

文 献

- (1) Marmorek: Zeit. Tuberk., 1: 444, 1900.
- (2) Bezançon, Philibert et Hauduroy: Compt. Rend. Soc. Biol., 90: 475, 1924.
- (3) Kahn & Nonidez: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 30: 577, 1933.
- (4) Thüringer & Butler: Amer. Rev. Tuberc., 31: 466, 1935.

(5) 植田: 結核, 24: 185, 1949.

(6) 中村: 東京医事新誌, 2936: 5, 1935;

許: 実験医学雑誌, 19: 1346, 1935;

占部: 福岡医科大学雑誌, 29: 231, 1936.

(7) 東村: 結核, 25: 655, 1950.

(8) 東村: 未発表.

(第1報及び第2報の要旨は昭和25年12月中国四国地方会第1回総会で報告した)

S. C. C. 法による喀痰中結核菌検出法の限度について

東京慈恵会医科大学林内科 藤 村 義 男

(本論文の要旨は第25回結核病学会総会に於て報告した。)

緒 言

肺結核の診断並びに治療に際し喀痰中の結核菌を検出する事は必要且つ重要な問題である。従来喀痰中結核菌の検出法としては単純塗抹法, 集菌法, 培養法並びに動物接種法等あり, その菌発見法としての能力乃至限度に関して各々比較検討され来つた処である。

集菌法は Uhlenhuth の「アンチホルミン」法⁽¹⁾, Petroff の苛性曹達法⁽²⁾ 等あれども塗抹標本のみの目的に用いるには田村氏集菌法⁽³⁾が最も優秀であると云われる。即ち同氏によれば単純塗抹法の約37倍, 「アンチホルミン」法の約8倍, d'Arienzo 佐々木法の約3倍の菌検出率を示すと云っている。

培養法に関しては野村氏⁽⁴⁾は岡・片倉, 「レーヴェンスタイン」, Jensen による同変法及び「ペトラニアニー」の各培養基と1940年新しく発表された「ホーン」第4培養基及び昭和16年9月発表された占部, 山田両氏の簡易H培養基の6種に就て, 結核菌証明法として実用的価値に就て検査した結果各々特長を有するが故に結核菌培養法適用の場所に依じて適当に使用せらるべきであるとしている。高橋, 内山両氏⁽⁵⁾は Petroff, Petragani, Hohn, 鈴木, 岡・片倉の各結核菌培地の比較実験により岡・片倉培地最も優れ, 次いで Petragani, 鈴木, Petroff, Hohn 各培地の順序であると述べている。

恩師林教授は昭和23年9月関東結核談話会に於て Slide cell culture による結核菌検出法⁽⁶⁾を報告された。この方法は患者喀痰を処理遠沈後その沈渣を直接 S. C. C. することにより, 喀痰中に僅少に存在する結核菌を増殖せしめ鏡検に際し菌の発見を容易ならしめる目的を有す。然して培養日数が短く, 簡単な器具を用い, 費用も少なく容易に施行出来る特徴がある。私は本法と集菌法・培養法中最も検出率高く普及している田村氏集菌法・岡・片倉培養法とを15例に就き比較した。尚そ

の中8例に於て螢光顕微鏡法をも同時に施行したのでその結果を附記す。

実 験 方 法

林, 坂田両氏⁽⁷⁾が結核第21巻に報告した方法により苛性曹達加脱脂牛乳を用い喀痰を各種稀釈し, その各々につき単純塗抹法, 田村氏集菌法(変法), 岡・片倉培養並びに S. C. C. 法を行つた。

〔A〕 苛性曹達加脱脂牛乳

A液: N/10 苛性曹達溶液と脱脂牛乳との等量混合液

B液: N/30 苛性曹達溶液6容量と脱脂牛乳1容量との混合液

〔B〕 操 作

喀痰を「シャーレ」にとり5ccの注射筒を用いて吸入圧出し外見上殆ど一様に見える様になる。之を試験管にとり, A液を等量添加した後, 箸にて充分攪拌する(原痰の2倍稀釈)。次にB液を以てこの2倍稀釈喀痰を逐次10倍稀釈し稀釈毎に箸にてよく攪拌する。箸並びに稀釈に用いる駒込「ビベット」は毎回新しいものと取替え使用する。斯様にして $2 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$ 倍稀釈喀痰迄作り, 各々のものにつき夫々単純塗抹法を行い, 更に稀釈喀痰の各々同量宛(3.6cc)につき田村氏集菌法, 岡・片倉培養法, 並びに S. C. C. 法を施行す。

