すると、結核菌は陽極側の端部数視野ないし十数視野内に発見される。

表 1 泳動時間と集菌との関係

症 例	泳動時間と各極側への集菌					
	10'		20'		30'	
	陰極	陽極	陰極	陽極	陰極	陽極
1 ■ G II	10	+	3	+	0	+
2 ■ G II	8	30	3	+	0	+
3 ■ G 0	0	2	0	4	0	5
4 ■ G 0	0	3	0	8	0	11
5 ■ G III	20	+	7	+	0	+
6 ■ G II	14	34	3	52	0	+
7 ■ G I	11	17	5	27	0	32
8 ■ G IV	+	+	30	+	15	+
9 ■ G III	+	+	23	+	17	+
10 ■ G II	8	34	4	40	0	+

++ 50以上  
+ 無 数

尿の場合にはできるだけ無菌的に約 20 cc 採り、8% NaOH を 3~5 滴滴下振盪混和し、5 分間放置後毎分 3,000 回転 10 分間遠心し、上澄を棄て沈渣を喀痰の場合と同様に載物ガラス上に盛り上げ荷電法にあてる。残りの沈渣は 4% NaOH を等量加えて混和し、その 0.1 cc 宛を小川培地に接種する。

実験成績

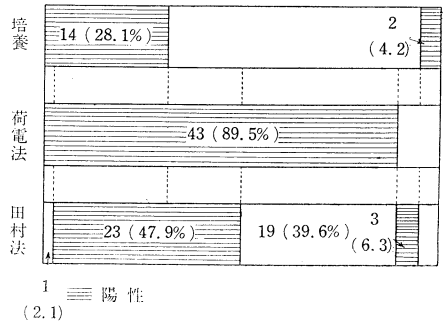
まず肺結核患者の喀痰についての成績を述べる。120 例の喀痰中 8 例は単純塗抹で陽性であったのでこれを除外し、塗抹陰性の 112 例についての成績を表示すると表

表 2 培養、田村法、荷電法の比較

検出方法	荷電法 (+)		荷電法 (-)		計 (%)
	田村 (-)	田村 (+)	田村 (+)	田村 (-)	
培養 (+)	1	13	0	2	16 (14.3%)
培養 (-)	19	10	3	64	96 (85.7%)
計	20 (17.9%)	23 (20.5%)	3 (2.7%)	66 (58.9%)	112
%	43 (38.4%)	26 (23.2%)	69 (61.6%)		(100%)

2のごとく陽性率は培養14.3%、田村法23.2%、荷電法38.4%であり荷電法がもつとも高率を示した。相互の関係をみると培養陽性例は 16 例で、そのうち田村法陰性が 3 例、荷電法陰性が 2 例あり、培養陰性 96 例中には田村法陽性 13 例、荷電法陽性 29 例あった。次にいずれかの方法で陽性であった 48 例について比較を行

図 2 陽性例についての検出成績比較



うと図 2のごとく、培養によつては 16 例 32.3%、田村法では 26 例 54.2%、荷電法では 43 例 89.5% が検出され、荷電法のみによる検出は 48 例中 19 例 39.6% に達する。

塗抹および培養上結核菌が証明されず、レントゲン写真上でも結核性か非結核性かの鑑別が困難であった急性および慢性の肺疾患 15 例についての成績は表 3 に示すとおりである。この成績は各例少なくとも 3 回以

表 3 結核または非結核疑わしき肺疾患の喀痰についての検査成績

症 例	例数	荷電法		田村法	
		(+)	(-)	(+)	(-)
珪肺症+肺性心; 肺結核合併?	1	1	0	0	1
気管枝拡張症+肺 性心;肺結核合併?	3	1	2	0	3
肺化膿症または肺 結核?	3	1	2	0	3
肺結核?	8	2	6	1	7
計	15	5	10	1	14

表 4 結核の疑わしき腎疾患の尿についての検査成績

症 例	例数	荷電法		田村法	
		(+)	(-)	(+)	(-)
腎結核?	23	8	15	2	21
腎腫瘍	2	0	2	0	2
計	25	8	17	2	23

