

直立拡散法の基礎的研究

第1報 測定及び判定方法

楊 維 垣・田 島 洋・飯 尾 正 明
菅 沼 昭 男・谷 崎 雄 彦・川 瀬 留 吉
馬 場 治 賢

国立中野療養所

受付 昭和 40 年 3 月 17 日

FUNDAMENTAL STUDY ON THE VERTICAL DIFFUSION METHOD*

I-Report. Method of the Measurement and the Reading

Ikan YO, Yo TAJIMA, Masaaki IIO, Akio SUGANUMA, Katsuhiko TANIZAKI,
Tomekichi KAWASE and Harukata BABA

(Received for publication March 17, 1965)

Vertical diffusion method is now generally used for the biological measurement of the drug concentration or the drug resistance. But there still remain some questions for further study, such as, kind of the test tube to be used, amount of inoculum, kind and amount of the culture medium, and the interval period between the inoculation of bacilli and the instillation of the drug. In this paper, results regarding such problems will be presented.

1) Immediately after instilling 5 ml of INH solution into 1020 ordinary test tubes and 448 crook-necked tubes, both of which had been inoculated with BCG beforehand and kept in an incubator at 37°C in horizontal state for 48 hours, the fluid level was measured from the bottom of the test tube.

The fluctuation of the fluid level was from 1.0 cm to 2.1 cm in the case of ordinary slant, and from 0.7 cm to 1.2 cm in the case of crook-necked tube (Table 1). And even though the constant height and declination of the medium was kept, the fluid level changed considerably (Table 2, 3, 4).

2) The fluid level after keeping the media in an incubator at 37°C in vertical state for 3 weeks, decreased more than 0.2 cm in 19.2% and increased more than 0.2 cm in 18% as compared with the state of the medium directly after prepared, in the case of the ordinary slant. Similarly, in the case of crook-necked tube, the decrease was found in 7% and the increase in 17.8%. Thus no definite tendency was found in the change of fluid level by the incubation (Table 5).

3) One microgram of INH was solved in 5 different quantities of water and each was poured carefully into the base of 3% Ogawa medium just inoculated with 0.05 mg of BCG. The inhibition zone of each after 3 weeks from the date of the inoculation was almost the same when measured from the bottom of the tube (Table 6 A). When the drug weight was 0.2 microgram, the same result was obtained (Table 6 B).

This experiment demonstrated clearly that the inhibition zone was directly connected with the weight of the drug but not with the solution quantity.

4) From the above experiments, we can conclude that the length of the inhibition zone can be more accurately indicated when measured from the bottom of the test tube than from the fluid level which is not necessarily constant.

* From National Nakano Sanatorium, 14-2, 3-chome Egota, Nakano-ku, Tokyo, Japan.

5) 3% Ogawa media were inoculated with 0.05 mg BCG, some of them immediately after and the others after preserving them for 2, 4, 6, 8, 10 days in an incubator at 37°C, and 0.5 ml of one microgram INH solution was poured into the base of the culture medium and the incubation was continued again. The length of the inhibition zone was each 5.9, 5.4, 4.7, 4.2, 3.7, 2.8 cm after 3 weeks of incubation by counting from the date of inoculation and it was almost the same by counting from the date of drug instillation (Table 7).

This means that the length of inhibition zone becomes shorter accompanying with the elongation of the period from the inoculation to the instillation of the drug.

The length of the inhibition zone became also shorter with the elongation of the incubation period. It was 5.9 cm after 3 weeks' incubation, and 5.7 cm after about 4 weeks in the group which received the drug solution immediately after inoculation (Table 7).

Accordingly the period from the inoculation to instillation, and the period of incubation should be always constant. It will be better to instil the drug immediately after inoculation because of the simplicity and the longer inhibition zone.

6) The inhibition zone of 86 test tubes (4.5%) was un even as shown in Fig. 1 among 1900 tubes, in the case of INH measurement employing the slant inoculated with BCG.

