

原 著

核酸 (rRNA) 増幅を応用した結核菌直接検出法
(Gen-Probe ; MTD) の臨床的検討

— 小川培地と液体培地 (MB チェック) との比較を中心として —

青 柳 昭 雄 ・ 豊 田 丈 夫 ・ 大 角 光 彦

国立療養所東埼玉病院内科

北 原 一 司 ・ 紺 野 新 吉

同 検査部

吉 村 忠 司 ・ 宮 城 千 恵 子 ・ 後 藤 進

中外製薬株式会社診断科学研究所

受付 平成5年6月30日

EFFICACY OF THE "GEN-PROBE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
DIRECT TEST (MTD)" FOR DETECTION OF *MYCOBACTERIUM*
TUBERCULOSIS IN CLINICAL SPECIMENS

— Comparison between the MTD and the Test by Culture on Ogawa's
Egg Medium or in the MB Check System —

Teruo AOYAGI*, Takeo TOYODA, Mitsuhiro OSUMI, Kazushi KITAHARA,
Shinkichi KONNO, Tadashi YOSHIMURA, Chieko MIYAGI
and Susumu GOTO

(Received for publication June 30, 1993)

Three or more weeks are usually required for detecting *Mycobacterium tuberculosis* by the known culture methods, and therefore, the development of a rapid bacteriological diagnostic method for *M. tuberculosis* has been urgently awaited. Recently, Gen-Probe Inc. has developed the "Gen-Probe Mycobacterium Tuberculosis Direct Test (MTD)", which is based on amplification of the ribosomal RNA (rRNA) of *M. tuberculosis* in clinical specimens and hybridization of the amplified rRNA with a *M. tuberculosis*-specific DNA probe, as a rapid direct diagnostic method for tuberculosis.

We therefore compared the sensitivity and specificity of the MTD in detecting *M. tuberculosis* with the culture methods on Ogawa's egg medium and in the MB Check

* From the Department of Internal Medicine, National Higashi-Saitama Hospital, 4147 Kurohama, Hasuda-City, Saitama 349-01 Japan.

System, using 107 clinical specimens as test material. The results obtained are as follows :

1. Of the 61 clinical specimens which were negative when cultured on Ogawa's egg medium, 13 (21.3%) were positive for *M. tuberculosis* using the MTD, and of the 48 clinical specimens which were negative when cultured in the MB Check System, 8 specimens (16.7%) were positive for *M. tuberculosis* using the MTD.

2. All of the specimens which yielded growth of *M. tuberculosis* (identified by the DNA probe) either on Ogawa's egg medium or in the MB Check System, except one, were positive for *M. tuberculosis* in the MTD. The only one exception was a specimen which was positive for *M. tuberculosis* in both Ogawa's medium and the MB Check System.

3. Of the 28 specimens which yielded growth of atypical mycobacteria (identified by the DNA probe) in cultures, 27 specimens were negative for *M. tuberculosis* in the MTD.

4. The specimens which were negative both on Ogawa's egg media and in the MB Check System but positive for *M. tuberculosis* in the MTD must have contained few tubercle bacilli, because the clinical status of the 6 patients from whom these specimens were taken suggested that their tuberculosis was still active.

Based on these results, we concluded that the MTD is a very efficient method of direct detection of *M. tuberculosis* in clinical specimens and for the rapid diagnosis of tuberculosis.

Key words : rRNA, MB Check, MTD

キーワード : リボソーム RNA, MB チェック, rRNA 増幅結核菌検査法

現在、わが国の結核菌検査は通常小川培地による培養検査が行われ、塗抹検査に比しかなり感度が優れている。しかしながらこの方法は成績判定までに3週間以上を要し、より迅速で感度の良い結核菌検査法の開発が望まれていた。

このたび、米国 Gen-Probe 社にて結核菌の rRNA を増幅し、結核菌に特異的な DNA プローブとこの増幅産物 (RNA) が形成した RNA-DNA ハイブリッドを HPA 法 (Hybridization Protection Assay)¹⁾ により測定し、臨床検体中の結核菌を直接検出する結核菌検査法 (MTD : Gen-Probe Mycobacterium Tuberculosis Direct Test) が開発された²⁾。

