

寒天平板による結核菌の迅速耐性検査法

第3報 変法Ⅲキルヒナー寒天培地による迅速法と、変法重層培地

および7H9寒天培地による迅速法との比較

齊 藤 直 蔵

北里研究所附属病院(指導 小川辰次部長)

受付 昭和34年3月31日

I 緒 言

さきに第1報¹⁾で基礎実験を、第2報²⁾で寒天平板による迅速法と小川培地による普通法、および寒天平板による迅速法と普通法とを比較してSM, PAS, INHともほぼ一致することを報告したが、今回は変法Ⅲキルヒナー寒天平板による私の迅速法と従来の迅速法の1つである小川³⁾の変法重層培地による方法を比較し、またMiddlebrook⁴⁾の7H9寒天培地を迅速法に応用して私の迅速法と比較実験したので報告する。

II 実験方法

1. 対象

種々の抗結核剤の投与を受けている入院患者の喀痰を用い、早朝、広口砲弾型の滅菌スピッツグラスに採取した。抗結核剤の投与は採取1日前から中止した。検査例数は変法重層培地法との比較には46例、7H9寒天培地との比較では28例について実験した。塗抹陰性は前者では3例、後者では5例で他はすべて塗抹陽性であった。

2. 使用培地

イ) 変法Ⅲキルヒナー寒天培地(小川^{5), 6)})

小川らの原法と違うところは寒天の濃度が迅速法の平板では1.5gと変わるだけで他は全く同様である。

処方および作り方

第一磷酸カリウム (KH_2PO_4)	1.0 g
第二磷酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	0.3 g
硫酸マグネシウム ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.06 g
クエン酸ナトリウム ($\text{Sod. citrate} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.25 g
アスパラギン (1-Asparagin)	0.5 g
グリセリン	1.5 cc
0.1% マラカイト緑液	0.25 cc
Bacto-agar (Difco)	1.5 g
蒸留水	100.0 cc

以上を溶解し、コッホ釜で2時間滅菌し、50°~60°

Cに冷えたところで馬血清を10%の割に加え、2.5cc宛4分画シャーレ(Felsen Plate^{7) 8)}の1区画に分注する。抗結核剤は無菌的に蒸留水でとかしてあらかじめ調製しておき、変法重層培地との比較ではSM 10 γ /cc, PAS 10 γ /cc, INH 5 γ /cc, また米陸軍406研究所Morse氏より分与された7H9寒天培地との比較には、Morse氏の所で調製された抗結核剤溶液をSM 2.5 γ /cc, PAS 1 γ /cc, INH 1 γ /ccとなるよう血清を加える前に加熱することなく加えた。これはMorse氏より分与された7H9寒天培地には上のような濃度に抗結核剤が混入されていたからである。

ロ) 変法重層培地(小川³⁾)

原著通りに中試験管の半分の長さの短い試験管に1%小川培地1ccを斜面にかため、次の処方の液体培地を無菌的に4cc加えた。

第一磷酸カリウム	1.0 g
アスパラギン	0.5 g
グリセリン	2.0 cc
0.1% マラカイト緑液	1.0 cc
蒸留水	100.0 cc

抗結核剤は無菌的に所要量を0.1ccに含ませて培地に加えSM 10 γ /cc, PAS 10 γ /cc, INH 5 γ /cc混入の培地を作り、さらに薬の入っていない1本の対照培地を用いた。

ハ) 7H9寒天培地(Middlebrook⁴⁾)

これはMiddlebrook⁴⁾の7H3寒天培地⁹⁾の改良培地で、菌の分離あるいは普通法の耐性検査等の通常検査に用いられている寒天培地であるが次のような処方である。

KH_2PO_4	1.0 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	6.3 g
Ammonium sulfate	0.5 g (2.5%溶液 20 cc)
l-glutamate (Na 塩)	0.5 g (2.5%溶液 20 cc)
Glycerol	2.0 cc
$\text{Na}_3 \text{ citrate} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1 g (10%溶液 1 cc)
Fe ammonium citrate (green)	

1959年10月

	0.04 g (10%溶液 0.4cc)
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.05 g (1%溶液 5 cc)
CaCl ₂	0.0005 g (0.1%溶液 0.5cc)
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.001 g (0.1%溶液 1cc)
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.001 g (0.1%溶液 1cc)
Pyridoxine HCl	1.0 mg (0.1%溶液 1cc)
Biotin	0.5 mg (2mg/cc溶液 0.25 cc)