In these cases, the distance between the highest and the lowest points was from 0.2 cm to 2.5 cm, but most of them were within the limits of 0.5 cm.

The measurement error between 2 persons was over 0.2 cm because of the unevenness in 2 tubes among 60 tubes (3.3%) for the measurement of ethambutol using M. phlei.

Tinne¹⁾によつて考案され、Schmiedel²⁾、小川^{3), 6)}らによつて改良された直立拡散法は、その手技の簡便さがゆえに薬剤耐性検査法としてまたは体液中の薬剤濃度の生物学的測定法として現在広く用いられている。

直立拡散法による耐性検査術式は小川³⁾によれば「特殊の首曲り中試験管に 3% KH_2PO_4 (小川) 培地 6 cc ずつを分注、試験管を水平に静置して培地の厚さを一定になるように 85~88°C で 65~70 分滅菌凝固させる。凝固水をよくすててから菌液 (被検材料) を 0.1 cc ずつ均等に培地面にひろげるように丁寧に定量培養する。栓をとつてまたはゆるめて 37°C 24 時間水平におき、培地面がおおむね乾燥してから薬液 0.5 cc を培地にふれないように管壁にそつて流しこみ垂直に保つて 37°C に培養する。4~6 週で判定し、判定法は薬液上面より細菌発育前線までの阻止帯の長さを測定する」となつている。

Schmiedel^{2), 4), 5)}、小川^{3), 6)}は培地の厚さを平面にするために特殊な首曲り試験管を考案しているが、著者の一人飯尾⁷⁾は普通結核菌培養に使われる斜面培地でも首曲り試験管による平面培地と同様阻止帯は直線関係が成立することを認めており、Grosset⁸⁾は斜面培地を用いて血清中活性 INH 量の測定を行なつている。

われわれは直立拡散法の基礎的検討を行ない、斜面培地と首曲り試験管による平面培地との比較等 2, 3 興味ある所見を得たが、今回はまず判定法についての実験結果を報告する。

【I】液面の高さについて

普通結核菌培養に使用する 3% 小川培地 (斜面培地・培地量 8 cc) を無選択に 1,020 本と小川氏の首曲り試験管を用いて培地の厚さが一定になるように作製した 3% 小川培地 (平面培地・培地量 5 cc) 448 本とについて、それぞれ凝固水をできるだけ完全にすてのち BCG 菌液 0.1 cc ずつ接種、48 時間 37°C に水平に静置してから INH 液 0.5 cc ずつ管底に注入した。INH 液注入直後の試験管管底より液面までの高さを測定した成績は表 1 のとおりで、斜面培地では 1.0 cm から 2.1 cm までの 1.2 cm にわたつて液面の高さに差がみられ、平面培地では 0.7 cm から 1.2 cm までの 0.6 cm にわたる分布が認められた。

斜面培地の高さ、傾斜角度はまちまちであるから液面の高さも当然その影響を受けると想像されるため、上記の斜面培地のうち 893 本について傾斜角度、高さを測定した。液面の高さ と 傾斜角度の 関係は表 2 のごとくである。度数を f 、総数を n 、横軸の階級を単位とした仮平均よりの偏差を d_x' 、縦軸の階級を単位とした仮平均からの偏差を d_y' として相関係数 (r) およびその標準誤差 (S_r) を次の式に従つて計算すると、

$$r = \frac{\sum f d_x' d_y' - n \left(\frac{\sum f_x d_x'}{n} \right) \left(\frac{\sum f_y d_y'}{n} \right)}{n S_x S_y}$$

Table 1. Fluid Level Directly after Instillation of 0.5 ml/INH

Fluid level from the bottom of test tube	Culture media by ordinary slant tube	Culture media by crook-necked tube
0.7 cm		3(0.7%)
0.8		46(10.3%)
0.9		195(43.5%)
1.0	5(0.5%)	142(31.7%)
1.1	18(1.8%)	53(11.8%)
1.2	136(13.4%)	9(2.0%)
1.3	247(24.1%)	
1.4	221(21.7%)	
1.5	238(23.2%)	
1.6	69(6.8%)	
1.7	59(5.8%)	
1.8	22(2.2%)	
1.9	3(0.3%)	
2.0	1(0.1%)	
2.1	1(0.1%)	
Total	1,020	448