われわれは、本検査法の感度および特異性などについて小川培地および液体培地 (MB チェック) との比較を中心に臨床的検討を行ったのでその成績を報告する。

研究対象ならびに方法

1. 対象検体

対象検体は 1992 年 11 月 5 日より 12 月 24 日 (胸水の 1 検体は 1993 年 2 月) の間に国立療養所東埼玉病院検査室に抗酸菌検査のために提出された、入院ならびに外来患者よりの喀痰 105 検体および胸水 2 検体である。

2. 検査方法

1) 前処理ならびに培養同定方法

喀痰 1-2 ml を目盛り付きの遠心管に入れ、喀痰と等量の NALC-NaOH 液 (2.94% Sodium Citrate, 1N NaOH 50 ml, N-acetyl-L-cystein 0.25 g) を遠心管に入れ、20 秒間攪拌、室温で 15 分間放置、0.067M リン酸緩衝液 (pH 6.8) で 10 ml までメスアップした。充分攪拌し、3,000g で 15 分間遠心後上清を捨て、0.067M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 1 ml を加え攪拌した。この液の 0.1 ml を 2 本の小川 K 培地にそれぞれ接種、0.2 ml を 1 本の MB チェックに接種し、残りは 1 ml のチューブに移し、-20°C にて保存し MTD 検査に供した。

なお、培地は小川 K 培地 (極東製薬) および MB チェック (日本ベクトンディッキンソン) を用い、同定はアキュプローブ結核菌群同定 (中外製薬)、マイコバクテリウム アビウム イントラセルラー同定用-DNA プローブ「中外」(中外製薬) および DDH マイコバクテリア「極東」(極東製薬) を用いた。

2) MTD 測定方法

図に測定操作法を示す。増幅は rRNA を標的とし、RNA 依存性 DNA ポリメラーゼ活性、RNaseH 活性および DNA 依存性 DNA ポリメラーゼ活性の 3 つの酵素活性をもつ逆転写酵素並びに DNA 依存性 RNA ポリメラーゼを用いて行われる。すなわち、プライマーと逆転写酵素 (RNA 依存性 DNA ポリメラーゼ活性)

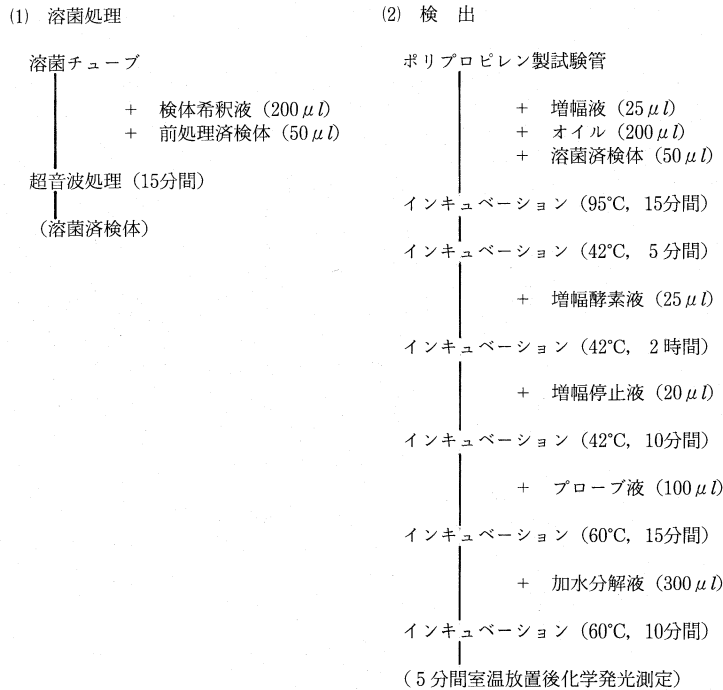


図 MTD の操作方法

により rRNA に相補的な DNA が合成され、逆転写酵素 (RNaseH 活性) により RNA 鎖が分解され一本鎖の DNA となり、この DNA を鋳型としてプライマーと逆転写酵素 (DNA 依存性 DNA ポリメラーゼ活性) により二本鎖 DNA が、ついで二本鎖 DNA を鋳型として RNA ポリメラーゼにより多量の RNA が合成される。この RNA を DNA プローブを用いた HPA 法により検出する。

