

切除肺病巢中の結核菌,特に dormant な 菌の検討と培養法選択の意義

伊 藤 義 昭

京都大学結核研究所細菌血清学部一主任 植田 三郎教授
国立宇多野療養所一所長 日下部周利博士

受 付 昭 和 31 年 2 月 29 日

緒 言

近時切除肺病巢中の結核菌に関する報告は Medlar et al,¹⁾ Beck & Yegian²⁾, Yegian³⁾, Granville et al,⁴⁾ Falk et al,⁵⁾ Hobby et al,⁶⁾ Bernstein & Steenken⁷⁾, Steenken⁸⁾, 芳賀⁹⁾, 伊藤(忠)¹⁰⁾, 岡・菅原¹¹⁾, その他極めて多い。これらの報告において特に注目されているのは塗抹(抗酸性菌体)陽性でありながら,培養あるいは動物接種で陰性に終る場合がしばしばあるという事実である。著者¹²⁾もまたかつてこの問題を多少穿鑿したが,その際えた成績は,「このような場合の抗酸性の菌体はほとんどあるいは全部が死菌体であり,易染色形こそ発育形として注目すべきである。」という植田教授の考え方^{13,14)}によつて容易に説明しうるものであつた。しかしながら他方菌が病巢内では今までの培養法で陽性にしえない特異な状態にあるのであろうとする考え方も有力である。ことに Hobby⁶⁾らは長期液体培養によつて初めて陽性にしえた例がある点より, dormant な(眠っている)菌体の存在を主張し,これによつて塗抹と培養の喰違つた成績が解明しうるかの如く報告している。これに対して Steenken^{7,8)}らの反対があるが,かれらの培養法の吟味は充分とはいえない。

以下この問題を種々の培養法を選択しつつ吟味した成績について述べたい。

材料および方法

切除肺48例中の病巢64部位の材料について検索した。(このうち9例10部位については一部の方法のみで検討した)

術前化学療法施行中のものは病巢中に薬剤の残存しないように約1週間より授与を中止した。材料は切除直後各病巢を互に独立に切開し,肉眼的病理所見を記載し,その病巢内容を無菌的に取出し,内容が十分に軟なものはそのまま,硬い場合は乳鉢あるいはホモチナイザーにて磨碎乳状として以下の検索に供した。

塗抹は Ziehl-Neelsen 法, Ziehl-Heidenhaim 法(植田)によつて染色し,菌数とともに菌の形態,分布,配列等にも注意して観察した。

培養には卵培養基としてはほとんどの場合に Löwenstein-Jensen 培地を,極く一部に小川氏1%酸性培地を用いた。いずれも斜面培地である。液体培養基としては始めの約半数例には Albumin 加 Kirchner 培養基(血清の代りに)を,以後の例には Tween なしの Dubos 変法培養基(Albumin 加 TB brothmedium without Tween : Difco¹⁵⁾)と Kirchner 培養基(血清加)を併用した。いずれも5cc宛中試験管に分注されたものである。

培養法としては普通法,稀釈直接法,凝結水中培養法,長期液体培養法を併用した。もちろんいずれも酸,アルカリ等の前処置は行っていない。

普通法とは材料をそのまま卵培養基2~3本に1~2白金耳宛接種したもの,稀釈直接法とは材料を albumin 加培養基で10倍,100倍に稀釈し,その0.1cc宛を各約10本の卵培養基に接種,1夜斜めにして乾燥をまつてゴムキャップをし,立てて培養する。凝結水中培養法とは稀釈直接法の半数の試験管において,albumin 加培養基で稀釈した材料0.1ccを凝結水中に接種し,直立のまま2週間培養後,これを斜めに倒し斜面全体を潤し,1夜乾燥後再び立てて培養を続ける方法である。

