

ストレプトマイシン抵抗株に関する研究

(BCG に於ける抵抗株について)

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳 沢 謙博士)

橋 本 達 一 郎

I. 緒 言

結核症に対してストレプトマイシン(以下「ス」と略す)を用いることが多くなると共に感染菌の「ス」抵抗性は臨床的に極めて重要な問題となつてきているが、また細菌学的にも興味ある問題を提供しており、数週乃至数月の「ス」治療後患者のかかなりの率に感染結核菌の試験管内「ス」抵抗性の上昇が観察されている。(1-5)「ス」治療前の患者から得られた結核菌は、従来の実験方法によれば常に「ス」に対し、高い感受性(濃度 1γ/cc 以下の「ス」で完全に発育阻止)をもつているが、(6)(7)治療により抵抗性をえた菌は屢々当初の数千倍以上もの抵抗性を示している。このように感染菌が「ス」抵抗性となつた場合は治療をつづけることは無意味であり、時には有害ですらあることは動物実験や、(8-10)臨床例の示すところであるが、感染菌が如何にして「ス」抵抗性となるか、抵抗株はどういう生物学的性状をもつているかという問題は治療の上から特に重要な問題である。現在では、「ス」抵抗性の問題は次のような考え方に傾いている。すなわち結核菌群においては「ス」の存在とは無関係に突然変異によつて生じた「ス」抵抗性菌(変異の分布状態は菌群により相当の変動があるようであるが、いずれにしても莫大な菌群にごく僅かの率で分布しているようである)が存在し、これが「ス」投与により選択的に増殖をつづけ、遂に他の感受性菌を制圧してこれと置換するためであるというのである。この考え方を証明するために、「ス」に一度も曝露されたことのない結核菌群から抵抗株を分離し抵抗性の出現を分析したいくつかの試験管内実験⁽⁹⁾⁽¹¹⁻¹³⁾が報告されている。著者はまだ「ス」に曝露されたことのない大量の BCG から、試験管内で高度の「ス」抵抗性を有する菌を分離し、その生物学的性状の若干について研究したのでその成績について報告する。

II. 実験方法

予保保存 BCG 株 Sauton 培地 2 週間培養の菌膜を、ろ紙で吸湿、秤量して水晶球入り硬質コルベン器械

的振盪法により、5 mg/cc の菌浮游液とし、これを 0.2 cc (菌量 1 mg) ずつ寒天平板培地(製法後述)に接種した。この菌液は同時に岡・片倉培地に 10 倍稀釈法で定量的に培養して生菌数を決定したのであるが、その結果 10⁻⁴mg 培養において平均集落数 115.4 という成績をえたので、1 mg (0.2 cc) は 1.54 × 10⁶(約 10⁶) 個以上の生菌を含むことを知つた。すなわちこれは培地 1 枚あたりの生菌数である。

基 礎 培 地

アスパラギン.....	5 g
第 1 磷酸カリ.....	4 g
第 2 磷酸ソーダ.....	3 g
クエン酸ソーダ.....	2.5 g
硫酸マグネシヤ.....	0.6 g
グリセリン.....	20 cc
蒸留水.....	900 cc

培地の作製には、まず右の処方の基礎培地をつくり、寒天を 3% の割に加えて高压滅菌し、血液寒天作製と同じ要領でこれに馬血清及び「ス」稀釈液をそれぞれ 10% の割に加えて寒天平板としたもので、「ス」の含有量は培地 1 cc につき 100 γ である。この平板は長期培養の目的から普通のシャーレを用いず、100 cc 容量の 3 角コルベンに培地を 20 cc ずつ分注して凝固させたものを用いた。培養に当つてはこの 10 本の培地に菌液接種後、よく培地全面をうるおすように流して直ちに 37°C のふ卵器に入れ、2~3 日後殆んど水分のなくなつた時に綿栓をゴムキャップにかえた。なお対照として「ス」を含まぬ平板を 1 枚おき、以後毎週培地上の集落出現数及び集落の大きさの変化を 7 週以上観察し、出現した各集落について種々の追究を試みた。

