

臓器内菌培養によるBCGワクチン力価検定に関する研究

大阪大学医学部第三内科教室

(指導 堂野前・維摩郷教授)

岡 田 静 雄

(受付 昭和30年7月20日)

第1章 緒 言

結核免疫に際して生菌による方が死菌による場合よりも優れた効果を期待できることは多くの学者によつて認められ、今村教授¹⁰⁾はその理由として「結核免疫は結核菌と生体との交渉により成立し、弱毒菌たりとも体内において容易に死滅せず、体内において細胞との交渉は非較的長く保たれ、結核免疫を持続するに便なるべし」と述べられている。近時BCG乾燥ワクチンが用いられるに至つて、その免疫効果が在来の液体ワクチンに比し著く劣ると考える者があるので著者はこの点に関し、BCGの接種動物体内における生存期間によつて両ワクチンを比較検討した。またBCGによつて保持せられる免疫力の証明は試験感染菌による内臓臓器病変を検討すると共に臓器培養により、免疫動物と非免疫動物体内の試験感染菌増殖の差を比較検討し、これによつてワクチンの免疫力価を判断する実験を行つたので以下その成績を報告する。

第2章 実験方法

第1節 BCGワクチン作製方法

第1項 液体ワクチン

ソートン培地2代目11日培養のBCGを手振コルベ^ンにより所要の菌濃度浮游液を作製した。

第2項 乾燥ワクチン

液体ワクチン」を1%サツカローゼ液にて10mg/c.c.の菌液を作り、その0.5c.c.宛を「アンブレ」に分注して乾燥し用に臨んで必要量の生理的食塩水に溶解した。なお経皮接種用ワクチンは100mg/c.c.の菌液を乾燥した。乾燥ワクチン」はすべて結核予防会近畿BCGワクチン製造所において作製されたが、その作製時の条件は次の通りである。

I 装置 収容箱式

II 予備冷凍 -20°C

III 加温 20°C~28°C

IV 「コールドトラップ」温度 -32°C~-38°C

V 乾燥時間 5時間

VI 真空度 $\frac{3}{100} \sim \frac{8}{100} mmHg$

第2節 動物接種方法

第1項 BCG接種

予めレーメル反応陰性を確めた各群 20~25 匹の天竺鼠の左大腿部皮下に所要量のBCGを0.5c.c.の菌浮游液として接種した。また経皮接種では大腿部または背部に高濃度の菌液を一滴滴下し $\frac{1}{4}$ 注射針で100回乱刺接種した。

第2項 試験感染

人形結核菌高垣株 $\frac{1}{500}mg$ またはS.M.耐性人型結核菌吹田株 $\frac{1}{1000}mg$ を天竺鼠の右大腿部皮下に接種した。

第3節 臓器培養方法

イ) 苛性曹達法

各臓器の一部を採り滅菌乳鉢にて磨砕後10倍量の1%苛性曹達を加えて15分間放置し、その0.1c.c.を1%小川培地に培養し、4~6週後菌集落数を判定した。特に注記しない限り臓器培養はこの方法によつた。

ロ) 硫酸法

乳鉢にて磨砕後約10c.c.の5%硫酸を加えて30分間放置した後遠沈し、その沈渣をほぼ2白金耳宛可及的平等に1%小川培地に塗株した。なお臓器培養に際しては常に一群3匹を使用し1臓器3~5本の小川培地を使用した。

第4節 剖検所見判定

リンパ腺

- 無所見

+ 米粒大の腫脹硬結

卍 小豆大 "

卍 大豆大 "