液体培養では,材料をそのままあるいは albumin 加培養基で洗滌,遠沈した後,それぞれ4~6本の培養基に大体材料が1%の割合になるように接種した。洗滌は約10倍量の培地で3,000回転,20分,2回繰返した。上清を集めて培養した。いずれも1.5ヵ月,4ヵ月,6ヵ月,9ヵ月後に振盪,攪拌後おのおのより0.5cc取り出し,5本の卵培養基に0.1cc宛移して2ヵ月後その集落発生の有無をみた。多数集落発生の場合は以後の検索を行わなかつた。また4ヵ月目に適当量の新しい培地を添加した。

成績の判定は卵培養基では接種後1ヵ月後に集落を算え,陰性の場合には2ヵ月後まで(凝結水中培養法の場合には斜面に接種後2ヵ月後まで)観察した。さらに一部においては小川¹⁶⁾らの方法を行つた。すなわち2ヵ月で陰性の卵培養基に0.5cc宛蒸溜水を加え,斜面を潤してさらに2週間観察を続けた。液体培養ではその表面,深部の発育を観察するとともに,最終的には上述の如く卵培

養基に再接種して確めた。また一部ではその沈渣をとり、染色により顕微鏡的集落の発育をも併せ観察した。

動物接種を併行実施した場合は、10倍に稀釈した材料を0.5cc宛2匹のモルモットの鼠蹊皮下に接種、ツ反応陽転せるものは3ヵ月後に屠殺し、陰性のは6ヵ月後再びツ反応を検して後屠殺し、剖検した。判定は内臓、リンパ腺の肉眼的所見とツ反応によつた。

成 績

(1) 各培養法による成績の比較

病巣54部位について普通法、稀釈直接法、液体培養法

による成績を比較したのが表1である。いずれも陽性

表 1 各培養法の比較

普通法	-	+	-	-	-	+
稀釈直接法*	-	+	+	+	-	-
液体培養法	-	+	-	+	+	-
計54部位	21	28	1 3 1 0		5	

*稀釈直接法中に凝結水中培養法の成績を含む

28、いずれも陰性21であり、5部位において普通法陰性で他の方法陽性の成績を示している。この喰違つた成績を示す場合の例を示すと表2の如くである。これらは陽

表 2 各培養法で喰違つた成績を示す例

No. および性状	No. 3-1 径2.0軟化巣	No. 10-2 撒布巣	No. 11-2 大豆大乾酪巣融解(-)
塗抹(ガフキー)	2号	2号	2号
培 養	普通法	0 0 0	0 0 0
	稀釈直接 10×	1, 1, 1, 1, 0 0 0 0 0 0	1, (1),** 0 0 0
	稀釈直接 100×	1, 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
	液体培養	a* 1.5 4 6 9.4 0 0 0 0 b 0 0 0 0 c 0 0 0 0 d 0	a 1.5 4 6 9M 0 0 0 0 b 0 0 0 0 c 0
動物接種	- ++	- ++	- -

*a, b,は液体培養の各試験管を示す ** (1)は小川らの方法で陽性1コロニーとなつたことを示す

性であつてもある培養法中の一部の試験管にのみ陽性であり、ことに稀釈直接法で集落の発生が極めて少なく、また動物接種においても2匹中1匹陽性という成績を示しているのが注目される。

(2) 普通法および稀釈直接法の成績

一般に発育集落数の多い場合には、ほとんどあるいは全部の試験管が陽性であり、発育集落数が少ない場合には表2に示した例の如く一部の試験管のみ陽性となる場合が多い。稀釈直接法は材料をalbumin加培養基で稀釈して病巣中の阻止物質の作用を除こうとしたが、普通

法と稀釈直接法の10倍液接種のものが大体同じ集落数を示し、100倍液接種では集落数が著減しており、予期した成績ではなかつた。

(3) 凝結水中培養法(植田、伊藤)

稀釈直接法の半数の試験管において凝結水中培養法

表 4 凝結水中培養法がよい成績を示した例

No. および性状	No. 27-2 撒布巣	No. 82 径1.5空洞	
塗抹(ガフキー)	-	-	
培 養	普通法	6, 11, 0	0, 2, 0
	稀釈直接 10×	7, 4, 2, 14, 4	凝結水中法 1, 0, 4, 0, 0
	稀釈直接 100×	0 0 0 0 0	凝結水中法 2, 1, (28), 4, 0
	液体培養	上需 a + D { b 0 0 0 18 c 2 0 0 0 d 0 Co	a 3M +
動物接種	+ ±		

