

第 67 回総会会長講演

抗酸菌の細菌学的検査法

斎藤 肇

島根医科大学微生物・免疫学

受付 平成 5 年 2 月 1 日

The 67th Annual Meeting President Lecture

BACTERIOLOGICAL EXAMINATION OF ACID-FAST BACILLI

Hajime SAITO *

(Received for publication February 1, 1993)

New technologies for isolation or identification of mycobacteria, such as BACTEC 460 TB System, MB Check System, polymerase chain reaction (PCR) and DNA probe test, were introduced, and their usefulness was evaluated on the basis of studies in my laboratory.

Key words : Mycobacteria, Rapid diagnosis, BACTEC system, MB Check, PCR, DNA probes

キーワード : 抗酸菌, 迅速診断, BACTEC システム, MB チェック, PCR, DNA プローブ

緒 言

抗酸菌症の確定診断には抗酸菌を分離培養し, 同定することにあることは今さらいうまでもない。この場合, なかでも結核菌は発育が遅く, 初代分離には少なくとも 3 週間, その最終判定には 8 週間を要する。さらに分離菌の同定, 薬剤感受性試験成績を得るまでにはさらに数週間を要するので, 必要とするこれらの情報をうるまでにはかなりの長期間を要することになる。他方, 結核菌の分離培養において, なかなく rifampicin の登場以来, 塗抹陽性・培養陰性菌の存在, さらに近年, 米国において HIV 感染者における結核患者の増加あるいは多剤耐性結核菌による集団発生¹⁾, *Mycobacterium avium* complex (MAC) による日和見感染²⁾ が注目されている。

このような背景のもとに結核 (抗酸菌症) の早期診断・

治療を行うために結核菌の早期検出と検出率の向上を企図して, 培地や培養法の改良が種々こころみられている。近年, 米国をはじめとする欧米諸国においては, radiometric な BACTEC 460 TB System³⁾⁴⁾ が導入され, 本法は抗酸菌の早期検出と検出率の向上並びに分離菌の鑑別と薬剤感受性試験のためのすぐれた方法として推奨されており, また本法を改良し, 一般検査室でも容易に行いうるような non-radiometric system の開発が試みられている。他方, 最近の分子生物学的新技術の抗酸菌領域への導入により, DNA プローブ法や polymerase chain reaction (PCR) などによる抗酸菌 (結核菌) の迅速診断が臨床検査にひろく利用されるようになるのであろうことが期待されている。

以下, 抗酸菌, なかなく結核菌並びに MAC の細菌学的検査法についての最近の進歩の一端を私の研究室においてえられた知見を中心として紹介したい。

* From the Department of Microbiology and Immunology, Shimane Medical University, Izumo 693 Japan.

A. 抗酸菌培養法

I. BACTEC 460 TB System

抗酸菌の検出に radiometric 法をはじめ導入したのは Cummings ら⁵⁾である。その後、Middlebrook ら⁶⁾は ^{14}C パルミチン酸と選択複合抗菌剤 PACT (polymyxin B, amphotericin B, carbenicillin, trimethoprim) 含有 7H12 培地を用いた喀痰からの結核菌の radiometric な検査により、Löwenstein-Jensen 培地や 7H10 培地を用いた従来法よりも検出率の向上、検出所要日数の短縮されることを報告した。本法はその後改良が加えられ、近年になって Siddiqi³⁾ による BACTEC 460 TB System の開発に至った。