MTD の実際の操作は、上記のごとく行った前処理済検体 50 μ l を、あらかじめ検体希釈液 200 μ l を添加した溶菌チューブに採取し室温で 15 分間超音波処理を行った。この処理済検体 50 μ l を、増幅液 (プライマー、dNTPs, NTPs を含む) 25 μ l と反応液をカバーする目的でオイル 200 μ l を添加したチューブに採取し、95°C で 15 分間インキュベーションした後、さらに 42°C で 5 分間放置後上記の増幅酵素液 (逆転写酵素、RNA ポリメラーゼを含む) 25 μ l を添加し 2 時間インキュベーションした。増幅停止液 20 μ l を加え 42°C で 10 分間インキュベーションした後、プローブ液 100 μ l を添加し 60°C で 15 分間インキュベーションした後、加水分解液 300 μ l を加え 60°C で 10 分間インキュベーションした。チューブを室温で 5 分間放置後ルミノメーターで化学発光を測定した。化学発光強度は RLU (relative light unit) で表し 30,000 RLU 以上を陽性、30,000 RLU 未満を陰性とした。

研究結果

塗抹、小川 K 培地 (以下小川と略)、MB チェックおよび MTD との成績一覧表を表 1 に示す。

1. 小川との比較成績

表 2 のごとく喀痰 105 検体中、小川においては陰性 61 (58.1%)、陽性 42 (40.0%)、汚染 2 (1.9%) であり培養陽性 42 検体の同定成績は結核菌 24 (57.1%)、*M. avium* complex (MAC) 14 (33.3%)、その他の非定型抗酸菌 4 (9.5%) であった。

MTD の成績は、小川陰性 61 検体中 13 (21.3%)、結核菌と同定された 24 検体中 23 は陽性であり、MAC 陽性 14 検体はすべて陰性、MAC 以外の非定型抗酸菌陽性 4 検体中 1 検体は陽性を示した。

なお、胸水 2 検体の小川における結果は陰性であったが、MTD は 2 検体とも陽性を示した。

また、塗抹陽性小川陰性の検体が 9 みられたが、MB チェックの結果からこれらのうち結核菌が 4 検体、結核菌以外の非定型抗酸菌 2 検体が判定され、他の 3 検体は MB チェックも陰性であったため不明であった。MTD では結核菌と判定された 4 検体すべて陽性、非定型抗酸菌と判定された 2 検体はいずれも陰性となった。

2. MB チェックとの比較成績

表1-1 喀痰および胸水の本キットと従来法との比較 1

検体 No.	塗抹染色 ¹⁾	小川培地	MB チェック	同定菌種	本キット (RLU) ²⁾	判定 +/- ³⁾
1	8	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,887,499	+
2	9	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,916,990	+
4	-	-	+	AM ⁴⁾	1,525	-
5	-	-	+	AM	1,537	-
6	-	+	+	MAC ⁵⁾	1,806	-
7	-	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,830,680	+
8	6	汚染 ⁶⁾	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,792,695	+
9	5	+	+	<i>M. szulgai</i>	1,784	-
10	3	-	+	AM	1,443	-
12	-	-	+	AM	2,662	-
13	-	+	+	MAC	1,972	-
14	-	+	+	MAC	1,760	-
18	5	+	-	<i>M. szulgai</i>	2,176	-
19	5	+	-	<i>M. fortuitum</i>	1,823,718	+
22	2	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,800,428	+
23	4	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,737,219	+
25	2	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,893,835	+
26	6	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,850,441	+
27	5	-	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,824,650	+
29	-	-	-		50,420	+
30	8	+	+	MAC	2,006	-
31	1	-	+	AM	2,497	-
33	-	-	+	AM	1,968	-
35	-	+	+	MAC	1,527	-
36	-	+	+	MAC	1,592	-
38	-	-	-		1,677,437	+
39	-	-	-		354,572	+
40	-	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	595,681	+
41	-	-	+	AM	1,729	-
42	6	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,625,318	+
43	3	-	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,679,747	+
44	-	-	-		1,587,292	+
47	8	-	-		2,824	-
51	-	+	+	MAC	1,504	-
55	3	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,503,842	+
57	-	+	+	MAC	7,138	-
58	-	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	4,518	-
59	9	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,848,933	+

1) 数値はガフキー号数を示す

2) RLU: Relative Light Unit

3) +: RLU \geq 30,000, -: RLU $<$ 30,0004) AM: atypical mycobacterium (*M. tuberculosis* DNA プローブ陰性)5) MAC: *M. avium* complex