III. 実験成績

7 週間の観察成績は第 1 表の如くで、集落は 7 週以後には新たに出現せず、結局 10 枚の中 5 枚の平板にそれぞれ 1 箇の R 型の集落が現われた。

これらの集落はすべて 3 週乃至 4 週目に出現し、成長してゆくが、成長速度は各集落によつて異なり、たとえ

ば No. 10 の集落と No. 4 の集落では、大きさ・厚み等の発育状態が著しく異なるのである。この集落発生状態からみると、総計5箇の分離できた集落の分布率は、

10⁷ すなわち約1千万個に5ヶ、すなわち200万の生菌中1箇という率になるのである。

第1表 「ス」100 γ/cc の寒天平板培地による抵抗株の分離

培地No.	週	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	1 粟粒大	1 粟粒大	1 半米粒大	1 大豆大	1 大豆大
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	1 粟粒大	1 粟粒大	1 半米粒大	1 半米粒大	1 半米粒大
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	1 粟粒大	1 粟粒大	1 米粒大	1 大豆大	1 大豆大	1 大豆大
8	0	0	0	0	0	0	0	5
9	0	0	1 粟粒大	1 米粒大	1 大豆大	1 そら豆大	1 そら豆大	1 そら豆大
10	0	0	1 粟粒大	1 米粒大	1 大豆大	1 そら豆大	1 そら豆大	1 そら豆大
対 照	∞*	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

* ∞は微細な無数の集落を意味し、一部菌苔をつくる。

このようにして生じた寒天上の集落の大きさが大豆大以上になった時に、直ちにこれを渦巻白金耳でひろいあげ、菌液をつくつて次に述べる実験を行つた。

(A) 液体培地による確認試験

集落の発育速度差のために、この実験に用いる菌液をつくるのに充分な大きさになるまでの培養期間がそれぞれ異なり、5箇の集落中、3箇は7週間に実験に用いたが、他の2箇の中、No.2 は9週、No.4 は11週目にそれぞれ採取して実験に供した。

「ス」100 γ/cc の寒天で分離される集落には抵抗株のみならず、「ス」依存株（「ス」を必須の発育因子とする株）、「ス」により発育を増強される株等があるのであるが、この鑑別は集落を「ス」含有培地と含有しない培地に接種して観察すればよいわけである。この目的には、液体培地を用いる方が適切であるので、Kirchner の Minas-Ser 培地を実験培地として用いた。

まず、白金耳で培地上から集落をかきとり、これをそのまま水晶球入り硬質コルペン中に入れ、手振法によつて適当な濁度の菌浮游液をつくり、0.1 cc ずつ培地に接種した。5箇の集落からいずれも同じ方法で菌液をつくり、同程度の濁度にして用いた。液体培地は「ス」を全く含有しないものと、1000γ/cc、100γ/cc の率に「ス」

を含有するものの3種となし、発育の有無をみる対照としては、用いた菌液を加熱殺菌したものを同量に加えて死菌対照とした。

第2表 液体培地による抵抗の分析

分離 コロ No.	「ス」濃度			死菌対 照	集落培 養日数 (週)
	100 γ/cc	1000 γ/cc	0γ/cc		
2	+	+	+	-	9
4	+	+	-	-	11
7	+++	+++	+++	-	7
9	+++	+++	+++	-	7
10	+++	+++	+++	-	7

註、集落培養日数とは菌液をつくるまでに要した平板上の集落発育日数である。

第2表は比較の便宜上、液体培養2週末における各集落の「ス」抵抗性を分析したものであるが、No.4 の集落以外は、いずれも発育に強弱の差はあれ、「ス」含有培地にも含有しない培地にも発育速度、発育量において同程度に発育の完全な「ス」抵抗株であることが認められる。

(B) ストレプトマイシン依存株

培養 11 週にして初めて実験に用いることのできた発育の最もおそい No. 4 の集落は、第 2 表の如く、Kirchner Minas-Ser 培地培養第 1 代では、「ス」を含ませる培地には殆ど発育せず、培養 4 週の観察では、その発育には「ス」を必要とする株（「ス」依存株）ではないかという印象を与えた。しかし培養 5 週目に至つて、「ス」を含ませる培地においてもこれを振ると少数の菌塊が浮遊するのが観察された。次の、この「ス」1000γ/cc の液体培地中に発育した第 1 代の株の 13 日培養のものをよく振り、その 0.1cc を接種量として第 1 代と同じ実験をくりかえした。その結果、培養 2 週間で、第 1 代の場合と異なり「ス」を含ませる培地にも発育がみられたが、その発育量、及び浮遊菌塊の大きさよりみれば、明らかに「ス」1000γ/cc、100γ/cc 中における菌発育の方が旺盛で「ス」により著しく発育を増強せしめられる株であるという印象をうけた。