上記のものに蒸留水を加えて 900 cc とし、10% HCl で pH 6.6 にする。寒天 (Difco あるいは B.B.L. 製) は 1.5% に加え、マラカイト緑を 1 γ/cc となるよう加える。これを 15 ポンド 15 分高圧滅菌後、50°C に冷やし、あらかじめ滅菌してあるオレイン酸アルブミン Complex を 0.5%, 50% Glucose を 0.2%, beef liver catalase を 3γ/cc となるよう加えてき上がる。抗結核剤はザイツで濾過滅菌し、SM 2.5 γ/cc, PAS 1 γ/cc, INH 1 γ/cc となるよう分注時に加え、Felsen の 4 分面シャーレの 1 区面に 5 cc 宛培地を分注する。以上のように作られた培地を、在日米軍 406 研究所 Morse 氏より分与を受け実験した。

ニ) 3% 小川培地¹⁰⁾

かたのごとく作り、普通法の対照培地として用い、5 cc 宛分注斜面として使用した。抗結核剤は変法重層培地との比較では、平沢¹¹⁾にしたがい、あらかじめ無菌的に所定量の 50 倍量のものを作つておき 0.1 cc 流しこみ、SM 10 γ/cc, PAS 10 γ/cc, INH 5 γ/cc となるよう混入し、また 7H9 寒天培地との比較では Morse 氏より分与された薬剤溶液を所定量となるよう流しこみ、SM 2.5 γ/cc, PAS 1 γ/cc, INH 1 γ/cc となるよう混入し、1 晩孵卵器にねかせて耐性検査用の培地とし、別に薬剤の含まない培地を 1 本対照として計 4 本の培地を使用した。

3. 接種法

イ) 迅速法

a) 変法Ⅲキルヒナー寒天培地 (以下変法Ⅲ培地と略) による方法

塗抹陽性の喀痰では 4% NaOH を約 5 倍量加え、塗抹陰性の場合には 8% NaOH を喀痰と等量加え、試験管を振盪して十分に均等化する。次にこの処理液 1 cc に滅菌蒸留水 3 cc を加え (すなわち 4 倍に稀釈される) その 0.2 cc 宛を 4 分面シャーレの 1 区面に接種し、手でシャーレをゆり動かし平板全面にうるおうようにする。シャーレは変法重層培地との比較のときは、1~2 日後培地表面の乾いたところでポリエチレンの袋^{9) 12)}に入れ、また 7H9 寒天培地との比較では 7 日までそのまま孵卵器に放置、迅速判定後、内径 23 cm, 高さ 21 cm の硝子の標本瓶に入れ密栓し乾燥を防ぎ 5 週まで培養を続けた。

b) 変法重層培地

4% NaOH 処理の喀痰を 0.1 cc 接種、1 週間培養した。

c) 7H9 寒天培地

1957 年の報告¹³⁾にしたがつて、喀痰 1 cc を約 12% の第三磷酸ソーダ液 10 cc を入れたスピッツグラスに入れ、5 分間よく振つて 1 晩孵卵器に入れておく。翌日 1 分間 3,500 回転の遠心器で 15 分遠沈し、上清をすて、沈渣に pH 6.6 の Sørensen 緩衝液 10 cc を加え、混ぜて再び 15 分遠沈する。次に上清をすて Sørensen 緩衝液 2 cc を加え混じ、その 0.2 cc 宛を 4 分面シャーレの 1 区面に加え、シャーレをゆり動かし平板全面にうるおうようにして孵卵器に入れ、翌日培地表面が乾いたところでポリエチレンの袋に入れ、7 日目迅速判定後も 5 週まで培養を続けた。

ロ) 普通法 (3% 小川培地)

かたのごとく、4% NaOH 処理のものを 0.1 cc 接種、1 晩孵卵器にねかせ次の日にゴム帽にかえ立てて培養した。

4. 判定法

イ) 迅速法

a) 寒天平板 (変法Ⅲ培地, 7H9 寒天培地)