BACTEC 460 TB System での菌の分離培養には Middlebrook 7H9 培地にカゼイン水解物、 ^{14}C パルミチン酸、選択複合抗菌剤 PANTA (polymyxin B, amphotericin B, nalidixic acid, trimethoprim, azlocillin) および発育促進物質 POES (polyoxyethylene stearate) を加えた Middlebrook 7H12 培地 (BACTEC 12B 培地) バイアルに (前処理) 検体を接種し、 CO_2 環境下で培養し、抗酸菌 (結核菌) の増殖に伴ってバイアル内に遊離する $^{14}\text{CO}_2$ を BACTEC 460自動機器で測定し、その放射能の量を Growth index (GI) で表し、菌増殖の有無・程度を知ろうとするものである。また、本システムでは BACTEC 12B 培養菌を用いて NAP (*p*-nitro- α -acetylaminob- β -hydroxy-prp-iophenone) 1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に対する感受性差を利用して結核菌群 (感受性) と非結核性抗酸菌 (耐性) との鑑別 (NAP テスト) 並びに薬剤感受性試験も容易かつ短期間に行いうるし、またコード形成の有無も観察できる。

以下、私の教室で行った本システムと小川法による患者喀痰よりの抗酸菌検査の比較成績を示す。

1. 検査法⁷⁾

供試喀痰の直接塗抹標本を作製後、4倍量の4%

NaOH で約2分間前処理し、その0.1 ml を3%小川培地へ接種する。残りの前処理喀痰にはPR含有リン酸緩衝液を加え、HCl で中和後、さらにリン酸緩衝液を注加して遠心し、えられた沈渣を少量のリン酸緩衝液に浮遊し、その0.5 ml を BACTEC 12B バイアル (5% CO_2 -95% 空気環境) へ接種し、37°C で培養する。そして、BACTEC 法では $\text{GI} \geq 10$ となったものを培養陽性とし、 $\text{GI} \geq 50$ となった培養液を NAP 5 μg 含有ディスクの入った BACTEC NAP 感受性テストバイアルへ接種し GI 値の増大の有無による結核菌群と非結核性抗酸菌との鑑別、 $\text{GI} \geq 999$ になった培養液を用いた DNA プローブテスト、また1%小川培地継代菌並びに3%小川培地初代分離培養菌についても上述の諸性状の検査も行つて分離菌を同定した。

2. 成績

(1) 抗酸菌検出率

Table 1 に示すように供試179検体のうち抗酸菌培養陽性例は、小川法では56検体 (31.3%)、BACTEC 法では78検体 (43.6%) で、BACTEC 法において小川法におけるよりも有意に多かった。これらのうち、直接塗抹陰性・培養陽性例は小川法では21検体 (11.7%)、うち14検体から結核菌群が分離されたのに対して BACTEC 法では39検体 (21.8%)、うち27検体から結核菌が分離されたことは注目に値する。これに対して、塗抹陽性・培養陽性例では両法間に大差はなかった。なお、BACTEC 法陰性・小川法陽性検体は1例もなかった。

いま、結核菌群および MAC の累積培養陽性率についてみると図に示すように、1週後では結核菌群では BACTEC 法で32.1%、小川法で0%、MAC では BACTEC 法で91.3%、小川法で0%、2週後では結核菌群では BACTEC 法で64.1%、小川法で5.4%、MAC では BACTEC 法で100%、小川法で11.1%、また4週後では結核菌群では BACTEC 法で96.2%、小川法で83.7%、MAC では BACTEC 法で100%、

Table 1 Isolation of Mycobacteria from 179 Sputum Samples by Ogawa Method and BACTEC System

Species	Ogawa method			BACTEC system		
	Direct Smear			Direct Smear		
	Negative	Positive	Negative/Positive	Negative	Positive	Negative/Positive
<i>M. tuberculosis</i> complex	14	23	37	27	26	53
<i>M. avium</i> complex	6	12	18	10	13	23
<i>M. kansasii</i>	1	0	1	1	0	1
<i>M. scrofulaceum</i>	0	0	0	1	0	1
Total	21 (11.7%)*	35 (19.6%)	56 (31.3%)	39 (21.8%)	39 (21.8%)	78 (43.6%)

* : Number of positive cultures/179 test samples \times 100.