内 臓

- 無所見

± 結節を認めないが表面顆粒状のもの

+ 極く少数の結節形成

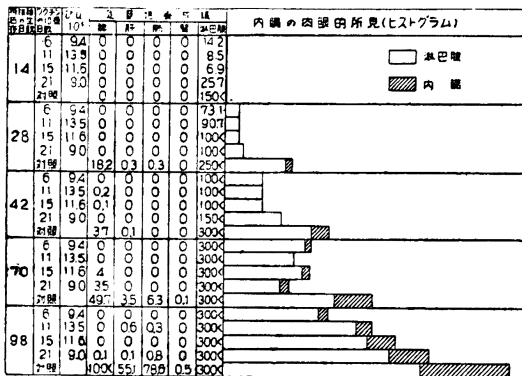
卍 やや多数

卍 多数

第1表 培養日数の異なるBCGワクチンの動物体内生存期間(定量培養成績)

液体ワクチン							乾燥ワクチン								
生存日数	ワクチンの培養日数	接種生菌量105	脾	肝	肺	淋巴结	骨髄	生存日数	ワクチンの培養日数	接種生菌量105	脾	肝	肺	淋巴结	骨髄
14	6	394	11.4	12.1	1.1	100	12.6	14	6	94	0	0	0	51.3	0
	11	172	5.7	0.1	0	100	6.7		11	135	0.1	0	0	40.6	0.1
	15	156	0.7	0.1	0	100	5.7		15	116	0	0	0	82.5	0
	21	162	0.3	0	0.4	49.2	1.7		21	90	0.1	1	0	47.5	0.4
28	6	394	0.2	0	0	3.7	0	28	6	94	0	0	0	1	0
	11	172	1.2	0	0.1	15.1	0.7		11	135	0	0	0	1	0
	15	156	0.2	0	0	2.2	0.2		15	116	0	0	0	0.1	0.1
	21	162	0	0	0	0	0		21	90	0	0	0	3	0.1
42	6	394	0.9	0	0	3.1	0.2	42	6	94	0	0	0	0.1	0
	11	172	2.4	0	0	2.8	3.1		11	135	0	0	0	0.1	0
	15	156	0.3	0	0	0	0.2		15	116	0	0	0	0	0
	21	162	0.2	0	0	0	0.2		21	90	0	0	0	0.1	0
70	6	394	0	0	0	0.1	0	70	6	94	0	0	0	0	0.1
	11	172	0.2	0	0	0	0		11	135	0	0	0	0	0.1
	15	156	0	0	0	0	0		15	116	0.1	0	0	0	0.1
	21	162	2	0	0	0.2	0		21	90	0	0	0	0.1	0
98	6	394	0	0	0	0	0.6	98	6	94	0	0	0	0	0
	11	172	0.1	0	0	0.1	0.1		11	135	0	0	0	0	0
	15	156	0.2	0	0	0	0		15	116	0	0	0	0	0
	21	162	1	0	0	0.7	0		21	90	0	0	0	0.1	0

第2表 培養日数の異なる乾燥BCGワクチン免疫実験



なお剖検所見成績は以上の記号を利用して「ヒストグラム」により示した。

第3章 実験成績

第1節 培養日数を異にする「ワクチン」の比較

BCGの培養日数によらず凍結乾燥の影響については柳沢、大林等によつて報告されているが、凍結乾燥後各培養日数のBCGが同質のものであるか否かは詳かでない。著者は培養日数の異なるBCGの天竺鼠体内生存期間と免疫力について実験を行い次の如き成績を得た。

第1項 BCGの接種天竺鼠臓器内生存

第3表 液ワ「乾ワ」比較実験 I (定量培養成績)

生存日数	接種菌の種類	v.u. 106	脾	肝	肺	淋巴结	骨髄
25	液1mg	51	35	0.3	0.5	5.1	
	乾 "	7	0.3	0	0	0	
	" 10mg	70	6.4	0	0	20.5	
35	液1mg	51	8.9	0.7	0.1	0.1	
	乾 "	7	0	0	0	3.7	
	" 10mg	70	2	0	0	1.7	
45	液1mg	51	0.1	0.1	0	0	
	乾 "	7	0.7	0	0	1.7	
	" 10mg	70	1	0	0	0.4	
55	液1mg	51	1.9	0	0	0	
	乾 "	7	0	0	0	0	
	" 10mg	70	0.7	0	0	0	