1) 田村氏集菌法(変法)並びに螢光顕微鏡法

稀釈喀痰3.6ccに25%苛性曹達溶液2滴を滴下し, 之を火焰上にて稍々沸騰する迄加温しつつ箸で攪拌後, 新鮮なる水を少量宛加え更に加温攪拌し全量約20ccならしめ3000回転20分間遠心し沈渣を2枚の「オブエクトグラス」に夫々縦約1cm, 横約3cmの矩形に拡げ乾燥, 固定後, 「チール, ホールセン」氏染色法並びに「アウラミン」染色法を施行す。

2) S. C. C. 法

稀釈喀痰 3.6cc に 4% 硫酸を約 5cc 宛加え攪拌しながら全量約 20cc になつた時 3000 回転 10 分間遠心す。その沈渣 1「エーゼ」を S.C.C. し、第 4, 第 6, 第 8, 第 10 日目に標本作製す。本 S.C.C. の使用血液は「ツ」反応既陽性健康成人の全血液であり、染色法は「チール、ネールセン」氏法である。

3) 岡・片倉培養法

S.C.C. に使用せる各稀釈喀痰の沈渣 5「エーゼ」を岡・片倉培地 2 本に塗抹 4~5 日の間隔を置き 2 ヶ月間観察す。

以上五ツの方法に使用せる白金耳は直径約 3mm 渦巻形のものを作製した。尙鏡檢に於ける顕微鏡の倍率は單純塗抹法、田村氏集菌法は油浸装置を用いて 800 倍、螢光顕微鏡法は 450 倍である。S.C.C. 法は 1 個の血液の拡がりを全視野檢し、菌聚落を発見すればそれを以て結果とし、菌陰性の際には更に別の一個所を檢した。

実験結果

第 1 表は上記の方法によつて得た 15 例中の 1 例であり、第 2 表は各檢出法を一括表示し比較に便ならしめた。

第 1 表

方 法	稀 釈 喀 痰										
	原痰	2 倍	2×10^1	2×10^2	2×10^3	2×10^4	2×10^5	2×10^6	2×10^7	2×10^8	2×10^9
單純塗抹法	$\frac{\infty}{1}$	$\frac{138}{10}$	$\frac{9}{10}$	$\frac{4}{100}$	$\frac{1}{300}$	$\left(\frac{1}{3 \times 10^3}\right)$	$\left(\frac{1}{3 \times 10^4}\right)$	$\left(\frac{1}{3 \times 10^5}\right)$	$\left(\frac{1}{3 \times 10^6}\right)$	$\left(\frac{1}{3 \times 10^7}\right)$	$\left(\frac{1}{3 \times 10^8}\right)$
田村氏集菌法						$\frac{3}{100}$	$\frac{1}{250}$				
螢光法						$\frac{18}{100}$	$\frac{2}{200}$	$\frac{1}{200}$			
S ・ C ・ C ・ 法	対照		$\frac{16}{10}$								
	4 日							(-)	$\frac{12}{3}$	(-)	
	6 日							$\frac{25}{5}$	$\frac{17}{1}$	(-)	
	8 日							$\frac{\infty}{1}$	(-)	(-)	
	10 日							$\frac{\infty}{3}$	(-)	(-)	
O ・ K 法	コロニー数					稍多 42	稍多 13	$\frac{46}{7}$	$\frac{18}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{0}{0}$
	日数					21	26	26	30	30	

結果記載に関して

(1) 單純塗抹法、集菌法並びに螢光顕微鏡法に於て分数の分母は検査せる視野数、分子は検査視野中の全菌数の和であり、單純塗抹法に於ける括弧を附した分数は稀釈に応じて実際に発見した最後の菌数を基準とした理論的にそうあるべき菌数を示す。