(Co.は雑菌混入)

表 3 凝結水中培養法(その1)

材料を稀釈(10倍, 100倍)し、直接卵培地に0.1cc宛接種

対照 直ちに1夜斜めにして乾燥後培養 5本	2週間凝結水中に培養して後1夜斜めにし乾燥後再び培養 5本	計31部位
+	+	4
-	-	15
-	+	4
+	+	8

(このうち2部位は液体培養でも陽性)

(陽性本数が多くなつたもの2部位 集落数が多くなつたもの6部位)

(植田, 伊藤)を行つた31部位についての成績は表3の如くである。対照すなわち初から斜面に接種するよりも凝結水中で暫く培養した方が dormant あるいは弱つている菌が生育し易いのではないかとこの考えで試みた方法である。対照より良い成績を示す例が12部位にみられたが、表4に例示せる如く予期したような注目すべき成績はえられなかつた。またこれをさらに詳しく行つた9例の成績(方法は表5参照), 表5, 表6においても同様である。ただ方法の性質上考え易いことではあるが, 増殖せしめて後斜面に接種するため, 対照において集落数が少ない場合でもこの方法では一般に集落数が多い。

(4) 培養2ヵ月陰性の卵培養基に0.5cc 蒸溜水を入れ潤

表5 凝結水中培養法(その2)

材料を10倍, 50倍, 100倍, 500倍に稀釈し, その0.2cc 宛を卵培地に接種

- a) 直ちに1夜斜めにして乾燥後培養
- b) 斜めに潤したままずっと培養 各3本宛
- c) 3週間凝結水中に培養後1夜斜めにして乾燥後培養
- d) 5週間 "

全 部 陰 性	5
どの方法でも陽性	2
ある種の方法のみ陽性	2
	計 9 部 位

表6 凝結水中培養法(その2)の例

稀 釈	どの方法でも陽性の例 No. 89				ある種の方法のみ陽性の例 No. 83-2				No. 91			
	10×	50×	100×	500×	10×	50×	100×	500×	10×	50×	100×	500×
a *	32	0	8	1	0	0	0	0	0	15	0	0
	30	6	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	39	13	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
b	52	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	74	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	34	12	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
c	69	2	5	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	+	+	19	2	0	0	0	0	+	0	0	0
	+	9	3	1	0	0	0	0	+	0	0	0
d	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	+	+	1	0	0	0	0	0	0	0	0

* 表5参照

表7 2ヵ月後判定陰性の卵培地培養に蒸溜水0.5ccを加えて斜面を潤してさらに3週間培養(小川等)

これで初めて陽性になった例	1
陽性本数が多くなった例	4
変化なく陰性	26
	計 31 例
普通法および稀釈直接法の陰性培養に試み 542本中 6本 陽性化	

し, さらに3週間培養(小川ら)¹⁶⁾した場合
表7の如く31部位の普通法および稀釈直接法においてこれを試み, 31部位中5部位, 542本中6本にこの方法で陽性化した。しかしいづれも同じ材料が他の培養法でも陽性であり(表8), この方法のみで陽性となつた例はなかつた。

(5) 液体培養の肉眼的判定

普通法および稀釈直接法で集落数が多い例では液体培養を1.5ヵ月後に観察すると, 多くの場合に表面, 深部

表8 小川らの方法で陽性化した例(()で示す)

No. および性状	No. 11-1 気管支内容	No. 10-2 撒布巢
塗抹(ガフキー)	—	2 号
培	普通法	0 0 0 0 0 0
	稀釈直接 10×	(9) 0 0 0 0 0 1, (1), 0 0 0 0
	100×	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
養	液体培養	1.5M 4M 6M 9M
	a +	a 0 +
	b +	b 0 0 0 0 c 0 Co
動物接種		- +