1) 液体ワクチン

6, 11, 15, 21日培養BCGワクチン1mgを天竺鼠に接種し, 2, 4, 6, 10, 14週後屠殺肉眼的病変確め臓器培養を行った, 第1表にその成績を示したがこれは各臓器3本宛の培養基に生えた菌集落数の平均を示した。4群の間に大差は認められないが, 6, 11日培養のものが15,

第4表 液ワ「乾ワ」比較実験 II 21日培養のBCGより、や

生存日数	接種菌の種類	v.u. 106	脾	肝	肺	淋巴结	骨髄
1	液1mg	50	12	0	0	50.8	100
	乾 "	10	0.3	0.2	0	0.4	7.1
	" 4mg	40	6.8	0	0	1.8	25.7
3	液1mg	50	3.2	2.4	1.3	31.9	100
	乾 "	10	1.1	0.6	0.5	59.0	100
	" 4mg	40	2.6	0.7	2.0	59.6	100
7	液1mg	50	6.4	0	0	31.0	100
	乾 "	10	0.8	0.2	0	13.6	0.1
	" 4mg	40	0.8	0.07	0	77.8	22.1
14	液1mg	50	17.4	0.6	0	78.3	1
	乾 "	10	0.04	0	0	27.4	0
	" 4mg	40	4	0	0.07	1.7	1
28	液1mg	50	1.7	0	0	0.6	4
	乾 "	10	0.6	0	0	8.6	0.2
	" 4mg	40	1.6	0	0	0.3	0
42	液1mg	50	0	0	0	0.2	0
	乾 "	10	0	0	0	0	0
	" 4mg	40	0.4	0	0	2.2	0
56	液1mg	50	1.1	0	0	2	0
	乾 "	10	0.07	0	0	0	0
	" 4mg	40	0.2	0	0	0	0.2
70	液1mg	50	0	3	0	0	0
	乾 "	10	0	0	0	0	0
	" 4mg	40	0.07	9.7	0	0	0

如く考慮して天竺鼠に接種した。接種後2, 4, 6, 10, 14週に剖検臓器培養を行った。その成績は第1表に示した通りで4群の間に全く差違が認められなかつた

第5表 液ワク「乾ワク」による免疫比較実験

実験群	定量培養成績				内臓の肉眼的所見(ヒストグラム)
	脾	肝	肺	淋巴腺	
BCG	0	0	0	8	
液ワク(0.1mg)	0	0	0	36	
v.u. 4.3x10 ⁵	0	0	0	0	
BCG	0	0	0	41	
乾ワク(0.1mg)	0	0	0	56	
v.u. 1.3x10 ⁵	0	0	0	23	
BCG	0	0	0	0	
乾ワク(5mg)	0	0	0	0	
v.u. 65x10 ⁵	0	0	0	1	
対照(非免疫)	100x	0	0	200x	
	100x	1	0	200x	
	1	0	0	200x	

第6表 皮下, 皮内, 経皮接種時のBCG体内生存期間(定量培養成績)