(2) S.C.C. 法に於て分数の分母は菌聚落の数、分子は全菌数の和で対照の場合は増菌せるものでなく 10 ケ所に於て 16 個の菌を認めたものである。

(3) 岡・片倉培養法中「コロニー」数の分数は各々 2 本の培地に於ける聚落の数を示す。又日数は「コロニー」を初めて発見するに要した日数を示した。

〔A〕單純塗抹法と田村氏集菌法との比較

本実験に於ては林、坂田両氏の場合より例数少なかり

しも大体に於て集菌法の限度を察知するを得た。即ち單純塗抹法にて 300 視野数えて発見し得る程度から 10 万視野数えて発見し得る範囲に於て集菌法にて菌発見をなし得る。一方 1 個の菌発見能力より見れば集菌法では單純塗抹法の 1 倍乃至 323 倍平均 84 倍の菌を検出し得、即ち 16800 視野数えて單純塗抹法にて菌を発見し得る場合に於て集菌法にて 200 視野数えて 1 個の菌を発見し得ることになる。林、坂田両氏に於ける平均 100 倍より低率の結果を得た。

〔B〕岡・片倉培養法の限度について

岡・片倉培養法に於て「コロニー」を発見し得た最大稀釈の喀痰に於て單純塗抹法と培養成績とを比較すると、岡・片倉法により発見し得る限度は單純塗抹法にて 8000 視野乃至 1 億視野数えて菌を発見し得る程度迄である。

第 2 表

	2x10 ¹⁰	2x10 ⁹	2x10 ⁸	2x10 ⁷	2x10 ⁶	2x10 ⁵	2x10 ⁴	2x10 ³	2x10 ²
單純塗抹法	1/2 2/2 3/2 4/2 5/2 6/2 7/2 8/2 9/2 10/2 11/2 12/2 13/2 14/2 15/2	2/150 3/150 4/150 5/150 6/150 7/150 8/150 9/150 10/150 11/150 12/150 13/150 14/150 15/150	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300
田村氏集菌法	1/2 2/2 3/2 4/2 5/2 6/2 7/2 8/2 9/2 10/2 11/2 12/2 13/2 14/2 15/2	2/150 3/150 4/150 5/150 6/150 7/150 8/150 9/150 10/150 11/150 12/150 13/150 14/150 15/150	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300
螢光顕微鏡法	1/2 2/2 3/2 4/2 5/2 6/2 7/2 8/2 9/2 10/2 11/2 12/2 13/2 14/2 15/2	2/150 3/150 4/150 5/150 6/150 7/150 8/150 9/150 10/150 11/150 12/150 13/150 14/150 15/150	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300
S.C.C. 法	1/2 2/2 3/2 4/2 5/2 6/2 7/2 8/2 9/2 10/2 11/2 12/2 13/2 14/2 15/2	2/150 3/150 4/150 5/150 6/150 7/150 8/150 9/150 10/150 11/150 12/150 13/150 14/150 15/150	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300
岡・片倉法	1/2 2/2 3/2 4/2 5/2 6/2 7/2 8/2 9/2 10/2 11/2 12/2 13/2 14/2 15/2	2/150 3/150 4/150 5/150 6/150 7/150 8/150 9/150 10/150 11/150 12/150 13/150 14/150 15/150	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300	1/300 2/300 3/300 4/300 5/300 6/300 7/300 8/300 9/300 10/300 11/300 12/300 13/300 14/300 15/300

林、坂田両氏に依る 1 万～1000 万視野に比すれば可なり
の幅がある様を認めた。岡・片倉培養法の培養日数に関
しては「コロニー」発生の多数なるもの程培養日数は少
なくして「コロニー」発生の僅少なにつれて漸次培養日
数の増加しあるを認む。而して最少培養日数は 14 日間、
最大培養日数は 36 日間を要した。

〔C〕 S.C.C. 法の限度について

單純塗抹法に於て 3000 視野数えて発見し得る程度より
300 万視野数えて発見し得る程度迄 S.C.C. 法に於て
増菌せる「コロニー」を発見し得た。最大の菌発見能力に
達した培養日数は 4 日目 7 例、6 日目 4 例、8 日目 7 例、
10 日目 8 例にして 10 日目に於て最も多数を示してい
る。