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum f_x(d_x')^2}{n} - \left(\frac{\sum f_x d_x'}{n}\right)^2}$$

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum f_y(d_y')^2}{n} - \left(\frac{\sum f_y d_y'}{n}\right)^2}$$

$$S_r = \frac{1-r^2}{\sqrt{n-1}}$$

表2は $r=0.298$, $S_r=0.031$ で, $r > 3 S_r$ であるからこの相関係数は有意であるが, $r^2=0.09$ であることは液面の高さに対する傾斜角度の影響は9%のみであつてこれはかなり低い相関関係と思われる。したがつて仮に一定の傾斜角度の培地のみを選んで使用するとしても表2でみられるごとく液面の高さはかなりの分布範囲があり, たとえば傾斜角8度の培地では液面は1.1 cm から1.8 cm までのひらきがある。

次に斜面培地の高さと同傾斜角度の相関係数は表3のごとく相関係数 -0.830 ± 0.010 ではなくは高い逆相関の関係が成立する。同様に斜面培地の高さと同液面の高さの関係も表4のごとく相関係数 -0.256 ± 0.033 であつて培地の高さの液面に対する影響は6.5%のみであつた。すなわち培地の高さ, 傾斜角度を一定になるように選んで使用しても液面の高さの分布はかなり広範であつて, 液面の高さを一定にすることはきわめて困難である。

次に上記の斜面培地および平面培地を 37°C に3週間直立に培養(キルク

Table 2. Relationship between Culture Media Declination and the Fluid Level Directly after Instillation of 0.5 ml/INH

Fluid level	Culture media declination						Total
	5°	6°	7°	8°	9°	10°	
1.0 cm	1	3	1				5
1.1	2	4	6	2			14
1.2	14	38	53	20	3		128
1.3	15	58	83	71	3		230
1.4	7	46	76	56	8		193
1.5	2	40	82	57	16	2	199
1.6		6	25	22	6	1	60
1.7		4	19	17	12		52
1.8			4	5	2		11
1.9							0
2.0			1				1
Total	41	199	350	250	50	3	893

Correlation coefficient $r=0.298$
Standard deviation $S_r=0.031$

Table 3. Relationship between the Culture Media Declination and the Height of the Culture Media

Height of culture media	Culture media declination						Total
	5°	6°	7°	8°	9°	10°	
8.2~8.9 cm				5	13	2	20
9.0~9.9			5	85	30	1	121
10.0~10.9		1	102	141	5		249
11.0~11.9		50	194	16	2		262
12.0~12.9	19	130	48	3			200
13.0~17.2	22	18	1				41
Total	41	199	350	250	50	3	893

$r=-0.830$, $S_r=0.010$

Table 4. Relationship between the Height of Culture Media and the Fluid Level Directly after Instillation of 0.5 ml/INH

Fluid level	Height of media										Total
	8 cm	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
1.0 cm				2	2					1	5
1.1			5	2	4	1	2				14
1.2	1	8	26	49	32	11	1				128
1.3	3	30	68	56	63	10					230
1.4	2	21	53	60	46	9	2				193
1.5	5	33	53	62	44	2					199
1.6	3	11	23	17	5			1			60
1.7	5	14	16	12	4			1			52
1.8	1	4	4	2							11
1.9											0
2.0			1								1
Total	20	121	249	262	200	33	6	1	0	1	893

$r=-0.256$, $S_r=0.033$

Table 5. Change of Fluid Level of 0.5 ml INH in the Culture Media with Cork Stopper after 3 weeks' Cultivation