液体ワクチン							
生存日数	接種方法及び接種量	v.u.	脾	肝	肺	淋巴腺	骨髓
14	皮下1mg	350x10 ⁵	1.9	3	6.6	61	0
	〃 0.1mg	35	0.6	0.2	0	85	0.1
	皮内	35	0	1.5	0	149	0
	経皮100mg/c.c.	35x10 ⁵ /c.c.	1.2	0	0.5	129	1
28	皮下1mg	350x10 ⁵	0.1	0	0	7.6	0.1
	〃 0.1mg	35	0	0	0	3	0
	皮内	35	0	0	0	71	0
	経皮100mg/c.c.	35x10 ⁵ /c.c.	0.3	0	0	15	0
42	皮下1mg	350x10 ⁵	1.0	0	0	1.1	0
	〃 0.1mg	35	1.0	0	0.1	1.1	0.1
	皮内	35	0	0	0	0.8	0
	経皮100mg/c.c.	35x10 ⁵ /c.c.	0	0	0	4.4	0
70	皮下1mg	350x10 ⁵	0.3	0	0	0.4	0.1
	〃 0.1mg	35	0	0	0	0.1	0
	皮内	35	0	0	0	0	0
	経皮100mg/c.c.	35x10 ⁵ /c.c.	0	0	0	0.3	0
98	皮下1mg	350x10 ⁵	0	0.2	0	0	0
	〃 0.1mg	35	0	0	0	0	0
	皮内	35	0	0	0	0	0
	経皮100mg/c.c.	35x10 ⁵ /c.c.	0	0	0	0	0
	〃 50mg/c.c.	17.5	0	0	0	0	0

乾燥ワクチン

生存日数	接種方法	v.u.	脾	肝	肺	淋巴腺	骨髓
14	皮下	13.6x10 ⁵	0.1	0	0	113	0
	皮内	〃	0	0	0	40.6	0.1
	経皮	13.6x10 ⁵ /c.c.	0.1	0	0	63.3	0.3
28	皮下	13.6x10 ⁵	0	0	0	1	0
	皮内	〃	0	0	0	2.3	0.2
	経皮	13.6x10 ⁵ /c.c.	0	0	0	0	0.2
42	皮下	12.6x10 ⁵	0	0	0	0.1	0
	皮内	〃	0	0	0	0	0
	経皮	13.6x10 ⁵ /c.c.	0	0	0	0.1	0
70	皮下	13.6x10 ⁵	0	0	0	0	0.2
	皮内	〃	0	0	0	0.4	0.1
	経皮	13.6x10 ⁵ /c.c.	0	0	0	0.6	0
98	皮下	13.6x10 ⁵	0	0	0	0	0
	皮内	〃	0	0	0	0	0
	経皮	13.6x10 ⁵ /c.c.	0.2	0	0	0	0

第2項 試験感染結核菌の接種天竺鼠臓器内生存より見た力価

前項と同様の乾燥ワクチン」 $\frac{1}{10}$ 量を天竺鼠に接種し, 6週後吹田株 $\frac{1}{100}$ mg (v.u 30.8x10⁵)を接種し

第7表 皮下, 皮内, 経皮接種による免疫実験

接種日数	接種方法	定量培養成績				内臓の肉眼的所見(ヒストグラム)
		脾	肝	肺	淋巴腺	
14	皮下	0	0	0	8.8	
	皮内	0	0	0	59.4	
	経皮	0	0	0	7.0	
	対照	0	0	0	50.7	
28	皮下	0	0	0	107	
	皮内	0	0	0	107	
	経皮	1.8	0	0	98.7	
	対照	18.2	0.3	0.3	250.2	
42	皮下	0.3	0	0	6.6	
	皮内	0	0	0	100.8	
	経皮	0	0	0	100.8	
	対照	37	0.1	0	330.4	
70	皮下	0	0	0	330.4	
	皮内	0.4	0	0.2	300.4	
	経皮	2.3	0.1	2.7	300.4	
	対照	29.7	3.5	6.3	0.1	
98	皮下	0	0	0	300.4	
	皮内	0.3	0.1	0	300.4	
	経皮	2.7	0.7	1.2	0.1	
	対照	100.4	5.1	7.6	0.5	

た。再感染後2, 4, 6, 10, 14週に屠殺, 剖検, 臓器培養を行った。その成績は第2表の如くで, 再感染菌による肉眼的病変は非免疫群とBCG免疫群との間において差異を認めるが, ヒストグラムに示した如く著明ではなく, これに対し淋巴腺よりの培養菌集落数および内臓よりの結核菌証明は両群の間に著明な差異を認め得た。ただしワクチンの培養日数を異にする4群の間には差がなかった。