に充分な発育がみられる。しかし普通法または稀釈直接法で集落数が少ないか陰性の場合には, 液体培養基では肉眼的に発育が不明瞭で判定が困難な場合が多く, このような場合には卵培養基に再接種してその集落発生の有無によらなければ判定できないことが注目された。また

図1の例に示した如く肉眼的に発育が不明瞭でも沈渣をみれば顕微鏡的集落の発育が観察される場合もある。

(6) 材料を albumin で洗滌、遠沈したか否かによる成績の比較

Hobby らはその方法の1つの特徴として albumin 液で材料を洗滌、遠沈することによつて、病巣中の菌に対する毒性物質を中和して陽性率が高まったとしている。液体培養の場合この操作をした例としなかつた例の比較は表9の如くで、洗滌した例の方がやや陽性例が多い。しかし他の培養法での成績と対照してみても、この操作によつてのみ陽性にしえた例はなく、また反対に、この操作をしなかつたから陰性になつたと認められる例もなかつた。

表9 初めに材料を albumin 加培地で洗滌遠沈したか否かの比較

	遠 沈	遠 沈 せ ず
陽性	全部の試験管 2 一部の試験管 5	7 1
陰 性	2	7
	計 9 例	17 例

(7) Dubos 培養基 (without Tween) と Kirchner 培養基との比較

これは同じ例の材料の同一量を各培地2~6本に接種した場合の比較で表10の如く、血清加 Kirchner 培養基でも決して遜色はない。むしろ Kirchner 培養基の方が特に肉眼的に表面発育が良好な場合が多い。すなわち albumin 加培養基が特に優れた成績ではない。

表10 Dubos 培地 (without Tween 80) と Kirchner 培地との比較

Dubos	Kirchner	計 23 例
+	+	14
-	-	7
+	+	2
陽性率 26本/41本=63%		26本/39本=67%

(8) 液体培養から卵培養基に再接種した成績、特に矛盾した成績を示す場合について

52部位の全液体培養の成績は表11の如く 197本中陽性106本、陰性91本である。

表11 液体培養の各試験管の成績

1.5カ月	4カ月	6カ月	9カ月	計 197本
+				92
+	+	+		5
-	+	+	+	3
-	-	-	+	1
+	-	-	-	5
-	-	-	-	83
-	-	-	-	1
-	-	-	-	7

この陰性91本中8本は1~2回の再接種以後雑菌混入その他のために以後の検索が不能となつたが、83本については9カ月後まで途中4回にわたり検索しえたいずれも陰性に終つたものである。陽性106本中92本は1.5カ月後に移した卵培養基上に多数の集落を形成して陽性となつたもの、次に1.5カ月後からは少数の集落しか発生せ

表12 液体培養で遅れて陽性になつた例

No. および性状	No. 26-1 小豆大被乾菓融解(-)	No. 10-2 撒 布 巢	No. 27-2 撒 布 巢
塗 抹 (ガフキー)	-	2 号	-
培	普通法	0 0 0	6, 11, 4
	稀釈直接	10× (2), 0 0 0 0 0 凝結水中法 0 0 0 0, 19	7, 4, 2, 14, 4, 8, 2, 2, 2, + 凝結水中法
	100×	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 2, 1, (28), 4, 0
養	液 体 培 養	1.5 4 6 9M	1.5 4 6 9M
	遠 沈 / 上 清	a + b 0 0 0	上 清 a + b 0 0 0 0
	D / c	+	D b 0 0 0 18 c 2 0 0 0
	d	+	d 0 Co 0 0
	K / e / f	0 + + + + + + +	K e + + + + f + + + +
動物接種	± -	- +	+ ±