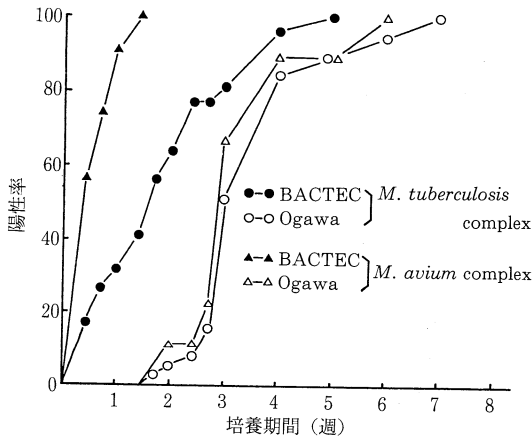


図 小川法並びに BACTEC 法による累積培養陽性率

小川法で 88.8 %であった。いま 100 %陽性となるに要する期間についてみると結核菌群では BACTEC 法で 5 週間、小川法で 7 週間、また MAC では BACTEC 法で 2 週間、小川法で 6 週間であった。

(2) 検出所要日数

Table 2 に示すように、結核菌群と同定された小川法分離 37 菌株では 12~49 日(平均 26 日)であったのに対して、BACTEC 法分離 53 株では 3~35 日(平均 14 日)であり、BACTEC 法において小川法におけるよりも平均 12 日の検出所要日数の短縮がみられた。このうち、塗抹陰性検体についてみると、小川法分離 14 菌株では平均 28 日、BACTEC 法分離 27 菌株では平均 18 日、また塗抹陽性検体についてみると、小川法分離 23 菌株では平均 25 日、BACTEC 法分離 26 菌株では平均 9 日であった。他方、MAC と同定された小川法分離 18 菌株では 14~42 日(平均 24 日)であったのに対して、BACTEC 法分離 23 菌株では 3~10 日(平均 5 日)であり、BACTEC 法において小川法におけるよりも平均 19 日の検出所要日数の短縮がみられた。このうち、塗抹陰性検体についてみると、小川法分離 6 菌株で

は平均 27 日、BACTEC 法分離 10 菌株では平均 6 日、また塗抹陽性検体についてみると、小川法分離 12 菌株では平均 22 日、BACTEC 法分離 13 菌株では平均 3 日であった。

(3) 培地汚染率

小川法で 2.8 %, BACTEC 法で 1.1 %であった。

(4) NAP テスト

BACTEC 法で分離された 78 菌株 (Table 1 参照) についての NAP テストでは表は省略したが、結核菌群と同定された 53 菌株はすべて NAP 感受性、MAC (23 株)、*M. kansasii* (1 株) 並びに *M. scrofulaceum* (1 株) と同定された菌株はすべて NAP 抵抗性であったことより、本テストは結核菌群と非結核性抗酸菌の鑑別上極めて有用な方法といえよう。

II. MB チェックシステム

MB チェックシステム「ロッシュ」は F. Hoffmann-La Roche 社 (Basel, Switzerland) によって最近開発された抗酸菌の迅速診断法である⁸⁾。本法と小川法による抗酸菌症患者喀痰よりの抗酸菌の比較検査成績についてはすでに私たちの報告したところであり、要約すると以下のようであった⁹⁾。

1) MB チェックシステムは小川法に比べ菌検出率が多少なりとも高く、集落初発所要日数を約 1 週間短縮しえた。

2) MB チェックシステムでの NAP テストは結核菌群と非結核性抗酸菌との鑑別上役立つ。これは本法では上述の BACTEC 460 TB System における NAP テストと異なり、長期間 (7~28 日) の培養のため、その間に NAP の失活がおり、その選択性を失うものと思われる。

III. Middlebrook 7H9 変法培地培養法

PANTA および POES (前頁参照) を添加した 7H9 培地に前処理喀痰 (前頁参照) を移植することによって、小川法におけるよりも結核菌 (抗酸菌) の検出率の向上並びに検出所要日数の短縮をすることができた¹⁰⁾。

Table 2 Recovery Day of *M. tuberculosis* Complex and *M. avium* Complex from 179 Sputum Samples, Using Ogawa Method and BACTEC System

Culture method or system	<i>M. tuberculosis</i> complex						<i>M. avium</i> complex					
	Direct smear						Direct smear					
	Positive/Negative		Negative		Positive		Positive/Negative		Negative		Positive	
	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days	No. of strains	Recovery days
Ogawa	37	12~49(26)	14	21~49(28)	23	12~49(25)	18	14~42(24)	6	21~42(27)	12	14~28(22)
BACTEC	53	3~35(14)	27	3~35(18)	26	3~28(9)	23	3~10(5)	10	3~10(6)	13	3~7(3)

In parentheses, mean days are indicated.