Increase or decrease of fluid level	Culture media by ordinary slant		Culture media by crook-necked tube	
-1.4 cm	1			
-1.0	1			
-0.9	2			
-0.8	2			
-0.7	5	195 (19.2%)	31 (7.0%)	
-0.6	8			
-0.5	20		2	
-0.4	34		2	
-0.3	55		8	
-0.2	67		19	
-0.1	77	642 (62.8%)	27	337 (75.2%)
0	471			
+0.1	94			
+0.2	95	183 (18.0%)	51	80 (17.8%)
+0.3	42			
+0.4	22			
+0.5	12			
+0.6	9			
+0.7	3			
Total	1,020		448	

栓使用) 後の液面の高さの変動をみたのが表5である。斜面培地では注入時の液面より 0.2 cm 以上高さが減少したものは 1,020 本中 195 本 (19.2%) であり、0.2 cm 以上液面が高くなったものは 183 本 (18.0%) であつた。平面培地についても液面が 0.2 cm 以上減少したものは 448 本中 31 本 (7.0%) で増加は 80 本 (17.8%) である (0.1 cm の液面の増減は測定誤差を考慮して除外した)。すなわち 3 週間の培養によつて、両培地群ともに 18% の液面の増加がみられたことは少なくともこれらの例では 37°C 48 時間水平に保つて乾燥させてもなお液が培地よりしみ出している証拠である。これは直立拡散法の判定法として「液上面から菌発育前線までの高さを測る」その一つの基点であるべき液上面が静止した点でなく、注入したときの液面より増加もすれば減少もする動点であることを示している。しかも薬液注入直後の液面でさえも斜面培地、平面培地ともかなりの液面の差が認められている。

以上の成績からわれわれは不定の動点である液上面を測定基点として設定するよりも静止点である試験管管底を測定の基点とするほうが順当であると考えらる。

[II] 注入薬剤の重量と濃度 (容量)

斜面培地の凝固水をすてたのち、0.5 mg/cc BCG 菌液

Table 6. Relationship between Weight and Solution Quantity of INH Instilled in Culture Media.

INH 1 γ		Inhibition zone (cm)				Average
Concentration (γ /ml)	Quantity (ml)	Each ease				
1	1.0	7.0	6.9	6.6	6.8	6.66
		6.6	6.3	6.7	6.4	
2	0.5	6.5	6.7	6.3	6.7	6.40
		6.4	6.5	6.0	6.1	
4	0.25	6.7	6.7	6.5	6.2	6.66
		6.7	6.5	7.0	7.0	
6	0.17	6.7	6.8	6.4	7.1	6.71
		7.4	6.6	6.0	6.7	
8	0.13	7.4	7.0	6.8	6.7	6.89
		6.8	6.5	6.9	7.0	
INH 0.2 γ		Inhibition zone (cm)				Average
Concentration (γ /ml)	Quantity (ml)	Each ease				
0.2	0.1	3.8	3.7	3.6	3.7	3.59
		3.5	3.5	3.3	3.6	
0.4	0.5	3.5	3.5	3.9	3.6	3.61
		3.7	3.5	3.8	3.4	
0.6	0.33	3.6	3.7	3.7	3.6	3.60
		4.0	3.5	3.4	3.3	
0.8	0.25	3.1	3.8	3.2	3.7	3.65
		3.7	4.0	3.8	3.9	
1.0	0.20	3.8	3.8	3.6	3.7	3.71
		3.8	3.8	3.7	3.5	