ず4カ月後からは多数の集落がみられた例が5本ある。問題となる例は以下の、1.5カ月後からは陰性、4カ月以後陽性の3本、始めずつと陰性9カ月後に初めて陽性

となつた1本、および1.5カ月陽性以後陰性の5本、の矛盾したおのおのの例である。例示すれば表12、表13の如くで、これらはいずれも併行実施した他の培養法およ

図 1

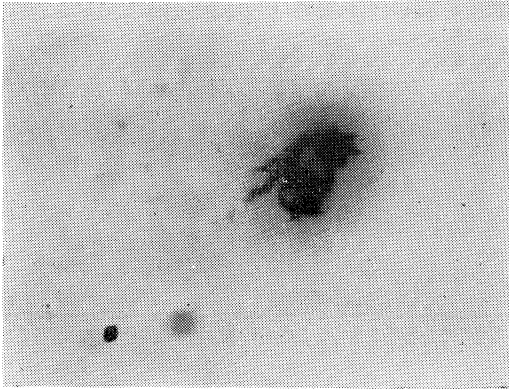


図 2

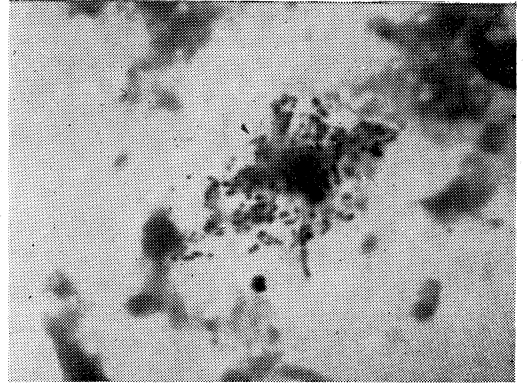
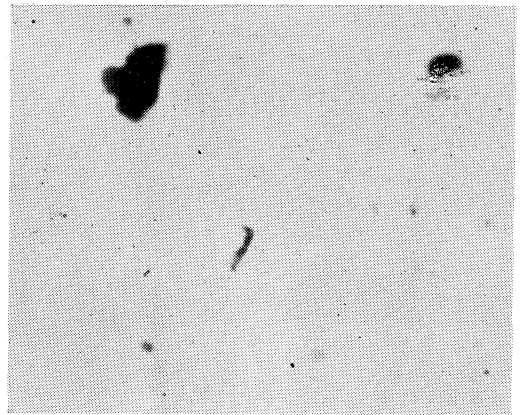


図 3



図 4



附図説明

- 図 1 液体培養で肉眼的に発育が不明瞭だが、その沈渣を染色、検鏡して観察された顕微鏡的集落 (200×)
菌束は蛇行状、発育の像を示している。No. 82
- 図 2 塗抹陽性、培養陰性 (動物接種陰性) の場合にみられる菌形態 (1,800×)
ガフキー 6 号、菌は顆粒状、集合し菌塊形成 No. 33 被包乾酪巢。
- 図 3 塗抹陽性、培養陽性 (H) の場合にみられる菌形態 (1,800×)
菌は長く、略々均一に染色され、抗酸性形 (濃) とともに易染性形 (淡) も混在 No. 17-1 空洞。
- 図 4 図 2 の例 No. 33 の液体培養 9 カ月後の沈渣にみられた抗酸性の菌体 (1,800×)
菌は少数中央に存在、発育の兆はない。

ついてより多数の培養基を使つて吟味していることになるから、充分首肯されうる。(表2)このことは動物接種の成績においてもまたいいうる。すなわち問題はその培地に生菌が接種されえたか否かにかかっているのであらう一機会の問題一とする考え方である。

このことはまた液体培養 1.5カ月後に卵培養基に移して陰性で、4カ月後に初めて陽性になりえた場合にも同じことをいいうるのではないか。すなわち出発の生菌数が極めて少ない場合には発育していても全体としては生菌数が少なく、1.5カ月後卵培養基に移した0.5cc中に生菌が含まれない可能性が考えられる、しかし4カ月後にはすでに生菌数が或数に達していて、それを卵培養基に移したとき陽性になったのではないか(表12)。類似の例として1.5カ月後少数集落陽性、4カ月後多数集落陽性の例(表2, No. 11—2)が同様に説明されよう。また1.5カ月後陽性以後陰性の例(表13)も、存在した生菌が1.5カ月後に採取した0.5ccの中に全部移行してしまつて、以後は陰性になったものと考えることが可能であらう。

