

原 著

臨床材料から直接抗酸菌を検出する MTD 法と
Amplicolor Mycobacterium 法の評価

佐藤 明正・園部 俊明

神戸市環境保健研究所

岡崎 美樹・梅田 文一

神戸市立中央市民病院

EVALUATIONS OF MTD AND AMPLICOR™ MYCOBACTERIUM FOR
DIRECT DETECTION OF MYCOBACTERIA FROM CLINICAL SPECIMENSAkimasa SATO*, Toshiaki SONOBE,
Miki OKAZAKI, and Bun-ichi UMEDA

MTD (GEN-PROBE AMPLIFIED MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DIRECT TEST™) for *Mycobacterium tuberculosis*, and Amplicolor™ Mycobacterium for Mycobacteria (AMP-M. tb for *M. tuberculosis*, AMP-M. av for *M. avium* and AMP-M. in for *M. intracellulare*) were used for the detection of relevant Mycobacterium. Their sensitivity and specificity were evaluated. Total 244 clinical specimens including 164 sputa were examined by the above two tests. The results were compared with those obtained by the conventional methods.

Of 244 samples, number of the *M. tuberculosis* positive samples by microscopy, cultural test, MTD and AMP-M. tb were 32, 33, 38 and 35, respectively. Among 33 culture positive samples, 25 were MTD positive and 26 were AMP-M. tb positive. Therefore, sensitivity of MTD and AMP-M. tb were 75.8% and 78.8%, and their specificity were 93.8% and 95.7%, respectively. When only sputa were used for the tests as the clinical specimens, both sensitivity of MTD and AMP-M. tb were increased to 94.4%.

For MAC, positive samples of *M. avium* complex by culture, *M. avium* by AMP-M. av and *M. intracellulare* by AMP-M. in were 13, 16, and 8, respectively. Sensitivity and specificity of AMP-M. av/M. in were 100% and 95.2%, respectively.

Clinical findings of the patients whose MTD tests were positive but negative by culture were reexamined. Three of 9 specimens were also positive in AMP-M. tb. From the records of the isolations of tubercle bacilli or other important pathogens from the other kind of clinical specimens, smear tests and patients' response to tuberculosis chemotherapy, four of 9 specimens were confirmed as true positive, three were suspected as positive, and two other specimens were false positive which might be caused by contamination.

別刷り請求先:

佐藤 明正

神戸市環境保健研究所

〒650-0046 神戸市中央区港島中町4丁目6

* From Kobe Institute of Health, 4-6 Minatojima -
Nakamachi, Chuo-ku, Kobe 650-0046 Japan.

(Received 20 Apr. 1998/ Accepted 10 Dec. 1998)

From these observations, it could be concluded that MTD and AMP-M. tb are more sensitive than conventional culture method, and MTD is more sensitive than AMP-M. tb but needs more careful treatment to avoid the contamination.

Key words : *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* complex, MTD™, Amplicor™ *Mycobacterium*, nucleic acid amplification

キーワード : 結核菌, *Mycobacterium avium* complex, MTD™, Amplicor™ *Mycobacterium*, 核酸増幅

緒言

日本の結核罹患率の減少速度の鈍化と、非結核性抗酸菌症の増加傾向が続いている¹⁾²⁾。新しい迅速検出法の開発が望まれてきた。近年開発されたPCR法は結核菌の検出にも応用されたが、操作に煩雑さが多かった³⁾。

1994年、操作が容易な2種類の核酸迅速診断試験キットが市販された。一つは、結核菌のrRNAを増幅しHybridization protection assay法⁴⁾(HPA法)で検出するMTD法(Gen-Probe Amplified Mycobacterium tuberculosis Direct Test™, Gen-Probe Inc, 中外製薬)であり、もう一つは16s rRNA遺伝子の抗酸菌に共通な部位を増幅し、3種類のDNAプローブを用いて*Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*を検出するAmplicor™ *Mycobacterium*法(Roche Diagnostic Systems Inc, 日本ロシユ, 各々AMP-M. tb, AMP-M. av, AMP-M. inと略し, 全体をAMP法と略記する)である。MTD法の結核菌群特異性についてはJonasら⁵⁾, Abeら⁶⁾および青柳ら⁷⁾が報告し, AMP-M. tb法については青木ら⁸⁾およびChinら⁹⁾が報告している。また後藤ら¹⁰⁾はMTD法とAMP-M. tbで結核菌の検出を比較している。AMP法の利点は結核菌の他に2菌種の非結核性抗酸菌を同時に検出できる点にある。私たちは, MTD法と3種類のプローブを用いたAMP法について検討した。