6) 雑菌により小川培地による同定不能

表1-2 喀痰および胸水の本キットと従来法との比較 2

検体 No.	塗抹染色 ¹⁾	小川培地	MB チェック	同定菌種	本キット (RLU) ²⁾	判定 +/- ³⁾
60	2	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,847,863	+
61	5	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,719,917	+
63	7	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,759,194	+
64	5	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,568,298	+
65	8	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,715,657	+
67	8	-	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,705,559	+
70	-	汚染 ⁶⁾	-		3,174	-
72	-	-	+	AM ⁴⁾	1,531	-
73	3	+ ⁷⁾	+	AM	2,488	-
74	4	-	-		1,626,943	+
75	5	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	70,598	+
76	4	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,585,926	+
77	4	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	773,643	+
78	3	+	+	MAC ⁵⁾	12,232	-
80	-	+	+	MAC	1,719	-
83	-	-	+	<i>M. tuberculosis</i>	990,587	+
85	-	-	-		737,842	+
87	-	-	-		1,339,673	+
88	-	-	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,010,527	+
89	5	-	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,699,396	+
91	7	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,556,112	+
92	-	+	+	MAC	2,018	-
94	-	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,162,275	+
95	1	-	-		1,974	-
96	-	-	+	AM	1,831	-
97	5	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	736,840	+
98	9	+	+	MAC	2,890	-
99	-	-	+	AM	2,635	-
102	-	+	+	MAC	1,970	-
104	-	+	+	MAC	2,828	-
105	7	+	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,570,795	+
90 ⁸⁾	7	-	+	<i>M. tuberculosis</i>	1,522,937	+
107 ⁸⁾	-	-	-		87,012	+

1) 数値はガフキー号数を示す

2) RLU : Relative Light Unit

3) + : RLU \geq 30,000, - : RLU $<$ 30,0004) AM : atypical mycobacterium (*M. tuberculosis* DNA プローブ陰性)5) MAC : *M. avium* complex

6) 雑菌により小川培地による同定不能

7) *M. tuberculosis*, MAC DNA プローブ陰性

8) 胸水検体

表3のごとくMBチェックでは喀痰105検体中陰性48(45.7%),陽性57(54.3%)であり,陽性検体57の同定成績は結核菌31(54.4%),MAC14(24.6%),*M. szulgae*1(1.8%),同定未施行11(19.3%)であった。同定未施行の11検体は1検体(No.73)を除き小川陰性検体であり,また結核菌は否定され以後の同

定がなされていない検体である。

これら検体のMTDの成績はMBチェック陰性48検体中8(16.7%)が陽性を示し,結核菌と同定された31検体中30が陽性であり,非定型抗酸菌はすべて陰性であった。

なお,胸水2検体は陰性,陽性それぞれ1検体認めら

表2 小川培地と塗抹および本キットとの検査成績(喀痰)

小川培地			塗抹検査	本キット
-		61	- 52 + 9	- 48 + 13
+	<i>M. tuberculosis</i>	24	- 4 + 20	- 1 + 23
	<i>M. avium complex</i>	14	- 11 + 3	- 14 + 0
	その他	4	- 0 + 4	- 3 + 1
汚染		2	- 1 + 1	- 1 + 1
計		105	105	105

表3 MBチェックと塗抹および本キットとの検査成績(喀痰)

MBチェック			塗抹検査	本キット
-		48	- 43 + 5	- 40 + 8
+	<i>M. tuberculosis</i>	31	- 6 + 25	- 1 + 30
	<i>M. avium complex</i>	14	- 11 + 3	- 14 + 0
	<i>M. szulgai</i>	1	- 0 + 1	- 1 + 0
未同定		11	- 8 + 3	- 11 + 0
計		105	105	105

表4 本キットにて結核菌と判定されたものの他検査法の陽性率

	本キット	塗抹	培養		
			小川 ^{D)}	MBチェック	
(喀痰)	陽性	38	27	24 ²⁾	30
	陰性	0	11	13	8
	%	100	71.1	64.9	78.9
(胸水)	陽性	2	1	0	1
	陰性	0	1	2	1

1) 雑菌により1検体同定不能

2) *M. fortuitum* 1検体を含む

れたが MTD ではないずれも陽性であった。

塗抹陽性 MB チェック陰性は 5 検体見られ、そのうち 1 検体 (No.74) と *M. fortuitum* とされた小川培養による 1 検体 (No.19) が MTD で陽性を示した。