このような考え方から Hobby⁶⁾らの成績を吟味するに、液体培養のそれぞれから各回0.1cc宛しか固形培地に移していないが、2カ月以内に陽性の例では同一例の培養試験管のほとんど大部分が陽性であるのに対して、遅れて陽性の例では同一例の試験管中の一部少数の試験管のみが陽性となつている。このような結果は上述の私の例の場合と同じような考え方で充分説明のできることはないかと考える。(しかし Hobby らの成績中には直接固形培地に接種した対照の成績がない点もまた当然批判されねばならない)

上述の説明は、私の例において同時に併せ行つた液体培養以前の方法(稀釈直接法等)においていずれも同時に陽性であることから、これらの矛盾した成績を示す長期培養の試験管にも最初極く少数の通常の出発能力を有する生菌がやはり同様に接種されたに違いないという推測にもとづくものである。

しかしながら、液体培養で9カ月後に初めて陽性という例が Hobby らの場合にも、私の成績にもまた少数例ながら確かに存在している。これについては上述の説明のみでは十分に背けない。このためにこそ Hobby らは dormant な菌の存在を主張している。すなわち病巣中において弱められあるいは休眠状態にされた菌が長期に培養されて蘇生されえたのであらうという興味ある考え方である。

このような意味で吟味された凝結水中培養法(表3, 4, 5, 6)の試みはその成績が直ちに特殊な状態の菌の存在を示唆するものではなく、むしろ少数の生菌を検出し易くする点で多少興味があるというべきものであつた。また小川らの試み(表7, 8)において陽性化しえた例も同一例の他の培養ではすでに2カ月で陽性である点か

ら、発育していたが2カ月では肉眼可視にまでなりえなかつた集落が、条件を良くし、さらに観察を続けたために肉眼可視にまでなりえたとすぎないと考えられる。

液体培養においても長期に培養して初めて陽性になった例については、dormant な菌の存在を肯定する前に、同一例の他の培養法で通常の意味ですでに培養陽性になっている点、私の観察から注目されなければならない。ここで通常の出発能力を持った生菌が接種されたとしても、適当な培養基、培養法を用いても、ときには除きえない何らかの原因で発育が阻止あるいは抑制される場合があるのではなからうか、という問題を考える必要があらう。

材料が albumin で稀釈され洗滌されても特によい成績にならないことは私の成績からみても、また生理食塩水を対照とした Steenken⁷⁾らの成績からみても明らかであらう。すなわち albumin を用いるか否かは Hobby らの主張する如く成績を左右するものとは必ずしも考えられない。液体培養において肉眼で発育が不明でも顕微鏡の発育がある場合(図1)も注目されたが、特に遅れて陽性になる例では発育が少なくとも非常に遅れているかあるいはほとんど発育していないと考えられる。すなわち病巣内に存在する阻止物質は一応充分に稀釈され、albumin で中和されるとはいえ、常にその作用を全く取り除きえているかは疑問であらう。ことに極く少数の生菌から発育が出発する場合にはときに除きえなかつた何らかの原因によつて発育が抑制される場合がありうるのではなからうか。これと上述の機会の問題とする考え方を組合せれば、4カ月後、9カ月後に初めて陽性となる例も、初め少数集落陽性、後に陰性となる例もともに一応説明が可能である。また小川らの試みで陽性化される例も説明できるのではなからうか。このような考え方で Hobby らの例を考察するならば、9カ月後に初めて陽性という例の液体培養の全量をもし早期に固形培地に移したならば少数の集落が通常の経過で発生したのではなからうか、とも考えられる。

もちろん上述の私の観察のみによつて dormant なあるいは弱っている菌が存在しないと断定することは差控えたいと思うが、Hobby らが氏らの成績から直ちに dormant な菌の存在を立証しえたものとする考え方にはにわかに賛し難い。

すなわちいずれも単一な説明では充分に解明しえないが、やはり主なる役割は機会の問題が演じているようである。このことは将来培養法が改良され陽性率が高められたとする場合、充分に考慮されねばならないと考える。