培養 7 日目に寒天平板を裏がえしにおき弱拡大 (50 倍) 乾燥系で鏡検し、培地表面に発育してきた顕微鏡的集落 (コード) をみて判定し、集落数の表示は +, ++, +++, Ⅲ, Ⅲと第 1 報に示したように 5 段階に分けた。10 視野以上みて平均して、対照と同一程度に発育したときは完全耐性とし、1 段階以上の差のあるときは不完全耐性、対照にのみ発育したときは感受性とした。なお対照の集落数が全視野を合計して 10 コ以下の少数のときは、抗結核剤の混入した培地にもほぼ同数以上の集落が認められるときは完全耐性と判定するが、抗結核剤の混入した培地に陰性のときは判定できないものとして除去した。

b) 変法重層培地

7 日目に遠沈、沈渣を塗抹 Ziehl-Neelsen 氏法で染色、50 倍の弱拡大で鏡検し、完全耐性、不完全耐性、感受性の判定は寒天平板の場合に準じた。

ロ) 普通法

寒天平板、小川培地とも 4~5 週で判定し +, ++, +++, Ⅲ, Ⅲの表示は第 1 報のとおりであるが、対照と同一程度に発育した場合は完全耐性、1 段階以上の差の認められるときは不完全耐性とし、対照培地にのみ発育したときは感受性とした。

III 実験成績

1. 耐性値

イ) 変法Ⅲ培地による迅速法と、変法重層培地による

表 1 迅速法（変法Ⅲキルヒナー寒天平板法，変法重層培地法）と普通法（3%小川培地）との耐性値の一致率

抗結核剤 とその混 入濃度 (γ/cc)	検査 例数	一致例数（一致率）			
		完全，不完全耐性および感受性に分けたとき		耐性と感受性に分けたとき	
		変法Ⅲキルヒナー寒天培地	変法重層培地	変法Ⅲキルヒナー寒天培地	変法重層培地
SM 10 γ	36	27 (75%)	30 (83%)	28 (78%)	31 (86%)
PAS 10 γ	37	32 (84%)	32 (84%)	33 (89%)	33 (89%)
INH 5 γ	36	27 (75%)	26 (72%)	29 (81%)	29 (81%)

注：欄中の数字は例数を示す

表 2 迅速法における変法Ⅲキルヒナー寒天培地法と変法重層培地法の耐性値の相関関係

	変法Ⅲ培地法 変法重層培地法	変法Ⅲ培地法			計
		完全耐性	不完全耐性	感受性	
SM 10 γ	完全耐性	18	1	1	20
	不完全耐性		6	4	10
	感受性			6	6
	計	18	7	11	36
PAS 10 γ	完全耐性	1		1	2
	不完全耐性		20	2	22
	感受性		3	10	13
	計	1	23	13	37
INH 5 γ	完全耐性	8			8
	不完全耐性	1	4	2	7
	感受性		6	15	21
	計	9	10	17	36

注：欄中の数字は例数を示し，二重欄中の数字は完全に一致した例数を示す

迅速法の比較

46例で検査したが，陰性のもの5例，対照の菌数少

なく判定困難のもの4例，その他汚染例を除き，表1のようにSM 36例，PAS 37例，INH 36例で比較した。3%小川培地による普通法との耐性値の一致率を完全，不完全耐性および感受性に分けて比較してみると70~80%に両方法とも一致し，完全，不完全耐性を1つにして耐性と感受性に分けると，両方法とも80~90%において一致し，差を認めない。次に，7日目の耐性値の相関関係をみると，表2のようにSMでは寒天平板の方が低い耐性を示す傾向がみられるが，PASではほぼ同じであり，INHでは変法重層培地の方が低い傾向がみられた。

表 3 変法Ⅲキルヒナー寒天培地ならびに7H9寒天培地による迅速法と普通法（3%小川培地）との耐性値の一致率

抗結核剤 とその混 入量 (γ/cc)	検査 例数	一致例数（一致率）			
		完全，不完全耐性および感受性に分けたとき		耐性と感受性に分けたとき	
		変法Ⅲキルヒナー寒天培地	7H9寒天培地	変法Ⅲキルヒナー寒天培地	7H9寒天培地
SM 2.5 γ	12	10 (83%)	7 (58%)	12 (100%)	11 (92%)
PAS 1 γ	12	10 (83%)	7 (58%)	12 (100%)	10 (83%)
INH 1 γ	12	8 (67%)	8 (67%)	9 (75%)	9 (75%)