B. 抗酸菌同定法

I. DNA プローブ

近年, DNA プローブによる抗酸菌の迅速同定法が Gen-Probe 社 (San Diego, Calif., U.S.A.) によって開発, 商品化され, 私達もいち早くその有用性について報告するところがあった¹¹⁾¹²⁾ が, 最近になってわが国でもそのあるものはすでに実用化の段階に入っている。

(1) 種類

M. tuberculosis complex, *M. avium*, *M. intracellulare* 並びに *M. gordonae* の各々の標的菌よりの rRNA に相補的な ¹²⁵I 標識 DNA プローブを用いた

Gen-Prpbe® Rapid Diagnostic System, *M. tuberculosis* complex, *M. avium* complex 並びに *M. gordonae* の各々の標的菌よりの rRNA に相補的な acridinium ester 標識 DNA プローブを用いた AccuProbe™ Culture Confirmation Test 並びに *M. kansasii*, *M. avium* および *M. intracellulare* の AccuProbe™ Culture Identification Test がある。

(2) 原理

標的菌株より抽出した rRNA と上述した DNA プローブとを反応させる。放射性プローブでは hybridize した DNA を hydroxyapatite に吸着, 遠心分離し, 沈渣中の放射性活性を gamma counter で計測して %

Table 3 Reactivities of Various Mycobacteria with DNA Probe Specific for *M. tuberculosis* Complex, *M. avium* or *M. intracellulare*

菌種	菌株数	% Hybridization ^{a)}		
		<i>M. tuberculosis</i> complex	<i>M. avium</i>	<i>M. intracellulare</i>
<i>M. tuberculosis</i>	23	45.8-51.9 (49.3)	1.0-1.6 (1.3)	1.2-2.5 (1.6)
<i>M. bovis</i>	11	42.8-49.1 (45.5)	0.9-1.8 (1.4)	0.9-1.8 (1.4)
<i>M. africanum</i>	6	43.8-49.6 (46.6)	0.8-1.3 (1.1)	0.9-1.2 (1.0)
<i>M. microti</i>	1	44.7	1.3	1.0
<i>M. avium</i>	16	1.0-1.7 (1.2)	24.9-54.9 (47.6)	0.7-5.6 (1.8)
<i>M. intracellulare</i>	12	0.9-1.9 (1.3)	9.6-0.7 (2.6)	31.7-42.0 (35.4)
<i>M. kansasii</i>	2	1.3, 1.4	1.1, 1.1	1.6, 1.7
<i>M. marinum</i>	2	1.0, 1.1	0.9, 1.3	1.2, 1.3
<i>M. simiae</i>	2	1.1, 1.2	0.9, 2.0	1.6, 1.7
<i>M. asiaticum</i>	2	1.0, 1.4	0.7, 1.1	1.1, 1.1
<i>M. scrofulaceum</i>	2	0.9, 1.0	1.0, 1.0	1.2, 1.7
<i>M. gordonae</i>	2	0.9, 1.1	0.9, 1.6	1.1, 1.3
<i>M. szulgai</i>	1	1.1	1.0	2.6
<i>M. malmoense</i>	1	0.8	0.9	1.2
<i>M. xenopi</i>	2	1.1, 3.6	0.8, 0.9	1.3, 1.6
<i>M. gastri</i>	2	1.3, 1.7	0.9, 1.1	1.6, 2.1
<i>M. nonchromogenicum</i>	2	0.9, 1.2	1.1, 1.3	1.3, 1.7
<i>M. terrae</i>	2	1.1, 1.8	0.9, 1.0	1.3, 1.4
<i>M. triviale</i>	2	0.8, 1.1	0.8, 0.9	1.1, 1.2
<i>M. fortuitum</i>	2	0.9, 1.0	0.8, 0.8	1.2, 1.7
<i>M. chelonae</i> subsp. <i>abscessus</i>	2	0.7, 0.9	0.7, 1.0	1.3, 2.2
<i>M. chelonae</i> subsp. <i>chelonae</i>	2	0.7, 0.8	0.6, 0.9	0.9, 1.2