さらに塗抹(抗酸性の菌体)成績との関係においてこの dormant な菌が論じられているが、たとえ dormant な菌の存在を肯定したとしても、その成績から大多数の

菌が蘇生したとは考えられず、また特に長期に液体培養してもなお陰性でしかも塗抹で陽性の例がかなり存在する点や塗抹陰性培養陽性の例もまた存在する点等を注目すれば、培養法の選択あるいは改良が決してこの塗抹陽性培養陰性の問題を解決するものでないことが理解されよう。また培養陰性の場合の菌の形態(図2)が培養(+)の場合の菌形態(図3)と非常に差異のある点および9ヵ月間液体培養して培養陰性の沈渣にもちろん発育の兆はないがやはり抗酸性の菌体の残存している(図4)点も注目される。すなわちこのような場合の抗酸性の菌体はほとんどあるいは全部が死菌体と考えるのが妥当ではなからうか。

なお培養成績が術前の化学療法に直接関連せず、むしろ病巣性状との間に関係がみられた。特に閉鎖病巣では生菌数が少ない例が多いことが当然ながら注目された。

結 論

48例64部位の切除肺病巣中の結核菌について、主として各種培養法を併用しつつ検討した。

普通の如く卵培養基に材料を直接接種した場合より、稀釈直接法および液体培養法の方がよい成績を示したが、これは主として材料中に生菌が少ない場合でも多量の材料を多数の培養基に接種、培養したために少数の生菌を検出したにすぎないと考えられた。長期の液体培養の成績も直ちに dormant な(眠っている)菌の存在を示すものとは考え難く、またこのような菌の検出を期待したわれわれの凝結水中培養法も小川らの試みもともに特に注目すべき成績ではなかつた。

塗抹陽性培養陰性の場合のほとんどの抗酸性の菌体がこれらの方法で蘇生せしめうるとは考え難く、やはりほとんどあるいは全部が死菌体と考えるのが妥当であろうと考えられる。

擲筆に当り御指導御校閲を賜った恩師京大結研植田三郎教授、宇多野療養所長日下部周利博士に満腔の謝意を

表するとともに御援助御鞭撻を賜った京大結研長石忠三教授、宇多野療養所外科医長香川輝正博士に深甚なる謝意を表す。なお、本研究には文部省科学研究費(結核班)ならびに厚生省治療研究費の補助を受けた、附記して謝意を表す。

文 献

- 1) Medlar, E.M. et al. : Am. Rev. Tuberc., 66, 37, 1952.
- 2) Beck, F. & Yegian, D. : Am. Rev. Tuberc., 66, 44, 1952.
- 3) Yegian, D. : Am. Rev. Tuberc., 66, 629, 1952.
- 4) Granville, G.E. et al. : Am. Rev. Tuberc., 68, 727, 1952.
- 5) Falk, A. et al. : Am. Rev. Tuberc., 70, 689., 1954.
- 6) Hobby, G.L. et al. : Am. Rev. Tuberc., 70, 191, 1954.
- 7) Bernstein, S. & Steenken, W., Jr. : Am. Rev. Tuberc., 70, 370, 1954.
- 8) Steenken, W., Jr. et al. : Am. Rev. Tuberc., 71, 308, 1955.
- 9) 芳賀敏彦 : 日結, 12, 652, 昭28.
- 10) 伊藤忠雄 : 結核, 28, 442, 昭28.
" : 日結, 14, 612, 昭30.
- 11) 岡 捨己・菅原庸雄 : 結核診療, 8, 127, 昭30.
- 12) 伊藤義昭・吉田 昇 : 結核, 29, 138, 昭29.
- 13) 植田三郎 : 結核菌の研究 I, 昭26, 南江堂
" : Tuberculology, 13, 79, 1953.
" : Revue de la Tuberculose, 19, 594, 1955.
- 14) 植田三郎 : 日結, 14, 123, 昭30.
- 15) Difco Manual p. 109 ; p. 274, 9th Edition, 1953.
- 16) 小川辰次・古久保文造 : 日結, 14, 135, 昭30.