0.1 cc ずつ接種、約 30 分後に 1 γ /cc INH 液 1.0 cc, 2 γ /cc INH 液 0.5 cc, 4 γ /cc INH 液 0.25 cc, 6 γ /cc INH 液 0.17 cc, 8 γ /cc INH 液 0.13 cc をおのおの培地 8 本ずつ管底に注入、そのまま直立にて 3 週間 37°C に培養、菌発育前線までの高さを試験管管底より測定した。すなわち各培地ともに注入した液の量は 1.0 cc から 0.13 cc まで 5 段階に異なつてはいるがその含まれる INH の重量はいずれも 1 γ になるように調整した。表 6 [A] にみられるとおり阻止帯の高さはおのおの平均 6.7, 6.4, 6.7, 6.7, 6.9 cm と大体同一の高さを示した。さらに注入 INH 量を 0.2 γ になるように調整して、0.2 γ /cc INH 液 1.0 cc, 0.4 γ /cc INH 液 0.5 cc, 0.6 γ /cc INH 液 0.33 cc, 0.8 γ /cc INH 液 0.25 cc, 1.0 γ /cc INH 液 0.20 cc を同様各培地 8 本ずつに注入した場合の阻止帯の高さも 3.6, 3.6, 3.6, 3.7, 3.7 cm と同一の高さ

になった。(表6[B])

以上の実験成績は注入した薬剤の重量が一定であれば、注入薬液の容量は異なっても阻止帯は同一の高さを示す(試験管管底から測定して)。すなわち阻止帯の高さを決定する因子は注入した薬剤の総重量に影響されるが、注入した液の容量とは無関係である。

以上[I], [II]の実験から液上面を一方の測定基点とするよりも管底を基点とするべきであると考え(以後の実験成績はとくに記載がない限りすべて管底よりの測定値で示す)。

[III] 菌接種から薬剤注入までの期間ならびに培養期間

菌を接種してから薬液を注入するまでの期間が阻止帯に及ぼす影響を見る目的で、培地1組4本として6組の3%小川培地(斜面培地)計24本に同時に0.5mg/cc BCG菌液を0.1ccずつ接種、菌液接種後すぐに培地4本について1 γ /cc INH液0.5ccを管底に注入、培地を垂直に保つて37°Cに培養した。他の培地は2日、4

日、6日、8日、10日間37°Cに水平に静置後、冷蔵庫に保存した前記のINH液を同様に注入培養した。菌接種から3週、3週+2日、3週+4日、3週+6日、3週+8日、3週+10日目に全培地について阻止帯の高さを測定した成績が表7である。

菌接種から3週目の阻止帯の高さは各組の平均でそれぞれ5.9, 5.4, 4.7, 4.2, 3.7, 2.8cmで菌接種から薬剤注入までの期間が長いほど阻止帯は短くなっている。これは3週+2日、3週+4日等いずれの判定日についてみても同様であり、また薬液注入から3週目の阻止帯の高さについても5.9, 5.4, 4.7, 4.1, 3.6, 2.5cmとまったく同じ傾向を示した。

次に菌接種当日に薬剤注入した組について3週目と3週+8日目(約4週)の阻止帯を比較すると5.9cmと5.7cmでこの間に0.2cmの短縮がみられた。これも各組ともに判定日が高いほど阻止帯は短縮の傾向を示しており、すなわち培養期間が長いほど阻止帯は短くなっていた。

以上の成績から菌接種から薬剤注入までの期間は明らかに阻止帯の高さ決定の一因子であり、また菌接種から判定までの期間も菌株、注入薬剤、使用培地によつて多少の差はあつても阻止帯に影響を与えている。したがつて菌接種から薬剤注入までの期間ならびに判定までの培養期間は常に一定にすべきである。

Table 7. Fluctuation of Inhibition Zone According to the Period from Bacill Inoculation to Drug Instillation (0.1 ml of 0.5 mg/ml BCG, 0.5 ml of 1 γ /ml INH, 3% Ogawa media)

From BCG inoculation to drug in-stillation (days)	From inoculation to the Reading					
	3 Weeks	3 Weeks +2 days	3 Weeks +4 days	3 Weeks +6 days	3 Weeks +8 days	3 Weeks +10 days
0	5.90 cm	5.90 cm	5.85 cm	5.75 cm	5.73 cm	5.68 cm
2	5.40	5.38	5.35	5.23	5.20	5.15
4	4.73	4.73	4.70	4.68	4.65	4.50
6	4.18	4.18	4.13	4.08	4.08	3.98
8	3.68	3.68	3.68	3.65	3.60	3.58
10	2.83	2.80	2.75	2.63	2.55	2.53

- 1) The length of the inhibition zone is the average of 4 cases.
- 2) BCG emulsion, INH solution and culture media were prepared at the same time.
- 3) INH solution was stored in the refrigerator each time used.