〔D〕 螢光顕微鏡法⁽⁸⁾の限度について

螢光顕微鏡法は本実験中例数が少なく 8 例に依る結果
から見れば單純塗抹法に於て 1 万視野数えて発見し得る
程度より 100 万視野数えて発見し得る程度迄であつた。

考 察

1) Slide cell culture 法に関して

Wright⁽⁹⁾ によつて創始せられて以来幾多各
種の実験に応用せられている処であるが、血液
の菌に対する影響或は又薬剤の菌発育阻止作用
を検する目的が大部分を占めていた。緒方、渡
川両氏⁽¹⁰⁾ は健康成人 330 名の全血液に就き人
型結核菌を培養研究し、人型結核菌が健康人血
液中に良く増殖をなし得ることを立証した。而
して健康人血液中には結核菌増殖するが其の増
殖は大多数に於て甚だしく可良だとは云い難い
と、即ち健康成人血液は結核菌の増殖に対し或
程度の阻止作用を有するものである。此の阻止
作用は個性的差異即ち「ツ」反応に関係ありとし
ている。又渡川氏⁽¹¹⁾ は 10 名の健康成人に就き
S.C.C. を施行し培養後 24 時間に於て菌増殖
の徴を認めず、48 時間に於て稍々菌増殖状態を
対照に比して認め得、5 日後に於ては夫々 10～
30 個の菌体相集れる聚落を認め 7 日後に至りて
菌増殖著明にして最高を示すを報告している。

阪本氏⁽¹²⁾ は肺結核患者喀痰中には結核菌
の発育増殖を阻止する一種の物質存在するを
認め、該物質は肺結核喀痰に特異にして他の非
結核性呼吸器疾患喀痰中には存在せざるもの
の如く、且つ菌種特異性を有し結核菌以外の抗酸
性結核類似菌には作用せず恐らく免疫物質の一
種ならんと述べている。日置氏⁽¹³⁾ も結核喀痰
濾液を添加せる人血 S.C.C. 法に於ける人型
結核菌培養成績より喀痰中に存する結核菌増殖
阻止物質に就き実験的検索を試み、結核喀痰中
には結核菌増殖阻止物質存在し唾液及び非結核

性喀痰中には存在せずと述べている。

然るに私は幾度となく「ツ」反応陽性健康人血液を以
て処理喀痰を直接 S.C.C. したのであるが著明な発育
を認めた。要之健康人血液は結核菌の培養に極めて良好
なる「メヂウム」であり、且つ喀痰中の結核菌増殖阻止物
質も前記処理喀痰を用いる S.C.C. に於ては何ら増菌
せしむる事に関して支障を及ぼさなかつた。之が為喀痰
中結核菌の僅少な場合 S.C.C. 法を以て菌を増殖せ
しめ菌発見率を高めるに本法は最も至当なる方法と確信
する。

2) 單純塗抹法並びに田村氏集菌法は孰れも本法に比
し菌発見能力乃至その限度は劣るものであるが、操作の
容易なる点に於て喀痰中結核菌検出に先ず検すべきで、
両者陰性なる場合に S.C.C. 法を施行すべきであると
考える。

螢光顕微鏡法を田村氏集菌法に併用した場合は田村氏
集菌法よりは遙かに優秀な検出法である事を認めた。

3) 本 S.C.C. 法を応用する結核菌検出法は「ツ」反

応既陽性健康成人血液を培地とする為、岡・片倉培養法の如く培養基の調製に日時を費される事も無く、且つ培養日数が少なくで判定出来る点、結核菌の早期発見上有意義と思考される。S.C.C. 法は岡・片倉培養法に比すれば菌発見能力が低い、本法は検体が極く少ないこと、顕微鏡使用による点よりして止むを得ざるものと思ふ。

4) 本法は培養日数が進むに従い増菌の程度も大となり8日間、10日間の培養にて油浸装置を使用せずして結核菌の聚落が発見せられる便がある。私は螢光顕微鏡法をS.C.C. 法に併用することにより、倍率200倍にて増殖せる菌聚落が光芒を放ちて存する状態を極めて容易に発見し得たので、S.C.C. 法に更に螢光顕微鏡法を併用する方法は最も適当したものと信ずる。

