

結核菌染色法としてのハルベルグ法について

佐々木 千代治

I. 緒 言

結核菌の染色に関して従来幾多の方法が考案または改良せられ、最近に於ても Ziehl-Neelsen 法の改良変法である戸田、三友法があり、黒田法があり、或いは松岡法などがあり、更に auramin を染色剤とした蛍光顕微鏡法があつて、何れも菌検出率が高く優秀な方法であることは疑いない。然るに最近結核に対する化学療法の普及に伴い菌検出率が低下し、培養法が唯一の頼りとなつた一方、培養陰性であつて然かも塗抹陽性である場合も現われるに及んで、塗抹染色法についても培養法についても今一度見直さなければならぬ機運に立ち到つた。尚また松岡法実施の際しばしば現われる桑実型に関する意義という問題もある一方、Ziehl-Neelsen 法、Ziehl-Gabbet 法に対する信頼度がいよいよ低下して来た今日手技簡単であつて検出率高く、そして鏡検に当つて周囲の細胞その他との区別明瞭であつて、且つ低廉で、標本の褪色速かならずして保存性の長いことなどを理想とする方法の発見を期待すること切なるものがあつた。

恰も昭和29年8月、Hallberg が1939年スエーデンの病理学会で発表され、その後ドイツ及び北歐で追試を受けた優秀なる方法を国立予研の室橋吉田が紹介と同時に追試業績を発表されたが、著者は取り敢えず更に追試して優秀なる方法たることを確認したのでここに発表する次第である。

II. 実験方法

(1) Hallberg 染色法の室橋、吉田変法

1939年発表当時 Hallberg は結核菌染色剤として Nachtblau なる色素を使用したものの如く、ドイ

ツでは Carbol-Nachtblau 法と呼んでいるという。Hallberg と別個にわが国に於て占部は昭和16年(1941) Nachtblau を用いて所謂3色法を発表したが3色染色法自身が組織切片の染色方法として発表されたがために、且つまた手技がやや複雑であつた理由も手伝い、その以後殆ど発展を見るに到らなかつたという。昭和30年2月室橋、吉田は一般に Nachtblau の入手困難なところから Nachtblau ($C_{33}H_{42}N_3Cl$, Tetraethyl-p-tolyl, pp'-diaminodiphenonaphthofuchson-immonium-chloride) に代るに Victoria blue ($C_{33}H_{32}N_3Cl$, Tetramethyl-phenyl-p-p'-diaminodiphenonaphthofuchson-immonium-chloride) を以て行つた成績を発表した。この両者の相違の主要点は p-p' の ethyl 基が methyl と代つた以外大差がなく、然かも Victoria blue は国産品で安価に入手し得、「Nachtblau に替えて抗性菌の染色に充分用い得ると思う」という成績であつたので、著者も本実験で Victoria blue を使用した。

Hallberg の原法には連続染色法と同時染色法の2方法があつて、連続染色法では Nachtblau 染色次いで脱色、複染 (pyronin, Bismarckbraun, Suvin, Carbofuchsin, Neutralrot) という順序であるが、同時染色法では Nachtblau と Bismarckbraun とを同一液に溶解して染色し、複染を省略した方法で、著者は専ら後者の同時染色法を採用した。

(2) 試験材料

試験材料は専ら依頼検体並びに2,3病院入院中の結核患者の喀痰である。

且つ同一喀痰について攪拌混和、可及的均一にして、然る後次の4染色方法を同時に行い、且つ培養法を附加してこれらを比較した。

- (i) Ziehl-Neelsen 法
- (ii) 螢 光 法
- (iii) 松 岡 法
- (iv) Hallberg法
- (V) 培養法 (岡、片倉培地使用)

なお培養法は5週間後の成績である。

Ⅲ. 實 験 成 績

実施件数は約 150 件であつたが、何れの方法に於ても陰性なものを除外した 106 件についての成績である。すなわち第 1 表の成績は現在の肺結核

第 1 表 各種染色法と陽性率

(検体106件について)

区 分 検査法	陽 性		Ziehl-Neelsen 法を 100 とした 場合の各法の比 率
	件 数	率(%)	
Ziehl- Neelsen法	53	50	100.0
螢 光 法	60	57	113.2
松 岡 法	74	70	139.6
Hallberg 法	81	76	152.8
培 養 法 (岡、片倉培地)	69	65	130.0

患者の排菌率ではないが、何等かの方法によつて結核菌を証明し得た場合の各種染色法の比較である。

Ziehl-Neelsen法の陽性率は50%で、螢光法の57%に及ばないが、その差大ならず、且つ何れも培養法に劣る。しかし松岡法とHallberg法はそれぞれ70%、76%の陽性率を示して培養法(65%)に勝っている。