以上の成績は第 3 表に示す如くで、分離第 1 代では「ス」に対する依存性の強かつたものが第 2 代では相当に依存性が弱化したのがうかがえる。

第 3 表 「ス」依存株の分析(培養 4 週間)

「ス」濃度 分離後	100γ/cc	1000γ/cc	0γ/cc	死菌対照
	第 1 代	+	+	
第 2 代	+	+	+	-

分離第 1 代においても培養 5 週以上になると、「ス」を含ませる培地にも僅かの発育をみるので純粋な依存株とはいえないが、事実 No. 4 の寒天上の集落を「ス」を含有しない岡・片倉培地に白金耳で塗抹すると、4 週後に点々と散発的に集落の発生を認めることができた。この

岡・片倉培地上の集落を更に白金耳で「ス」1000 γ/cc の寒天培地に塗抹してみると、「ス」を含ませる寒天培地に同時に塗抹したものと同程度の旺盛な発育がみられ、「ス」感受性株でなく明らかに典型的な「ス」抵抗株であることを示している。

(C) 「ス」抵抗株の形態学

分離した 5 箇の集落をそれぞれ白金耳で載せガラス上に塗抹し、Ziehl-Neelsen 染色を施して「ス」感受性をもつ一般の BCG の同様な培養の染色標本と比較した。No. 4 の集落からの菌がやや顆粒が多い外は、いずれもフクシンに強く染まり、短く太く、やや彎曲しているのもあり、一部顆粒状のところもある典型的な普通の BCG の形態で、「ス」感受性の菌と変るところは認められなかつた。菌の配列も全く不規則で何の特徴もうかがえない。

(D) 「ス」抵抗性と毒力 (Virulence)

分離した抵抗株のうち、「ス」1000γ/cc の液体培地中で最も旺盛な発育をなした No. 9 の抵抗株をえらび、これについて毒力の変化を追跡した。まず No. 9 の寒天上の集落の一部をグリセリン水馬鈴薯培地に培養 5 週後、グリセリン水上にできたうすい菌膜を Sauton 培地に移植、2 週間培養して菌膜がよく拡がり最も発育の旺盛な時に採取して、型の如く水晶球入りコルベン手振法を用いて 30 mg/cc の菌浮遊液をつくつた。この菌液は直ちに「ス」1000γ/cc の寒天培地に培養して、抵抗性を維持している事を確認した。この菌液を 8 匹のモルモットの左下腹部皮下に 1 cc (菌量 30 mg) ずつ注射し 6 週間及び 12 週間観察後、それぞれ屠殺解剖に付してリンパ腺及び内臓の結核性病変を肉眼的に観察した (第 4 表)。

第 4 表 「ス」抵抗性と毒力の関係

接種した菌株		「ス」感受性株			「ス」抵抗株			「ス」抵抗株				
接種から剖検まで (週)		12			6			12				
動物番号		432	433	434	1	2	3	4	5	6	7	8
接種局所		A*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
リ ン	膝 囊 腺	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	そ け い 腺	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

外	腋窩腺	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	後腹膜腺	左	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
		右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	門脈腺		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	気管腺		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
内	後胸骨腺		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		左	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
		右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	肝		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	脾		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	脾重量(g)		2.0	0.7	0.6	0.7	0.9	0.7	0.6	0.8	1.0	0.7	0.9
	臓	腎	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
右			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* Aは膿瘍

これを抵抗株を分離する前の「ス」感受性 BCG 菌液による同様の実験(接種3ヶ月後剖検)と比較すると、6週後剖検の抵抗株接種群では No.2-のモルモットの左肺に粟粒大の結節1ヶが認められ、12週後剖検の5匹の抵抗株接種群では No.7 のモルモットの右肺に粟粒大結節1ヶが認められたのみで、接種菌量 30 mg であることを考えれば、BCG の毒力には全く変化がないと判断してもよいであろう。