上のくり返し菌検索を行なった結果であるが、5例において荷電法陽性であり、田村法では1例のみ陽性であった。

また腎結核の疑われるもの23例ならびに腎腫瘍と思われるもの2例の尿検索については表4に示すように、腎結核の疑いあるものうち2例は荷電法、田村法ともに陽性で、さらに6例は荷電法によつてのみ陽性の結果を示した。

### 考 案

一般に行なわれている種々の集菌法においては集菌のプロセスはただ遠心という操作のみにかけられており、遠心沈渣から塗抹標本を作るプロセスにおいては全く考慮が払われておらずたゞいゆる塗抹し、漠然と視野を動かして菌を捜索するにとどまっている。したがつて集菌の成績が上がらないのであるが、これに対し、田村法においては沈渣を含む水溶液が載物ガラスの上で乾燥してゆく間に、結核菌が辺縁に自然に集合してゆく現象（あたかも血液塗抹標本を厚く作るとき白血球が辺縁によるように）を巧みに利用したものである。この辺縁への集合ははなはだ顕著なもので菌の捜索は辺縁についてのみ行なえばよい。その便宜のために田村法では辺縁が直線をなすごとく、正方形または矩形に沈渣を盛つておくものである。しかしながら菌が辺縁のどの部分に集まるということがないので、菌数の少ない場合には辺縁に沿つて相当な視野を鏡検するの必要があり、単純塗抹標本よりははるかに楽ではあるが少しく煩わしいといえは煩わしい。

われわれはこの点に関し電気泳動により結核菌を標本の一局部に集合せしめうるであろうと考え実験を試みたところ、わずかの電圧と電流によつて結核菌は陽極側に集合することを見出し、わずか数視野ないし十数視野を鏡検するのみで田村法をはるかに上まわる検出率を示す結果を得た。

この方法によつて、ほとんど菌陰性と考えられた112名の喀痰のうちから43名、38.4%に菌が見出されたことは、培養陽性率14.3%に比較し注目すべき事実であつて、培養と単純塗抹とによつては検出されざる菌陽性の領域の広りは本法によつてさらに拡大される。一方、非結核か結核か他の方法によつて鑑別困難であつた

肺疾患15名の喀痰から5名において本法により抗酸菌が見出され治療上に役立った。肺化膿症、肺腫瘍その他の非結核性肺疾患が最近とみに増加して結核との鑑別が緊急を要する場合が多くなつたが、このさいには本法による菌検出が大いに有力である。もちろん厳密には鏡検によつて見出された抗酸菌がすべて結核菌であるとただちにいえぬことであり、いわゆる非定型抗酸菌あるいは雑菌性抗酸菌でもありうるが、抗酸菌を見出したことはとりあへずの治療に対し重要な指針を与えることに異論はないことであろう。

### 総 括

われわれは田村集菌法の操作途上において、載物ガラス上の沈渣に電圧を加えることにより結核菌を陽極側の端部に泳動集合せしめ菌の検出を容易かつ高率ならしめることを認め、これを仮に荷電集菌法と称した。

本法による菌検出率は単純塗抹陰性112例の肺結核患者の喀痰について43例、38.4%であり、これに対し培養で16例、14.3%、田村法では26例、23.2%であつた。また培養陽性で荷電法陰性の例は2例あるにすぎなかつたが、逆に荷電法陽性で培養陰性の例は29例であつた。

また結核か非結核か診断の困難な肺疾患、腎疾患等にさいしても本法はしばしば有力な診断の根拠を与えることができた。

結核菌の培養成績が不良化し、一方においては肺化膿症、肺腫瘍等の非結核性肺疾患が著明に増加した今日において、鏡検による結核菌の有力な検出方法はもつとも望まれるものであり、本法はその目的に十分適するものと思う。

本論文の要旨は第35回日本結核病学会で報告した。

### 文 献

- 1) 田村和夫：結核，17：913，昭14.
- 2) 門屋桂太郎：結核，33：764，昭33.
- 3) 門屋桂太郎：結核，33：811，昭33.
- 4) 楠信男・門屋桂太郎・熊田富貴子：結核，33(特別号)：95，昭33.