Brucella の抗酸性染色について

今 泉 清

国立予防衛生研究所獣疫部 (部長 田嶋嘉雄)

[受付: 5月1日 1954年]

緒 言

グラム陰性菌はグラム陽性菌及び抗酸性菌と異り対比染色が困難で単染色が常用され、従つて特殊の形態のものを除いては一般に少数の菌の検出は容易ではない。特に *Brucella* に於ては宿主体内における菌の形態が固型培地に発育したそれに比して小さく、染色性も悪く、塗抹標本及び組織切片中の少数の菌の検出判定には相当の熟練を必要とする。私共は種々の実験動物における *Brucellosis* を追求するに際して菌対細胞の関係を重視し、之が解決の一手段として染色法の改善に努力をしてきたのであるが、今回本菌の抗酸性染色について良好な結果を得たので報告する。

染色方法

1. 材料作製 新鮮臓器の塗抹又はスタンプ標本を作り室温で自然乾燥する。
2. 固定 クロ、ホルム固定 (局方クロ、ホルムをビペットでスライド上に滴下)。
3. アニリンフクシンで30分以上染色 (室温)。
4. 水洗。
5. 1500倍稀釈醋酸水で脱色分別 (フキシンの桃色がかすかに残る程度。落し過ぎない様に注意する)。
6. 水洗。
7. メチレンブルーで後染色。

試 薬

アニリンフクシン: 蒸溜水約10ccにアニリン数滴を混入、強く振盪し濾過する。この濾液10に対し、0.1~0.3%塩基性フクシン水溶液1を混合。アニリンフクシンは明るい桃色を呈し、かすかに混濁の感がある。

醋酸水: 氷醋酸を蒸溜水で1500倍に稀釈したもの。

メチレンブルー: 細菌単染色用。

染色所見

核、原形質その他 *Brucella* 以外は総てメチレンブルーの青色をとり、*Brucella* は鮮紅色に染る。白血球や単球の中の菌の状態は極めて鮮明で、結核菌の抗酸性染色と比較して劣らない。

考 按

Brucella が弱いながらも抗酸性、抗アルコール性であることは既に CASTANEDA¹⁾ の指摘したところである。最近 KØSTER²⁾ 法としてサフラニンと0.1%硫酸水を使用する方法が発表されているが、追試の結果原著に記載している様な良好な結果は得られなかつた。私どもの方法はその装作の容易なることは勿論鮮明度においても決して他の染色法に劣るものでないが、更に組織切片中の菌の検出にも応用出来る。然して *Brucellosis* においては菌対宿主の関係は複雑を極め、宿主体内における菌の形態、染色性も感染の各段階に応じていろいろに変化することが察知される。従つて本法による *Brucella* の形態、染色性が常に一定して同一の結果を齎らすものではないことを理解する必要がある。

最後に御指導、御校閲を賜つた田嶋部長に深謝する。

文 献

- 1) Castaneda, M. R.: *Brucellosis*, Ann. Rev. Microb., IV, 331~342, 1950.
- 2) World Health Org. Techn. Rep. Ser., No. 37, 27, 1951.

IMAIZUMI Kiyoshi.: Acid-fast staining for *Brucella*, Veterinary Division, National Institute of Health of Japan. — Jap. J. of Bact., 9 (9), 739, 1954