a) : 陽性値 ≥ 10 %

hybridization を算出し、その値が10%以上のものをもって陽性とする。他方、acridinium ester (AE) を用いた AccuProbe の hybridization protection assay の原理は以下に述べるようである。AE 標識 DNA プロブは相補的なターゲット領域とハイブリッドを形成し、このとき DNA プロブのアクリジン骨格はハイブリッドの塩基対間にインターカレーションすると考えられている。いま加水分解液(テトラホウ酸ナトリウム)を加えると未反応の AE はエステル結合が切れて失活するが、ハイブリッド中の AE は隣接塩基対間にインターカレーションしているため、加水分解作用を受けることなく選択的に保護される。この場合 H₂O₂ を加えると AE よりシクロディオキシエタン中間体が形成され、本物質は化学反応によるエネルギーを蓄えているが、非常に不安定であるため安定なメチルアクリドンに変わり、このとき放出されるエネルギーが発光として検出される。この化学発光の RLU (relative light unit) をルミノメーターで測定し、30,000 RLU 以上のものをもって陽性とする。

(3) 検討成績

① *M. tuberculosis* complex, *M. avium* および *M. intracellulare* 各 Gen-Probe と諸種抗酸菌との反応性

Table 3 は *M. tuberculosis* complex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*) 菌株は *M. tuberculosis* complex の Gen-Probe との

み、*M. avium* 菌株は *M. avium* の Gen-Probe とのみ、また *M. intracellulare* 菌株は *M. intracellulare* の Gen-Probe とのみ反応し、他菌種との間の反応はみられなかった。したがって、これらのプローブはわが国において臨床上しばしば遭遇する *M. tuberculosis*, *M. avium* および *M. intracellulare* の鑑別・同定上極めて有用なものと考えられる。

② 肺抗酸菌症分離抗酸菌の同定

国立療養所広島病院入院患者喀痰よりの小川培地上初代分離の8週間培養菌についての Gen-Probe テストによる同定成績と当該病院検査室での従来法による同定成績との間には完全な一致がみられた (Table 4 参照)。

③ 本邦由来 MAC の Gen-Probe による同定成績

わが国の主として国立療養所入院患者より分離され、生物学的・生化学的諸性状によって MAC と同定された菌株 232 株の *M. avium*・*M. intracellulare* Gen-Probe による同定成績は Table 5 に示すように、従来法と比較して感度 99%、特異性 100%であり、極めてすぐれた同定法といえよう。なお、本邦由来 MAC には *M. avium*, *M. intracellulare* あるいは MAC のいずれのプローブとも反応しない菌株が 1~2%存在しているが、現在のところかかる菌株の分類学的位置づけについては全く不明といわざるをえない。

④ Scotochromogenic 抗酸菌の Gen-Probe テスト

Table 6 は AIDS 患者(米国)並びに非 AIDS 患

Table 4 Gen-Probe Test for Disease-Associated Mycobacterial Strains
— National Sanatorium Hiroshima Hospital —

Gen-Probe			Conventional identification
<i>M. tuberculosis</i> complex	<i>M. avium</i>	<i>M. intracellulare</i>	
20	0	0	<i>M. tuberculosis</i>
0	3	0	<i>M. avium</i>
0	0	5	<i>M. intracellulare</i>