なおいうならば、培養法は螢光法よりは検出率が高いが、松岡法に劣るということとなり、また培養法によつて陰性に終つた65%との差、すなわち35%は實際上大いなる意義を有つものと思われる。検出せられた結核菌のうち生長繁殖の活力を有しないか、または死菌であるかの何れかであると想われるのである。なお著者の場合は、検体の選択が何れかの方法によつて結核菌が検出可能のもののみであつたのであるが、臨床上かかる選択を行わずして培養する場合には更に低率を示すものと思われる。

次に1つの方法が優秀ならば検出される菌数(この場合はGaffky数)も従つて多いことが当然である。第2表はこの間の消息を示していると思う。すなわちGaffky号数が何れの区分に於ても松岡法、Hallberg法が螢光法、Ziehl-Neelsen法より多く、また106件中の検出率から観ても松岡法、Hallberg法が他よりも優れていることが明瞭であ

第 2 表 結核菌の検出法と菌数(ガフキー号数)並びに培養成績

検 出 法 Gaffky号数	Ziehl Neels- en法	螢 光 法 (オーラミン 染色)	松 岡 法	Hallberg法 (Victori blue)	培 養 法 (岡・片倉培地) 集 落 数
1 ~ 3 号	33 (31%)	33 (31%)	43 (41%)	41 (39%)	100 個 以 内 21
4 ~ 6 号	17 (16%)	21 (20%)	19 (18%)	28 (26%)	多 数 7
7 ~ 10 号	3 (3%)	6 (6%)	12 (11%)	12 (11%)	無 数 41

る。

次に著者が検査材料（検体）の取捨について最初に予め断つたように、培養法をはじめ各種染色法で何れも陰性に終つたものを除外した、即ち何れかの方法で陽性に出たものを採り上げたのであるが、かかる場合、もし優秀な方法であれば、その方法のみに陽性であるという場合が出て来る訳である。著者の実臨成績から拾い集めたものを示すと次のとおりであつた。

Ziehl-Neelsen法のみ陽性な場合……なし
 蛍光法のみ陽性な場合……なし
 松岡法のみ陽性な場合……なし
 Hallberg法のみ陽性な場合……4件
 培養法のみ陽性な場合……23件

この成績から考えると、培養法は他の染色法が陰性なる場合にも実施して結核菌の検出に努力すべきであると確信する一面、培養法が陰性に終る場合に於てすらHallberg法によれば菌検出が可能である場合のあることを知り得るのである。

なお参考までに如何なる方法の組合せが實際上役立つか否かについて求めて見ると、

Ziehl-Neelsen法と蛍光法のみ陽性な場合
 ……なし
 Ziehl-Neelsen法と松岡法のみ陽性な場合
 ……なし
 Ziehl-Neelsen法とHallberg法のみ陽性な場合
 ……2件
 Ziehl-Neelsen法と培養法のみ陽性な場合
 ……なし

蛍光法と松岡法とのみ陽性な場合……なし
 蛍光法と培養とのみ陽性な場合……なし
 松岡法とHallberg法とのみ陽性な場合…4件
 松岡法と培養法とのみ陽性な場合……なし
 Hallberg法と培養法とのみ陽性な場合…なし
 塗抹各法と培養法とともに陽性な場合…32件

以上のことからHallbergの優れた方法であることを再び認めると同時に松岡法にも利点のあること、また培養も実施すべきであることを知り得る

と思う。

なお松岡法に於てしばしば観察して来た菌の群落と思われる所謂「桑実型」の所見はこのHallberg法に於ては絶無であつた。

IV. 結 論

結核患者の喀痰106件についてZiehl-Neelsen法、蛍光顕微鏡法、松岡法、Hallberg法による染色法を比較し、これに培養法（岡、片倉法）を合せ行つて次の成績を得た。

(1) 結核菌の検出率はZiehl-Neelsen法50%、蛍光法57%、松岡法70%、Hallberg法76%で、Hallberg法が塗抹染色法として最も勝れている。松岡法はこれに次ぐ。

(2) 塗抹標本において結核菌の少ない場合も多い場合も松岡法、Hallberg法は他のZiehl-Neelsen法や蛍光法に勝り、松岡法よりもHallberg法は更に優秀な成績を示した。

(3) 松岡法とHallberg法との併用はZiehl-Neelsen法とHallberg法との併用よりも優るが、この際培養法は更に特別の意義を有つ。

(4) Hallberg法では松岡法の所謂「桑実型」を観ない。

(5) Hallberg法では手技の点からも、費用や時間の面から見て臨床検査上推奨の価値がある。

（終りに苅み検体を心よく提供され、試験に協力された秋田聖園サナトリウム園長丁野佳子先生に満腔の謝意を表す）

文 献

- (1) 室橋豊「ホールベルグ法による結核菌の染色（Carbol-fuchsin法との比較）」日本医事新報、1582号、昭和29年8月21日
- (2) 室橋豊穂、吉田幸之助「Hallberg法による結核菌の染色（松岡法との比較）」、日本医事新報1608号、昭和30年2月19日
- (3) 室橋豊穂、吉田幸之助「Hallberg結核菌染色法の一変法（Victoriablueによる染色）」、日本医事新報、1609号。昭和30年2月26日