(E) 「ス」抵抗性の維持

(1) No.9 の 1000γ/cc の「ス」抵抗株をえらび、これを白金耳で「ス」を全く含まぬ岡・片倉培地に塗抹し、約4週間の間隔で3代、3ヶ月間継代培養して、3代目の岡・片倉培地上に旺盛に発育している集落を「ス」1000γ/cc の寒天培地に培養すると、6日後旺盛な発育を示し、「ス」抵抗性を維持していることが認められた。

(2) No.7 及び No.9 の「ス」抵抗株を、「ス」1000γ/cc の Kirchner Minas-Ser 培地に 10-14 日培養して、発育したものをそのままアンブレに分注し-30°C で予備凍結して真空乾燥した。凍結乾燥後2ヶ月間室温に放置して開封、蒸留水で溶解して「ス」1000γ/cc の寒天培地に接種培養すると、約4週で培地表面に多数の集落が出現し、凍結乾燥によつて「ス」抵抗性のそこなわれないことを示した。

IV. 考 按

微生物が化学療法剤や抗生物質の生存に不適と思われる濃度のうちでも生存を続け、抵抗性を示すことについて現在最もひろく受け入れられている説明は、そのような不利な環境にあつても生存し得る極めて少数の突然変異体が、それによつて淘汰されて発育するためであるという考え方である。結核菌の「ス」抵抗性も、この考え方で説明しようとする傾向⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹⁴⁾が強く、E. coli, Staphylococcus aureus 等の結核菌以外の細菌類でも「ス」抵抗性を示すものが多くみられるが、その機序を突然変異体の淘汰説で説明しようとする実験がかなり多く報告⁽¹⁵⁻¹⁷⁾されてきている。結核菌の「ス」抵抗性が真に上述の機構で説明されるとするならば、「ス」治療を行うに当つて、「ス」抵抗菌の極めて少数であると考えられる治療初期すなわちそれが後に増殖して「ス」感受性菌を制圧してしまわないうちに除去する如き手段を考えるべきであり、他の薬物就中化学療法剤(例えば PAS 等)との併用のみならず、免疫力の増強を図る等臨床に考慮すべき多くの問題を示唆しているのである。かかる興味ある問題の基礎となる突然変異体の淘汰説に反対する意見としては、「ス」感受性菌が「ス」により次第に誘導せられて生じた獲得変異で菌の環境に対する適応であるとする考え方であるが、これに対してはまず、「ス」に曝露されたことのない結核菌から速やかに抵抗株を純粋な形で分離し、その出現率、出現の仕方の特性を分析して検討せねばならない。分離の方法として初めは液体培

地が用いられ、(11)(18)それらの実験の中には、「ス」抵抗株の出現を「ス」による変異として説明しようとする成績があつたが、実験方法の欠陥から明確な結論が下し得なかつた。また多くの実験は用いた菌量が少なかつたため失敗したようであるが、最近では「ス」含有の固形培地で甚だ迅速かつ簡単に高度の「ス」抵抗株を分離することに成功し、その上「ス」依存株をも分離しうようになったのである。著者もまた従来の鶏卵培地に劣らぬ性能をもち、製作上「ス」分解のおそれのない寒天培地を考案して実験を行い、上記の成績を得たのである。

(a) 著者の成績では「ス」100γ/ccの培地に发育した抵抗性菌は200万菌に1という率であるが、Yegian等(13)は14億菌の生菌の中から、82菌の抵抗株、12菌の依存株を分離している。いずれにしても、高度の抵抗株の分布数は極めて少なく、余程大量の菌を用いないと分離できないが、この事實は、「ス」によつて菌が漸次抵抗力を増し抵抗株となるという考え方に反対する点の一になつてゐる。また一定濃度の「ス」に対して、分離に用いる菌数が増加すれば、それに伴つて「ス」抵抗株の数も増加することが報告(12)されているが、一方抵抗株の分布率には用いる菌群の質によつて相当な変動があり、たとえば同じ大いさの菌群から同濃度の「ス」で分離しても、殆ど抵抗株の得られない場合と相当数分離できる場合があり、同じ株からでたもの間でもかなりの変動がみられるのである。この事實も「ス」抵抗株が稀におこる無規則性の突然変異体であるという考え方を支持する一とみなされている。