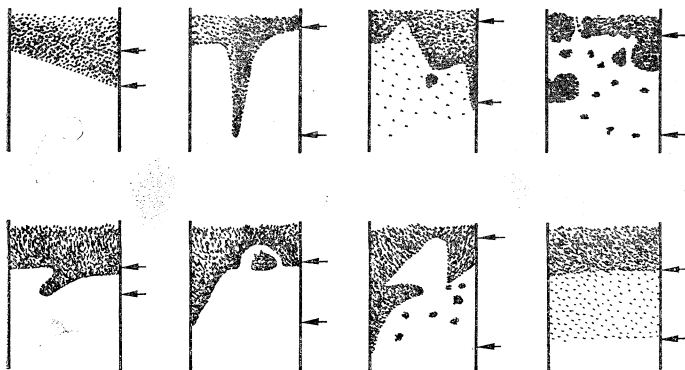
[IV] 阻止帯の測定誤差

BCG菌液を接種、INH液を注入測定した培地1,900本中86本(4.5%)は図1に示すように阻止帯は水平な直線を示さなかつた。この場合われわれは菌が密集しもつとも直線に近いと思われる点を測定点とした。これらの阻止帯の最高と最低の高さの差(図1の矢印参照)はわれわれの86本については0.2cmから2.5cmまでであつたが、大部分は0.5cm前後であつた。

次に同一培地を測定した場合の個人差について検討した。1%小川培地にM. Phleiを接種、1 γ /cc Ethambutolを注入37°C4日間培養した培地60本について、1名が阻止帯の高さを測定した後に他の1名が再び同一培地を測定し、最初の成績との比較結果は次のとおりであつた。

0.2cm高く測定 1本(1.5%)

Fig. 1. The Unevenness of the Inhibition Zone



Arrow shows the highest and the lowest point.

0.1 cm 高く測定	19 本 (32%)
一 致	34 本 (57%)
0.1 cm 低く測定	5 本 (8%)
0.2 cm 低く測定	1 本 (1.5%)

0.1 cm の差は 40% 存在するが、0.2 cm 以上の差は 60 本中 2 本 (3.3%) のみであつた。この 2 本の測定誤差は上記測定点の決め方の差異によるものであつた。すなわち BCG による INH の測定でも、M. Phlei による E. B. の測定でも測定点の決め方によつて阻止帯は 0.5 cm の誤差を見込む必要があり、その出現率は 5% 以下である。

総括考案

Schmiedel^{2),4),5)}, 小川^{3),6),9)}は直立拡散法における測定法として液上面から菌発育前線までを計測すると規定しているが、われわれは液面の動揺に疑問を持ち、薬液注入直後の液面の高さを管底から測定して培地によりかなりの差があることを認めた。しかも Grosset ら⁸⁾がいうように一定の傾斜、一定の高さの培地を選んでも、また小川の平面培地でも液面の高さの分布はかなり広範である。その上 37°C 3 週間培養 (キルク栓使用) で培地の約 30% は液面が 0.2 cm 以上の増または減を示した。すなわち液面は培養によつて必ずしも一定の傾向を示さず、不定に動揺することを認めた。さらに注入薬剤の重量が同一であれば、注入液量が異なつても阻止帯は管底から測つて同一の高さになる実験成績からみても、不定の動点である液面を測定基点とするよりも測定基点は管底におくべきであるとの結論を得た。