第2節 液体ワクチンと乾燥ワクチンの比較

第1項 BCG接種天竺鼠臓器内生存

液体ワクチン」およびそれより作製した乾燥ワクチン」を各天竺鼠に接種した。

1) 第1実験

BCG接種後25, 35, 45, 55日に屠殺剖検および硫酸法により臓器培養を行った。その成績は第3表に示した。接種後25~35日では液体, 乾燥ワクチン」に限らずその v.u. の多少にしたがって差異が認められるが, それ以後は接種時のv.u. 如何にかかわらず差がなかった。

2) 第2実験

第1実験に引続き接種後短期間におけるBCGの天竺鼠体内生存を検討する目的で第2実験を行った。すなわちBCG接種後1, 3, 7, 14, 28, 42, 70日後に屠殺剖検臓器培養(硫酸法)を行った。その成績は第4表に示した。液ワク」乾ワク」にかかわらず v.u. がほぼ等しければ, ほぼ同様の経過をたどり, 少なればやはり体内生存は少数である。

以上の実験より液ワク」乾ワク」の天竺鼠体内生存に関しては本質的な差異は認められないと考えられる。

第2項 試験感染結核菌の接種天竺鼠臓器内生存より見た力価

前項第一実験と同様のワクチンを使用した。試験感染はBCG接種6週後高垣株 $\frac{1}{500}$ mg (v.u. 108.6x10⁵)を接種し, さらに6週後屠殺剖検臓器培養(硫酸法)を行った。その成績は第5表の如くで肉眼的

病変では免疫3群の間に大差を見得なかつたにもかかわらず、臓器培養成績ではv.u.の多い免疫群は少い免疫群より遙かに少くその差は著明である。すなわち液ワク「乾ワク」の間にその免疫効果についての差異はなく、唯免疫に用いたBCGのv.u.の多いものは少いものより免疫効果の大なることを認めかつ力価の差は内眼的病変よりも臓器培養による方が遙かに明瞭であることを認めた。

第3節 皮下、皮内、経皮接種についての比較

BCG接種による局所の潰瘍形成を軽減する為Rosenthal⁽¹³⁾⁻⁽¹⁷⁾等多数の学者によつて経皮接種が提唱されたが、これらによつても皮内接種と変らないBCGの体内生存を認め得るか否かを検討するために次の実験を行った。

第1項 BCGの接種天竺鼠臓器内生存

1) 液体ワクチン

経皮接種は50mg/c.c., 100mg/c.c.の菌液を使用し、天竺鼠の左大腿部に接種した。BCG接種、2, 4, 6, 10, 14週後屠殺剖検臓器培養を行ったが、その成績は第6表の如くである。接種局所の病変は経皮接種が最も少く、次いで皮下、皮内接種の順であつた。レーメル反応陽転時期に関しては各群の間に差は認められなかつた。臓器培養成績でも4群の間に大差は認められない。

2) 乾燥ワクチン

経皮接種は100mg/c.c.の菌液を使用して、背面の毛を脱毛して乱刺し、皮内接種は左下腹部皮内に0.1mgを、また皮下にも同様0.1mgを接種した。BCG接種後2, 4, 6, 10, 14週に剖検臓器培養を行った。その成績は第6表に示した。各接種法の間にその経過において特に差を認め難い。