第2表に示す如く、100γ/ccの「ス」抵抗を示す分離菌はすべて更に濃度の高い、1000γ/ccの「ス」にも同じように抵抗を示すことがみられるが、更にまた、抵抗株を分離する際の「ス」濃度を1γ/cc, 10γ/cc, 100γ/ccとあげてゆくと、分離菌数は段階的に減少してゆくが、更に100γ/ccをこえたと分離される菌数は最早や減少せず一定してゐることが観察されており、これらの事實から考えれば、ある濃度(たとえば100γ/cc)の「ス」に抵抗を示す菌に対しては、いかなる高濃度の「ス」も有効には作用し得ないように思われる。(12)(14)

(b) 次にNo. 4の平板から分離した株は(第3表)、分離第1代では1000γ/ccの「ス」中に发育しても「ス」を含みぬ培地では殆ど发育がみられない。純粹の「ス」依存株というものはその分裂・发育に必ず「ス」を必要とするものであるが、これまで分離された結核菌(H37 Rv, *Mycobact. ranae*), *E. coli*, *Staphylococcus aureus*等の「ス」依存株でも、分離第1代ではかゝる純粹株は少なく、「ス」低濃度あるいは「ス」を含有しない培地に

すら極めて僅かながら发育を示すものが多かつた。「ス」を含みぬ培地にもある程度发育して丁度第3表の分離第2代の如き发育差を示す株には、「ス」による发育増強株という表現が用いられているが、「ス」依存株にはこういうものと純粹株との間に相当種々の程度の移行があるようである。No. 4の株についてみても、分離第1代では「ス」依存株の如く、第2代では发育増強株の如くに見える。この問題は更に「ス」依存株、抵抗株、感受性株相互の関係を分析してみなければ鮮明されないのであろう。*E. coli*等の「ス」依存株は感受性株と密接な関係があり、相互に移行する可能性が大きく、「ス」抵抗株にも僅かではあるが移行すると報告(15)されているが、結核菌の「ス」依存株については、その集落の中から継代培養により「ス」抵抗株を生じて来、抵抗株との関係が深いように見える。(18)著者の実験もこれをうらがきしているようであるが、これについては更に分析の必要があるであらう。

「ス」依存株の发育速度が一般に当初は遅いということとは結核菌のみならず種々の菌でも認められていることであるが、(18)(15)著者の場合でも(第1表)No. 4の集落は極めて发育速度がおそい。一般にあまり安定でないということから、「ス」依存株は、その出現の機序が抵抗株とは全く異なるのかもしれないが、ともかく極めて出現の頻度が低いので、試験管内の分離には、時間と多大の菌量を必要とするであらう。しかし、「ス」依存株は少なくとも、これを用いて感染を行つた動物実験の結果では、「ス」投与により病勢が速やかに進展することが観察されており、(10)臨床例でも同様なことが報告(19)されているので、今後「ス」投与の多くなるにつれ、依存株の問題は重要となるであらう。

(c) 「ス」抵抗株の形態は感受性株、依存株と少なくとも現在の方法によつては区別がつけ難い。Dubos等のいう如き有毒菌の发育形式をとる事も観察されず、この点からも毒力の変化を否定し得るであらう。

(d) 「ス」抵抗株の毒力の変化、特にその上昇は臨床的にも重要なことであるが、今までの臨床例、動物実験の結果よりみれば少なくとも特に毒力には大きな変化をきたさないようである。(14)(14)しかし有毒結核菌の抵抗株を用いての実験では、毒力の上昇、下降の判定にはあまりに複雑な因子が多く、正確な判断には研究方法を更に検討せねばならぬであらう。一般に毒力に関しては、薬物に対する抵抗性その他の生物学的諸性質とは全く独立的に変化する因子とも思へられており、著者の実験成績からみても、結核菌の毒力もおそらく抵抗性とは無関係に変化する因子であらうと思われる。