3. MTD の成績

喀痰では表 4 のごとく MTD で陽性を示したものは 38 検体で、そのうち小川では陽性 24、汚染 1 を除くと、陽性率 24/37; 64.9%, MB チェックでは陽性 30 で、陽性率 30/38; 78.9% であった。

なお、小川、MB チェック両者陽性で結核菌と同定され、MTD 陰性が 1 検体認められた (No.58)。また、小川もしくは MB チェック陽性で DNA プローブ法により結核菌を否定された非定型抗酸菌 28 検体中 MTD 陽性は 1 検体 (No.19; *M. fortuitum*) あったが、他はすべて陰性であった。

胸水 2 検体はいずれも陽性を示した。

4. 小川、MB チェックともに陰性、MTD 陽性の菌株を排出した症例の臨床的検討

これらの検体は喀痰で 7 検体 (症例 1; No.29, 症例 2; No.38 および 74, 症例 3; No.39, 症例 4; No.44 および 85, 症例 5; No.87) 5 症例、胸水では 1 検体 (症例 6; No.107) 1 症例あった。

1) 喀 痰

[症例 1] No.29 M.U. 45 歳, 男

入院:平成 3 年 3 月 1 日~4 年 4 月 17 日

入院時 X 線学会病型: b II 3

入院時塗抹 (S) ガフキー 10 号, 培養 (K) 3+ であり、S および K ともに陰性化に 9 カ月を要した。MTD 検査近辺の S および K の成績を示す。

4 年	7	8	9	10	11	12
S	-	-	-	-	-	-
K	+	-	-	-	-	-

枠で囲まれた時期が MTD 検査時である。本例は MTD 陽性前 11 カ月間 S, K ともに結核菌陰性であるが胸部 X 線ではなお b II 3 である。なお表中の平成 4 年 7 月の培養陽性は *M. szulgae* と同定されている。

[症例 2] No.38 および 74 H.I. 65 歳, 男

入院:平成 4 年 7 月 1 日~5 年 1 月 10 日

入院時 X 線病型: b II 3

	No.38		No.74				
4 年	7	8	9	10	11	12	5 年 1 2
S	8	7	3	6	-	4	- -
K	3+	2+	-	-	-	-	- -

本例は培養は陰性化した塗抹では完全に陰性化して

いない時期の検体である。

[症例 3] No.39 H.O. 70 歳, 男

入院:平成 4 年 9 月 31 日~5 年 4 月 24 日

入院時 X 線病型: b II 3 pl

4 年	9	10	11	11	12	5 年	1
S	-	-	-	-	-	-	-
K	+	-	+	-	-	-	-

本例は培養陰性化直後の検体である。

[症例 4] No.44, 85 N.U. 49 歳, 男

入院:平成 3 年 6 月 13 日~入院中

入院時 X 線病型: b I 3

3 年	6	7	8	9	10	11	12	4 年	1	2	3
S	9	2	-	-	3	2	-	-	-	-	-
K	3+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

No.44, No.85

4 年	4	5	6	7	8	9	10	11	12
S	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-

5 年 1 2

S - -

K - -

塗抹、培養とも長期間陰性化しているが、血痰持続、肺機能不全で入院中であり、胸部 X 線ではなお b II 3 である。

[症例 5] No.87 T.A. 41 歳, 女

入院:平成 4 年 6 月 5 日~5 年 3 月 12 日

入院時 X 線病型: b II 3

4 年	6	7	8	9	10	11	12	5 年	1	2	3
S	9	8	5	4	4	-	-	-	-	-	-
K	3+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

本例は塗抹が陰性化した翌月の検体である。

2) 胸 水

[症例 6] No.90 および No.107

12 月の検体採取時 (No.90) は S7 号, 小川 -, MB チェック +, MTD+ で結核菌と同定されている。また、同時に採取した喀痰 (No.89) においては S5 号, 小川 -, MB チェック +, MTD+ であった。5 年 2 月 (No.107) の検体では小川 -, MB チェック -, MTD+ であった。

5. 小川、MB チェック陽性、MTD 陰性を示した症例 (喀痰) の臨床的検討

No.58 S.I. 56 歳, 男

入院：平成3年10月21日～4年8月9日

入院時X線病型：bII3

4年	8	9	10	11	12	5年	1	2	3
S	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	+	-	-	-	-