結 論

- 1) S.C.C. 法の菌発見能力は岡・片倉培養法に劣るが、田村氏集菌法に等しいか又はそれ以上である。
- 2) 培養日数が岡・片倉培養法より少なくすむ点、結核菌の早期発見上極めて有意義である。
- 3) 8日間、10日間培養すれば油浸装置を使用せず

して増殖せる菌塊を認める為、鏡檢上容易である。

拙筆に臨み恩師林教授の御懇篤なる御指導と御校閲を謹謝し、多大の御援助を戴いた矢崎教授並びに国立栃木療養所北村所長、小原医務課長に感謝の意を表す。

文 献

- 1) Uhlenhuth : Berliner Kl. Wsch. 1908, 1346.
- 2) Petroff : J. of. exp. med. 21. 1915.
- 3) 田村和夫 : 結核, 第17巻, 第11号, 913.
- 4) 野村勇吉 : 第20回日本結核病学会総会(第10番演説)
- 5) 高橋・内山 : 第18回日本結核病学会総会(第9番演説)
- 6) 林直敬 : 日本臨床結核, 第7巻, 第12号, 527.
- 7) 林茂・坂田壽茂 : 結核, 第21巻, 185.
- 8) 矢崎芳夫 : 成医会雑誌 第64巻, 第1号, 14.
- 9) Wright : Lancet Vol.1, 1924.
- 10) 緒方, 淡川 : 結核, 第10巻, 第5号.
- 11) 淡川 : 結核, 第11巻, 第2号.
- 12) 阪本 : 結核, 第11巻, 第1号.
- 13) 日置 : 結核, 第14巻, 第8号.

結核菌の發育に関する研究

第1報 活性炭末添加無蛋白深部培養

九大医学部細菌学教室(主任 戸田忠雄教授) 三 淵 一 二

(本論文の要旨は昭和24年第一回結核病学会九州地方学会に於て報告した。)

I ま え が き

結核菌は液体培地に於て一般に液表面に菌膜を形成して發育し、液面下に於ては非常に發育しにくい或は全く發育を停止することは衆知の事実である。

然るに Kirchner⁽¹⁾ は液体培地に血清を添加して結核菌の深部培養に成功し、その後萩原⁽²⁾、増田⁽³⁾ は血漿又は血清を主成分とする培地を考案改良し良好な培養成績を報告している。又新しくは Dubos⁽⁴⁾ により Tween 80 と牛アルブミンとを以て結核菌の迅速均等深部培養が報告せられ、結核菌深部培養に関して世の注意を引くに至つた。

一方 Youmans^(5,6) は血清や蛋白質成分を使用せずに培地の液深を浅くする事により結核菌が液表下に發育すると報告し、サルファミン剤や抗菌性物質の試験管内実験にこの培養法を応用している。尙又 Corper 等⁽⁷⁾ は Wong 培地に於て液深を1cm以下にすると結核菌が液深部に良く發育するが、3cm以上の深さになると最早深部發育は不能で液表面に於てのみ發育すると述べ、更に

Wong 培地にセルローズゴムを添加し菌の懸濁培養を行つた所、結核菌の深部液表下發育出来るのは液面より2cmの深さ迄であつたと報告している。

現在迄の結核菌深部培養法は上述の如く培地に血清又は蛋白質成分を添加するか又は培地の液層を浅くして酸素の浸透をはかり結核菌の深部發育を可能ならしめる二つの方法が行われている様に考えられる。

然して前方法に用いられる血清は空中酸素の浸透し得ない深部に於て良く結核菌を發育させるのであつて、その作用が如何なる機序に基いているのであるかは尙解明されていない。

さて他方活性炭末と結核菌培養に関しては、柳沢は活性炭末に菌の發育促進性ありと述べ、益子等⁽⁸⁾、多田隈等⁽⁹⁾ はグリセリン寒天に炭末を加えると結核菌が良く發育出来ると報告している。更に新津⁽¹⁰⁾ は炭末添加寒天培地の凝固水中に結核菌の發育する事実を認め、氏の活性炭末添加ロッケマン培地に結核菌が良く深部發育出来ると報じている。