(e) 1000 γ /cc の「ス」に対する高度の抵抗性は著者の実験によれば、少なくとも3ヶ月の間は、変化していないが、他の研究者の成績でも試験管内では1年間⁽³⁾、動物通過でも8ヶ月乃至1年は抵抗性に变化をきたさず、⁽³⁾⁽¹⁰⁾⁽²⁰⁾ 臨牀的にも数ヶ月乃至1年にわたる抵抗性の持続⁽³⁾が報告されており、結核菌の「ス」抵抗性は頗る安定なものであることを示している。抵抗株分離後、感受性株を得たいという臨牀報告はいくつかみられるが、⁽³⁾⁽⁴⁾ この場合両者の間に移行が起つたと速断することは甚だ危険である。結核菌に作用する「ス」濃度は病変部位によつて一様である筈はなく、加えるに「ス」は分裂増殖しつつある菌には作用するが休止状態にある菌には殆ど作用しないという報告⁽¹²⁾⁽¹⁴⁾ からみても、「ス」治療経過中あるいは終了後、感受性菌が排出されることは充分考へるのであり、また患者材料からの分離第1代の「ス」抵抗性菌群のなかには、種々程度の異なる抵抗性菌や感受性菌すらも混入しているのであるから、⁽⁴⁾ 分離当初の抵抗菌について「ス」感受性菌との関係を追究することは、適当ではないであろう。

V. 結 論

(1) かつて一度も「ス」に曝露されたことのないBCGより、寒天固形培地による簡単な方法を用いて、試験管内で高度の「ス」抵抗性をもつ菌株並びに「ス」により発育を増強せしめられる菌株を分離した。

(2) 100 γ /cc の「ス」に抵抗を示すBCG株はいずれも、1000 γ /cc の「ス」にも抵抗を示したが、形態学的には感受性株と区別することができなかつた。

(3) 「ス」抵抗性と毒力 (Virulence) との間には、BCGに就いて一定の関係が認められなかつた。

(4) 高度の「ス」抵抗性菌を、「ス」を含有しない培地に3代3ヶ月間継代しても抵抗性には変化なく、また凍結乾燥して2ヶ月間室温に放置しても、当初の「ス」抵抗性を維持していた。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜つた部長柳沢謙博士・室橋豊穂博士に謝する。

文 献

- 1) Fisher, M.: Am. Rev. Tuberc. 57: 53-57, 1943
- 2) Bernstein, S., D'Esopo, N. D., and Steenken, W.: Am Rev. Tuberc. 58:344-352, 1948
- 3) Wolinsky, E., Reginster, A., and Steenken, W.: Am Rev. Tuberc. 58:335-343, 1948
- 4) Crofton, J., and Mitchison, D. A.: British Med. Jour. 1009-1015, Dec. 1948
- 5) Owen, C. R., Adeock, J., Stow, R. M., Standt, L. W., and Davy, W. N.: Am. Rev. Tuberc. 61: 705-718, 1950
- 6) Youmans, G. P., and Karlson, A. G.: Am. Rev. Tuberc. 55: 529-535, 1947
- 7) Wolinsky, E., and Steenken, W.: Am. Rev. Tuberc. 55: 281, 1947
- 8) Youmans, G. P., and Williston, E. H.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 63: 131-133, 1946
- 9) Feldman, W. H., Karlson, A. D., and Hinshaw, H. C.: Am. Rev. Tuberc. 57: 162-174, 1948
- 10) Tison, F.: Ann. Inst. Pasteur. 77: 767, 1949
- 11) Vennesland, K., Ebert, R., and Bloch, R.: Science 106: 476-477, 1947
- 12) Yegian, D., and Vanderlinde, R. J.: Jour. Bact. 56:177-186, 1948
- 13) Yegian, D., Budd, V., Vanderlinde, R. J.: Jour. Bact. 58: 257-259, 1949
- 14) Yegian, D., and Vanderlinde, R. J.: Am. Rev. Tuberc. 61: 488-507, 1950
- 15) Paine, T. F., and Finland, M.: Jour. Bact. 56: 207-218, 1948
- 16) Demerec, M.: Jour. Bact. 56: 68-74, 1948
- 17) Newcomb, H. B., and Hawirko, R.: Jour. Bact. 57: 565-572, 1949
- 18) Williston, E. H., and Youmans, G. P.: Am. Rev. Tuberc. 55: 586-589, 1947
- 19) Spendlove, G. A., Cummings, M. M., Fackler, W. B., and Michael, M.: Public Health Reports 68, No.36 Sept. 1948
- 20) Karlson, A. G., Feldman, W. H. and Hinshaw, H. C.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 64: 6-7, 1947