Table 5 Correlation between Conventional Identification Test and Gen-Probe Assay for the *M. avium* complex

Mycobacterium avium complex
Conventional culture/Biochemical test

		+	-
Gen-Probe assay	+	230	0
	-	2	1 *

* *M. gordonae*

者(本邦)由来の scotochromogenic 抗酸菌の Gen-Probe テスト並びに α 抗原¹³⁾ 検査成績を示したものである。これらから分かるように AIDS 由来のいずれの血清型菌も Gen-Probe で *M. avium* と同定され、MAC の α 抗原を有したが、非 AIDS 由来菌にはかかる菌株はなく、存在する α 抗原より *M. scrofulaceum* あるいは *M. gordonae* と同定された。AIDS 由来 *M. avium* 株に scotochromogenic な抗酸菌のあることは留意すべきであろう。

⑤ *M. kansasii* および *M. gordonae* の AccuProbe

Table 7 に示すように、*M. kansasii* の AccuProbe は *M. kansasii* とのみ反応し、他種 I 群菌 (*M. simiae*, *M. asiaticum*, *M. marinum*) 並びに II 群菌 (*M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. flavescens*) のいずれとも反応したものはなく、また *M. gordonae* の AccuProbe は *M. gordonae* とのみ反応し、他種 II 群菌並びに I 群菌のいずれとも反応したものはなく、これらのプローブの有用性が示された。

(4) 問題点

今後わが国でひろく用いられるようになるであろうと

思われる *M. tuberculosis* complex, MAC, *M. kansasii* 並びに *M. gordonae* の各 AccuProbe によってわが国における肺抗酸菌症の原因菌の少なくとも 95% 以上は迅速かつ正確に同定することが可能であろう。先に私たち¹⁰⁾ が報告したように、BACTEC 460 TB System での BACTEC 12B 培地、あるいは 7H9 変法培地での発育菌を用いて DNA プローブテストを行うことにより、小川培地上発育菌を用いる現行法におけるよりも早期に菌種の同定が可能である。しかし、現在までのところはいずれも培養菌同定用 DNA プローブに限られており、将来的には喀痰中の抗酸菌を直接同定しうるようなプローブの開発、また望むらくはわが国の肺抗酸菌症の原因菌として稀に分離されることのある *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. nonchromogenicum* complex, *M. fortuitum* complex などのプローブの開発が期待される。

II. Polymerase chain reaction (PCR)

臨床材料(喀痰、髄液など)中の結核菌(抗酸菌)の DNA を抽出し、polymerase chain reaction (PCR) によって、菌を培養することなく検体中の結核菌(抗酸菌)の有無の判定、同定が出来れば 1~2 日で結核の診

Table 6 Gen-Probe Test of Scotochromogenic Mycobacteria

Source	Number of strains	Serovar	Identification	
			Gen-Probe	α -antigen
AIDS	26	4	<i>M. avium</i>	MAC
	4	8	<i>M. avium</i>	MAC
	1	9	<i>M. avium</i>	MAC
Non-AIDS	25	ND	ND	<i>M. scrofulaceum</i>
	3	ND	ND	<i>M. gordonae</i>

Table 7 Reactivity of Representative Group I and Group II Organisms to *M. kansasii* and *M. gordonae* AccuProbe

Group	Species	Number of strains	RLU *	
			<i>M. kansasii</i>	<i>M. gordonae</i>
I	<i>M. kansasii</i>	32	498, 627	2, 007
	<i>M. simiae</i>	7	4, 273	1, 897
	<i>M. asiaticum</i>	8	5, 031	2, 358
	<i>M. marinum</i>	10	2, 021	1, 658
II	<i>M. scrofulaceum</i>	20	4, 497	1, 828
	<i>M. gordonae</i>	35	4, 270	233, 542
	<i>M. flavescens</i>	12	1, 939	1, 306