また注入液量とは直接的相関がなく注入薬剤の重量が阻止帯の高さ決定の一因子であることは、薬剤が完全に培地内に抽出される条件が得られるならば薬液注入の代りにディスクを使用することも当然可能のはずである。これについては小川⁹⁾, 工藤¹⁰⁾が耐性測定に試みているが、工藤¹⁰⁾はディスクを 5 日以後に投入すると阻止帯は短くなり接種菌量が少ないと長くなるが培地の新旧、長短、凝固時間等はほとんど阻止帯に影響がないといつている。われわれは菌接種から薬剤注入までの期間および培養期間は長くなれば阻止帯は短くなる (表 7) ことを認めており、薬剤注入期間および培養期間は一定に定める必要があると思う。薬剤注入期間については小川⁹⁾は 24 時間 37°C に培地を乾かしてから薬液を注入と規定している以外はほとんど報告がないが、菌量を多量接種できる薬剤濃度測定には菌接種直後薬剤を注入したほうが阻止帯は長くなり、しかも操作が一回ですむ点簡便であるのでわれわれは日常菌接種直後薬剤注入する方法を採用している。

直立拡散法の信頼度に関しては、2 つの測定結果が 3 倍以内の濃度差では有意の差として判定することは困難

であるとともに報告した¹¹⁾が、測定手技のうえからも INH, E. B. においては、同一人でもまた別人で測定しても測定部位の決め方によつて 0.5 cm の測定誤差は起こりうると考えられ、その起こりうる可能性は 5% 以下である。

結 論

(1) 直立拡散法の判定に関する基礎的検討を行なつた。

(2) BCG を接種した斜面培地 1,020 本および平面培地 448 本について INH 液 0.5 cc 注入直後の管底から液面までの高さは斜面培地で 1.0~2.1 cm, 平面培地で 0.7~1.2 cm の分布があり、培地の高さ、傾斜角度を一定にしても液面の差はかなり広範であつた。

(3) 37°C 3 週間培養による液面の変動は斜面培地で 37.2%, 平面培地で 24.8% が 0.2 cm 以上の増または減を示した。

(4) 注入薬剤重量が一定であれば、注入液量が異なつても管底よりの阻止帯の高さは同一である。

(5) 以上 (2), (3), (4) の成績から直立拡散法の測定法としては、不定の動点である液面よりも管底を測定基点とするべきであると考えられる。

(6) 菌接種から薬剤注入までの期間および培養期間は常に一定に決める必要がある、両者ともに期間が長くなれば阻止帯は短くなる傾向がある。したがつて薬剤濃度測定には菌接種直後薬剤を注入したほうが阻止帯は長くなり操作も簡便である。

(7) BCG 接種 INH 液注入における阻止帯の測定部位の決め方によつて 0.5 cm 前後の測定誤差は起こりうる。その出現率は 5% 以下である。M. Phlei 接種 E. B. 測定においても同様である。

本論文の要旨は第 38 回結核病学会総会 (結核 38-8, 374) で報告した。

文 献

- 1) Tinne, J. E.: Lancet, 30 : 901, 1950.
- 2) Schmiedel, A.: Beitr. Klin. Tbk., 112 : 475, 1954.
- 3) 小川政敏: 日本臨牀結核, 16 : 417, 1957.
- 4) Schmiedel, A.: Z. Tbk., 112 : 48, 1958.
- 5) Schmiedel, A.: Beitr. Klin. Tbk., 119 : 206, 1958.
- 6) Ogawa, M.: Ann. Rep. Japan. Ass. Tbc., 3 : 117, 1958.
- 7) 飯尾正明: 結核研究の進歩, 27 : 221, 1959.
- 8) Grosset, J., et Canetti, G.: Rev. Tbc. et Pneum., 24 : 633, 1960.
- 9) 小川政敏: 結核, 36 : 475, 1961 [第 36 回結核病学会シンポジウム].
- 10) 工藤祐是他: 結核, 38 : 374, 1963 [第 38 回結核病学会演説].
- 11) 馬場治賢他: 日本胸部臨床, 23 : 862, 1964.