退院後一回のみ培養陽性を示し、結核菌と同定されている。

考案

結核菌の迅速診断法にはMBチェック、BACTEC法などの液体培地を用いることにより、従来の小川培地に比しかなり感度があがりかつ判定までの期間が短縮されたが³⁾、なお2週間以上の日時を要する。またより迅速に判定しうるBACTEC法は¹⁴CのRIを使用するために、わが国では市販されていない。

抗酸菌のDNAを増幅して判定するPCR (polymerase chain reaction) 法が広く研究されており、かなり感度がすぐれているとの報告も見られ、従来法で陰性を示す検体の約10%が陽性を示すと言われている⁴⁾。

しかしながら、理論的にDNAは細胞1個あたり1～数个含まれているのに対し、rRNAは数千個含まれていることから、rRNAをターゲットにした方法がより感度がすぐれていると考えられる。

今回、rRNAをターゲットとして増幅し結核菌を検体中より直接検出する方法(MTD)が開発された。

今回、本院の成績では小川で陰性と判定された喀痰61検体中13(21.3%)、MBチェックで陰性と判定された48検体中8(16.7%)がMTDで陽性を示した。胸水2検体は小川では2検体とも陰性、MBチェックでは1検体陽性、MTDにおいては2検体とも陽性を示した。

MTDは結核菌のみを対象としているが、小川で陽性、DDHマイコバクテリア‘極東’で*M. fortuitum*と判定された1検体がMTDで陽性を示した。

少数ではあるが、これらの矛盾した成績についてはさらに検討が必要であろう。

なお、小川、MBチェックいずれも陰性でMTD陽性を示した胸水を含む8検体(6症例)については、塗抹陰性直後の症例の検体が4例、長期陰性が持続してはいたが、なお胸部X線高度進展の症例2例であった。これらの症例が、感度の良い本法において陽性を示すことは肯定しうるものである。

したがって、MTDは従来に比して感度、特異性のすぐれた検査法であり、陽性と判定するcut-off値30,000RLUも妥当と思われた。本法は微量の結核菌で

も陽性となるので、結核の診断にきわめて有用である。しかしながら治療開始後数カ月を経て従来法陰性、MTD陽性の意義についてはさらに検討が必要であろう。また、喀痰、胸水以外の検体についての検討も必要である。

MTDの操作法に関して、本法においては増幅から検出に至る全行程が1本の試験管で操作できるので、手技が容易であり、この点からも汚染が少ないと考えられる。

MTDが臨床応用可能になれば検体中の結核菌を約4時間で感度良く検出しうるので、結核の診断の精度がより向上するであろう。

結 論

rRNAを増幅しDNAプローブを用いたHPA法により、臨床検体中の結核菌を直接検出するMTDの感度および特異性を検討した。

1) 小川で陰性と判定された喀痰61検体中13(21.3%)、MBチェックで陰性と判定された48検体中8(16.7%)がMTDで陽性を示した。

2) 小川およびMBチェック陽性で*M. tuberculosis*と同定され、MTD陰性の検体が1検体存在した。

3) *M. fortuitum*と判定された1検体はMTD陽性を示し、これ以外の非定型抗酸菌27検体はMTD陰性であった。

4) 小川およびMBチェック陰性でMTD陽性の6症例(8検体)は、それらの臨床検討より、微量の結核菌が検体中に含まれているものと推定された。

以上、MTDは感度、特異性にすぐれ、臨床的に有用な結核菌検査法と考えられる。

文 献

- 1) Arnold LJ Jr., Hammond PW, Wiese WA, et al. : Assay formats involving Acridinium-Ester-Labeled DNA probes. Clin Chem. 1989 ; 35 : 1588-1594.
- 2) Chiyoji Abe, et al. : Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by polymerase chain reaction and Gen-Probe Amplified Direct Test based on the amplification of its nucleic acids. J Clin Microbiol. 1993 ; 31 : 3270-3274.
- 3) 阿部千代治, 細島澄子 : 液体培地による抗酸菌の迅速診断, 結核. 1992 ; 67 : 781-786.
- 4) 古賀宏延, 他 : 抗酸菌症に対するDNA-Probe法とPCR法, 結核. 1992 ; 67 : 795-802.