以上の実験により本実験の如き高濃度のBCGワクチンを用いて経皮接種を行う場合は、皮下、皮内接種に比し、天竺鼠の体内生存は差を認めないことを知り得た。

第2項 試験感染結核菌の接種天竺鼠臓器内生存より見た力価

皮下および皮内には0.1mgを接種し、また100mg/c.c.の菌液を用いて経皮接種した。何れも前節と同様の乾燥ワクチン」を使用した。BCG接種後6週に吹田株 $\frac{1}{1000}$ mg(v.u. 30.8×10^2)を接種しさらに2, 4, 6, 10, 14週後屠殺、剖検、臓器培養を行った。その成績は第7表に示した如くで、免疫3群の間には認むべき差は見られない。唯経皮接種群で10, 14週後において皮下、皮内接種群より肉眼的病変及び臓器内菌数が多少、多いように見えるが特に問題にする程度ではない。非免疫群に比し免疫群は肉眼的病変よりも臓器内菌数において遙かに明瞭な差を見得ることは第一節および第2節における免疫実験と全く同様である。

第4章 考案ならびに総括

以上の実験より

1) 培養日数の異なるBCGワクチン」の体内生存数は液体ワクチン」では6, 11日培養の方が、15, 21日培養菌より長期かつ多数でv.u.を考慮に入れるとしても短い培養日数菌の方が長いものより生活力が旺盛であると考えられる。これはこれらのワクチンより製造した乾燥ワクチン」の残存率が若い菌の方が高いということと一致する。柳沢等⁽¹¹⁾⁽¹⁸⁾もこの点に関し乾燥ワクチンは常に若い菌を使用すべきことを強調している。しかるに一致乾燥課程を経たワクチンでは、「v.u.」を等しくすれば体内生存数の間にはほとんど差が認められない。このことはBCG接種後、毒力結核菌を再接種し、再感染防禦能を検討した結果毒力菌の増殖が阻止されることはほぼ各培養日数のワクチン共等しいことと全く一致する。柳沢、橋本等は乾燥ワクチンの人体接種時のツ反応陽転率は「v.u.」の如何に影響されることを述べているが、著者の動物実験はこの点全く同一の結論を示している。

2) 乾燥BCGワクチン」が液体ワクチン」に代つて使用されて以来、その保存可能の点については優秀ではあるが、力価の点に関し、乾燥による物理的条件により残存率が10~40%に過ぎぬこと等から多大の疑問を持たれ、柳沢等により検討されたが著者は両ワクチンの動物体内生存期間の如何により比較検討を行った。上記の成績から見ると11日培養の如き若い菌ではv.u.が等しければ液体ワクチン」と乾燥ワクチン」の間に体内生存期間において差を認めない。また免疫実験においても、v.u.の多いもの程、液体ワクチン」乾燥ワクチン」の如何にかかわらず、再感染防禦能もまた高いことが知られた。

3) BCGの接種局所の病変軽減の為、すでに乱刺、乱切接種がRosenthal⁽¹³⁾⁻⁽¹⁷⁾等により提唱されたが、要はその効果が皮内接種のそれに比し劣ることが最大の問題であつた。結核免疫の原則が体内における結核菌に左右されることから著者は経皮接種を試みた動物体内のBCGと皮下、皮内接種した際のそれとを比較検討したが、50mg/c.c.または100mg/c.c.の如き高濃度のワクチンを使用し、100回乱刺を行った場合はその体内生存期間が皮下皮内接種に比し何等遜色のないことを認めた。また同様な方法で各接種法による免疫実験を行ったが、この程度のワクチンならば、再感染防禦能にほとんど差を認めなかつた。河西⁽¹⁹⁾、朽木等⁽²⁰⁾も肉眼的病変を検討することによつて経皮接種の優秀性を述べている。経皮接種における問題は一定量の菌を確実に体内に接種し得ることの極めて困難なる点であるが、本実験の如く高濃度の菌液を使用し、乱刺方法の熟練することによつて解決し得ると考えられるので、今後BCG接種には是非経皮接種を皮