注：欄中の数字は例数を示す

ロ) 変法Ⅲ培地による迅速法と，7H9寒天培地による迅速法の比較

比較の方法は，喀痰に滅菌蒸留水を2~3倍量加え，よく攪拌均等化し，それを2分する。一方は8%NaOHを等量加え，均等化してその0.1ccを3%小川培地に接種する。その残りの4%NaOH処理の喀痰溶液をさらに滅菌蒸留水で4倍に稀釈し，その0.2ccを変法Ⅲ培地の4分面シャーレの1区画に接種する。他の一方は前に述べた方法で1晩孵卵器に放置，翌日7H9寒天培地の4分面シャーレに0.2cc宛接種した。検査例数28例中，7日目に両方の方法で陰性のもの6例，菌数少なく判定困難のもの9例，その他汚染例を除き12例で比較した。まず3%小川培地による普通法と，それぞれの迅速法との耐性値の一致率を調べてみると，表3のように完全，不完全耐性，感受性に分けた場合でも，また耐性と感受性のみに分けた場合でもSM，PASでは7H9寒天培地は変法Ⅲ培地に比べて一致率が低いが，INHでは差がなかった。次に，それぞれの迅速法の耐性値の相関関係をみると，表4の

表4 変法Ⅲキルヒナー寒天培地と7H9寒天培地による迅速法の耐性値の相関関係

	変法Ⅲ 7H9	完全耐性	不完全耐性	感受性	計	
		SM	完全耐性	3		
		不完全耐性	4	2		6
2.5γ	感受性		1	2		3
	計	7	3	2		12
PAS	完全耐性	3				3
	不完全耐性	3	3			6
1γ	感受性		3	0		3
	計	6	6	0		12
INH	完全耐性	2				2
	不完全耐性	1	5			6
1γ	感受性			4		4
	計	3	5	4		12

注：1) 二重欄中の数字は完全に一致した例数を示す
 2) 変Ⅲは変法Ⅲキルヒナー寒天培地、7H9は7H9寒天培地を示す

表5 陽性率の比較

実験番号	方法 検査例数	普通法		迅速法		
		培地	3%	変法Ⅲキルヒナー 寒天培地	変法 重層培地	7H9 寒天培地
		小川培地				
(1)	46	46 (100%)	42 (91%)	44 (96%)		
(2)	28	26 (93%)	22 (79%)		17 (61%)	

注：1) 実験1では塗抹陰性3例、実験2では塗抹陰性5例で、他はすべて塗抹陽性の略痰を使用した
 2) 欄中の数字は例数を示す

ようにSM、PASでは、7H9寒天培地の方が変法Ⅲ培地に比べて耐性値が低い傾向がみられたがINHではほとんど一致した。

2. 陽性率

変法Ⅲ培地と変法重層培地による迅速法の陽性率を比較してみると、表5にみるように両方法の間に大差はない。

次に変法Ⅲ培地と7H9寒天培地による迅速法の陽性率は、表5のように7H9寒天培地は変法Ⅲ培地に比べてやや低かった。

表6 変法Ⅲキルヒナー寒天培地と変法重層培地および7H9寒天培地の迅速法の顕微鏡的集落数の比較

実験(1)	培地			合計
	変Ⅲ>変重	変Ⅲ≒変重	変Ⅲ<変重	
	5 (12%)	35 (85%)	1 (3%)	41 (100%)
実験(2)	培地			合計
	変Ⅲ>7H9	変Ⅲ≒7H9	変Ⅲ<7H9	
	10 (59%)	7 (41%)	0	17 (100%)

注：1) 変Ⅲ：変法Ⅲキルヒナー寒天培地による迅速法
 変重：変法重層培地による迅速法
 7H9：7H9寒天培地による迅速法
 2) 欄中の数字は例数を示す

3. 集落数

両方の培地とも陽性を示した例で顕微鏡的集落数を比較したが、そのさい++と卅というように2段階以上の差があるときは差があるものとした。

まず、変法Ⅲ培地と変法重層培地による迅速法では、表6実験(1)に示すように41例で比較できたが、35例(85%)は差を認めず両方法に大差を認めない。次に変法Ⅲ培地と7H9寒天培地との迅速法の比較では、表6実験(2)のように、17例で比較できたが10例(59%)は変法Ⅲ培地の方が多く、7例(41%)では差がない。すなわち変法Ⅲ培地の方が7H9寒天培地より集落数が多い傾向がみられた。