* Positive \geq 30,000 RLU

断が可能となる。しかし、現在までのところ、微量排菌検体については必ずしも満足すべき成績はえられていない¹⁴⁾。これは抗酸菌の細胞壁が一般細菌におけるよりも強固であるため、検体中の微量の抗酸菌から効率のよいDNA抽出法を検討し、反応感度をより高める必要があると考えられる。したがって、現在われわれはMiddlebrook 7H12培地（非放射性パルミテイト含有）で前処理喀痰中の抗酸菌を多少とも増菌し、それについてPCRを行う検討を進めている。

Ⅲ. その他

プロモフェナシルエステルミコール酸の high-performance liquid chromatography (HPLC) 分析による抗酸菌の同定法¹⁵⁾ が米国においてすでに実用化の段階にある。

む す び

抗酸菌、なかんずく結核菌の迅速診断法は、結核を早期に診断し、治療あるいは未感染者への感染防止の上に極めて重要な課題であり、わが国でもこの方面の研究が活発に行われることが望まれる。

文 献

- Hopewell PC : Impact of human immunodeficiency virus infection on the epidemiology, clinical features, management, and control of tuberculosis. *Clin Infect Dis.* 1992 ; 15 : 540-547.
- Horsburgh CR, Jr and Selik RM : The epidemiology of disseminated nontuberculous mycobacterial infection in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Am Rev Respir Dis.* 1989 ; 139 : 4-7.
- Siddiqi SH : BACTEC TB System. Product and Procedure Manual, Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Towson, Maryland, U.S.A., 1988.
- 斎藤 肇 (監修) : Siddiqi, S. H. 著, BACTEC TB System, 抗酸菌迅速検査装置, 製品及び操作説明書, 日本ベクトン・ディッキンソン株式会社, 東京, 1991.
- Cummings DM, Ristroph D, Camargo EE, et al. : Radiometric detection of the metabolic activity of *Mycobacterium tuberculosis*, *J Nucl Med.* 1975 ; 16 : 1189-1191.
- Middlebrook G, Reggiardo Z and Tigertt W D : Automatable radiometric detection of growth of *Mycobacterium tuberculosis* in selective media. *Am Rev Respir Dis.* 1977 ; 115 : 1066-1069.
- 斎藤 肇, 佐藤勝昌, 富岡治明, 他 : BACTEC 460 TB SYSTEM による結核菌 (抗酸菌) の迅速診断法, *結核.* 1992 ; 67 : 89-93.
- MB チェックシステムマニュアル : MB チェックシステム「ロシュ」; 抗酸菌培養システム, 日本ロシュ, 東京, 1990.
- 斎藤 肇, 富岡治明, 佐藤勝昌, 他 : MB チェックシステムによる抗酸菌の迅速診断法, *結核.* 1992 ; 67 : 535-538.
- 富岡治明 : 臨床細菌学の進歩と今後の展望, *結核.* 1993 ; 68 : 35-41.
- 斎藤 肇, 富岡治明, 佐藤勝昌, 他 : Gen-Probe[®] による *Mycobacterium avium-intracellulare* Complex の鑑別・同定, *結核.* 1988 ; 63 : 261-264.
- Saito H, Tomioka H, Sato K, et al. : Identification of various serovar strains of *Mycobacterium avium* complex using DNA probes specific for *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. *J Clin Microbiol.* 1990 ; 28 : 1694-1697.
- Tasaka H, Nomura T and Matsuo Y : Specificity and distribution of alpha antigens of *Mycobacterium avium-intracellulare*, *Mycobacterium scrofulaceum*, and related species of mycobacteria. *Am Rev Respir Dis.* 1985 ; 132 : 173-174.
- 山崎利雄, 中村玲子 : ポリメラーゼ・チェイン・リアクション (PCR) 法による抗酸菌の検出, *結核.* 1992 ; 67 : 441-447.
- Butler WR and Kilburn JO : Identification of major slowly growing pathogenic mycobacteria and *Mycobacterium gordonae* by high-performance liquid chromatography. *J Clin Microbiol.* 1988 ; 26 : 50-53.