内接種に併用すべきであると考える。

4) 結核菌の生体内における消長については原沢等²¹⁾²²⁾の成績があるが、いずれも組織学的検査によるもので菌の生死は不明である。臓器培養を併用した実験ではLurie,²³⁾²⁴⁾ 細沼,²⁵⁾ 深田等²⁶⁾があり、免疫せる動物体内の菌の消長はRalv,²⁷⁾ 中谷等²⁸⁾がある。近時小川により簡便正確なる臓器培養法が考案され、本実験もほとんど小川の方法によつた。臓器培養の結果より知り得ることは免疫動物においてすでに2週後に非免疫動物との間に著明な差が見られかつ日をおうにつれて肉眼的病変にも差が現われるが、臓器培養の結果はさらに明瞭であり、かつ正確性がある。著者の実験においても肉眼的病変の判定が臓器培養のそれに比し如何に正確性を欠くかを如実に示している。

以上のことより今後免疫実験においては肉眼的病変の検討は元より必要ではあるが、常に必ず臓器培養を併用すべきであると考える。

第5章 摘 要

著者はBCGの接種動物体内生存および再感染菌の体内生存状態を臓器培養にて追及することによつて次の事実を認め得た。

1) 培養日数の異なるBCGワクチンの天竺鼠体内生存期間を検討し、液体ワクチン」では若い菌は古い菌より比較的生存期間が長いが乾燥ワクチンでは v.u. が等しければほとんど差を認めない。また v.u. が等しければその再感染防禦力価もまた等しい。

2) 液体ワクチン」と乾燥ワクチン」の天竺鼠体内生存について検討したが若い液体ワクチン」であれば乾燥ワクチン」との間に差は認めない。また免疫力価においても両ワクチンの間に差を認めない。

3) 経皮、皮内、皮下接種したBCGワクチン」の天竺鼠体内生存について検討したが三者の間に大差がない。また免疫力価においても同様であるとの成績を得た。

御指導、御校閲を賜つた堂野前教授河盛助教授に深謝します。

文 献

- 1) Calmette, A, Boquest et L. Néger: Ann. Inst. Past, 35, 361,
- 2) Calmette, A. et C, G'uerin: Ann. Inst. Past. 38, 5 1924.
- 3) Calmette, et Boquest: Ann. Inst. Past. 40, 90, 1926
- 4) P. Römer: Beit, Klin, Tb. 13, 1. 1909
- 5) B, Lange: Z.f.Tq. 61, 4, 1931
- 6) 佐多愛彦: 結核 大13, 3, 529
- 7) 清野 博: " 大15, 4, 546
- 8) Willis.: Ame, Rev. Tb. 11, 435, 1925
- 9) 細沼榮一: 結核 昭23, 23, 36,
- 10) 今村荒男: 第22回結核病学会総会
- 11) 柳沢謙: 第28回日本結核病学会総会
- 12) 大林: 昭27.28.BCG接種研究協議会
- 13) Rosenthal,; Ann. Re. Tb, 35, 678, 1937,
- 14) 戸田, 島本: 第13回微生物学会記録 167,1939
- 15) Birkhang: Acta. med. Scand. 117, 274, 1944
- 16) 朽木五郎作: 結核, 33, 18, 1948.
- 17) 柳沢謙: 医学の進歩, 3, 320, 1946,
- 18) 橋本達一郎: 医学と生物学, 1951, 8,
- 19) 河西: 抗酸菌病研究所雑誌, 5, 109, 1949,
- 20) 朽木: 日本BCG接種研究協議会, 1951, 10,
- 21) 原沢仁齋: 細菌学雑誌, 418, 昭6,
- 22) Lange: Z. f. Tb. 50. 1928.
- 23) Kurie: I. Exp, med. 60, 163, 1934,
- 24) Lurie: J. Exp. med. 57, 1933, 50, 1927,
- 25) 細沼榮一: 結核, 22, 7.8合併号, 昭22.
- 26) 深田茂男: 23, 24回結核病学会
- 27) Rolv, Höger, : Z. f. Tb.76, 81, 1936,
- 28) 中谷繁一: 結核, 13, 8, 昭10
- 29) 小川, 佐波, 鈴木: 結核, 昭25, 25, 5 33.