4. 雑菌侵入率

雑菌侵入培地数は、寒天平板では1区画を1本と数えて比較したが、まず変法Ⅲ培地と変法重層培地との比較では、変法Ⅲ培地のシャーレは、接種1~2日後ポリエチレンの袋に入れ乾燥を防ぎ5週まで培養を続けた場合の成績であるが、表7実験(1)にみるように、3%小川培地あるいは変法重層培地と比べて大差なかった。次に変法Ⅲ培地と7H9寒天培地との比較では、7H9寒天培地は接種翌日ポリエチレンの袋に入れ乾燥を防ぎ、一方変法Ⅲ培地の方は7日までシャーレをそのまま孵卵器に放置、迅速判定後は前述の標本瓶にシャーレを入れ密栓してそれぞれ5週まで培養を続けたが、表7実験(2)にみるように7H9寒天培地10%に対し、変法Ⅲ培地は18%の汚染があり、これは2~3週以後入るかびが大部分であった。なお、迅速判定までの期間では、いずれの場合でもほとんど雑菌侵入をみなかった。

表7 雑菌侵入率の比較

実験 番号	例数	培地数	変法Ⅲ寒天平板の 乾燥防止法	方 法			
				普通法	迅 速 法		
				3%小川培地	変法Ⅲ キルヒナー 寒天培地	変 法 重層培地	7H9 寒天培地
(1)	46	184	接種1~2日後ポリエチレン の袋に入れる	8 (4%)	2 (1%)	5 (3%)	
(2)	28	112	接種7日後標本瓶に入れ密栓 する	3 (3%)	20 (18%)		11 (10%)

注：1) 変法重層培地は1週までの、他はすべて5週までの雑菌侵入数である

2) 欄中の数字は培地数を示す

IV 総括および考察

私の迅速法は、わが国で広く行なわれている小川培地による普通法に比べると、ほぼ80~90%において一致することを第2報²⁾で述べたが、さらに私はわが国の従来の迅速法の1つである小川³⁾の変法重層培地による方法ならびにMiddlebrook^ら⁹⁾¹⁴⁾が普通法として用いているFelsen Plateに分注した7H9寒天培地を迅速法に応用し、私の迅速法と比較してみた。

小川らの迅速法は、氏らによれば普通法とほぼ一致すると称されているし、また他の迅速法と比較しても遜色のないことを示している。私の迅速法と小川らの変法重層培地法との比較の成績をみると、普通法との耐性値の一致率はほぼ同様であり、また耐性値の相関関係をみると、SM、PAS、INHにおいて必ずしも一致した傾向は示さないが、SMでは寒天平板の方は低い傾向があり、PASではほぼ同様であり、INHは変法重層培地の方がやや低い。この理由は迅速法の手技および培地の差によるものと思われる。

次に7H9寒天培地であるが、3%小川培地との耐性値の一致率は私の迅速法に比べてSM、PASでは低い。このことは、前述の陽性率や集落数の比較でもわかるように顕微鏡的集落数が少ないためである。また耐性値の相関関係では、7H9寒天培地は変法Ⅲ培地と比べて、INHではほぼ一致したが、SMとPASでは耐性値が低くなる傾向を示している。次に、迅速法における陽性率を比較すると、私の方法と変法重層培地法とはほぼ同じであるが、7H9寒天培地は多少低い。また集落数の比較でも変法Ⅲ培地と変法重層培地とは差はないが、7H9寒天培地は少ないものが多い。このようなことは7H9寒天培地は変法Ⅲ培地に比べ多少白濁して透明でなく、また培地の量が多いため顕微鏡判定のさい、コードの判定が必ずしも容易でなかつたことも1原因であろう。雑菌は、変法重層培地との比較では変法Ⅲ培地はポリエチレンの袋に入れ培養したが、この場合

は差を認めなかつたが、7H9寒天培地との比較では変法Ⅲ培地は7日後、大きな標本瓶に入れ密栓して培養し、一方7H9寒天培地はポリエチレンの袋に入れ培養したが、この場合の変法Ⅲ培地には雑菌侵入が多かつた。したがつてその後は、シャーレをポリエチレンの袋に入れ乾燥を防いで培養を継続するようにしている。

以上のことから私の迅速法は、従来の迅速法の1つである小川らの変法重層培地による方法に比べて遜色がない。また7H9寒天培地に比べてすぐれているということができよう。7H9寒天培地はSM、PASでは変法Ⅲ培地に比べ低い耐性値を示していたが、INHでは比較的よく一致したことは、検査例数が少ないが、Middlebrook^らが称しているように、この培地はINH耐性結核菌の発育がよいことを示唆するものかもしれない。しかし、氏らの前処理法は相当複雑でとくにこの方法によつたとしても、NaOHによる方法に比べてすぐれた成績を示さなかつた。私の方法は、以上の2方法に比べて、とくに手技が簡単になつている。しかも迅速法では不成功のときは、そのまま普通法にきり変えることができる。この点から考えると私の方法は従来の方法に比べてさらに実際的な方法と考えられよう。

なお、私の方法は多少の欠点を含んでいるのでこの点はさらに改良して確実にしたいと思つているし、またこの方法を単に通常検査だけでなく研究の方面にも応用していつてみたいと思つている。

V 結 論

1) 変法Ⅲキルヒナー寒天平板と変法重層培地による迅速耐性検査法を46例の喀痰を用い、SM 10 γ/cc 、PAS 10 γ/cc 、INH 5 γ/cc で3%小川培地による普通法との耐性値を比較すると、両迅速法とも、完全耐性、不完全耐性、感受性に分けたときは70~80%、完全、不完全耐性を1つにして耐性と感受性に分けたときは80~90%に一致し両者の間に差は認められなかつた。

2) 変法Ⅲキルヒナー寒天平板と7H9寒天平板による迅速耐性検査法を28例の喀痰を用い、SM 2.5 γ /cc, PAS 1 γ /cc, INH 1 γ /ccで、3%小川培地による普通法との耐性値を比較すると、完全、不完全耐性、感受性と分けたときは、変法Ⅲキルヒナー寒天平板で70~80%, 7H9寒天培地で60~70%において一致した。また完全、不完全耐性を1つにして耐性と感受性のみに分けると、変法Ⅲキルヒナー寒天平板では80~100%, 7H9寒天平板では80~90%において一致した。すなわち7H9寒天培地の方が一致率が低かった。

3) 変法Ⅲキルヒナー寒天平板、変法重層培地および7H9寒天平板による3つの迅速法の陽性率、顕微鏡的集落数、雑菌侵入率を比較すると、変法Ⅲキルヒナー寒天平板と変法重層培地ではいずれの点でも差が認められなかったが、7H9寒天平板は前2者に比べいずれの点でも劣っていた。

終りに臨み、御指導、御校閲を賜わった慶大石田二郎教授ならびに終始御指導、御教示を賜わった小川辰次部長に深甚の謝意を表します。なお7H9寒天培地を分与された在日米陸軍406研究所Morse博士に深謝致します。

本論文の一部は昭和34年4月、第34回日本結核

病学会総会において発表した。

文 献

- 1) 齊藤：結核，34：574，昭34.
- 2) 齊藤：結核，34：640，昭34.
- 3) 小川・長田・小関：結核，31：302，昭31.
- 4) Morse et al. : Report No. 1., 1955, Research and Development Service, Fitzsimons Army Hospital より引用.
- 5) 小川・沢井・島田：結核，33：749，昭33.
- 6) " " : 結核，33：807，昭33.
- 7) Felsen : Amer. J. Clini. Patho., 19：289，1949.
- 8) Felsen : Arch. Int. Med., 88：406，1951.
- 9) Middlebrook et al. : Amer. Rev. Tuberc., 70：852，1954.
- 10) 小川・佐波・鈴木：結核，25：403，昭25.
- 11) 平沢：結核，30：199，昭30.
- 12) 小川(政)：臨床病理，4：341，昭31.
- 13) Taylor et al. : Report No. 1., 1957, Research and Development Service, Fitzsimons Army Hospital より引用.
- 14) Middlebrook et al. : Amer. J. Pub. Health., 48：844，1957.