材料および方法

1) 臨床検体

同一患者の同一種類の検体は1件として, 病院の臨床検体125件(喀痰45, 気管支洗浄液37, 胸水12, 髄液7, 膿5, 肺穿刺液5, 胃液3, 尿3, 血液2, 気管支擦過液2, 腹水2, リンパ節穿刺液1, 心嚢液1), および保健所の結核登録患者の喀痰119件, 合計244検体について試験した。

2) 検体の前処理方法

検体1~2mlに1~2倍量のNALC-NaOH液(1N NaOH 50ml, 2.94W/V% Sodium citrate 50ml, N-acetyl-L-cystein 250mg)を加えて攪拌, 室温で15~20分間静置して「NALC処理液」とした。この処理液に0.008%BTB(pH指示薬)添加の1%H₂SO₄と, M/15リン酸緩衝液(pH6.8)を加え3,000rpmで20分間遠心した。沈渣に滅菌水8mlを加えて再び遠心し, その沈渣に滅菌水500μlを加えて「前処理済み中和液」とした。

3) 塗抹検査方法

検体および前処理済みの遠心沈渣をチール・ネルゼン法で染色し鏡検した。いずれかの材料で陽性のものは塗抹陽性とした。

4) 培養方法

NALC処理液100μlを工藤PD培地(日本ビーシージー)に接種した。また前処理済み中和液100μlをBacto Middlebrook 7H11 agar(Difco, USA, 7H11 agar)に接種し, 37℃で培養した。いずれかの培地で菌の発育を認めたものを培養陽性とした。

5) 分離菌株の同定方法

分離株のコロニー性状を参照して, AccuProbe法⁴⁾と生化学的試験法¹¹⁾を用いて同定した。

6) MTD法

プロトコール(中外製薬)とJonasら⁵⁾の方法に従って実施した。

7) AMP法

プロトコール(日本ロシユ)に従って実施した。前処理済みの中和液100μlを試験液とし, GeneAmp PCR System 9600-R™を用いて抗酸菌属に共通なヌクレオチド部位を増幅した。このPCR増幅産物と*M. tuberculosis*および*M. avium*, *M. intracellulare*に特異的な各々のプローブとハイブリダイゼーションを行った。

8) 検体希釈法による感度の比較

塗抹検査で抗酸菌陽性であった肺結核患者の喀痰3検体について, 前述のように前処理を行った。この液を原

Table 1 Comparison of Genetic Identification Techniques with Conventional Methods for *M. tuberculosis* or *M. avium* complex in Various Specimens

Smear	No. of specimens	No. of positive specimens					
		<i>M. tuberculosis</i>			<i>M. avium</i> complex		
		Culture	MTD	AMP-M. tb	Culture	AMP-M. av	AMP-M. in
Positive	32	17	20	18	7	7	1
Negative	212	16	18	17	6	9	7
Total	244	33	38	35	13	16	8

Table 2 Genetic Identification of *M. tuberculosis* and *M. avium* complex from Various Culture Positive or Negative Specimens

Culture (M. tb)	MTD		AMP-M. tb		Culture (MAC)	AMP-M. av or AMP-M. in	
	Positive	Negative	Positive	Negative		Positive	Negative
Positive					Positive		
33	25	8	26	7	13	13	0
Negative					Negative		
211	13	198	9	202	231	11	220
Total					Total		
244	38	206	35	209	244	24	220

M. tb: *M. tuberculosis*, MAC: *M. avium* complex

液として、滅菌蒸留水を加えて10倍希釈系列を調製した。この希釈した試料を用いて分離培養法およびMTD法、AMP-M. tb法を実施して感度を比較した。培養菌数の表示法は「結核菌検査指針」¹¹⁾に従った。

結 果

1) 喀痰164件を含む臨床材料13種244件について、塗抹成績を基準にしての結核菌の分離培養、MTD、AMP-M. tbの成績、並びに*M. avium* complexの分離培養、AMP-M. av、AMP-M. inの成績をTable 1に示した。MTDとAMP-M. tbの感度は塗抹陽性検体、陰性検体共に分離培養とほぼ同程度か若干高かった。分離菌株の*M. avium*と*M. intracellulare*は*M. avium* complexと同定したのでAMP-M. avとAMP-M. inの成績も合算して分離培養の成績と比較すると、塗抹陽性検体では培養とほぼ同程度であったが、陰性検体では分離培養より高い感度を示した。

2) 臨床材料244件について、分離培養の成績を基準にして感度を比較した(Table 2)。結核菌分離培養陽性33件中、MTD陽性は25件、AMP-M. tb陽性は26件であった。MTDとAMP-M. tbの感度は75.8%と78.8%、特異度は93.8%と95.7%ではほぼ同程度であった。

培養陰性の検体ではMTDはAMP-M. tbより高い陽性数を示した。一方、「AMP-M. av/AMP-M. in」では感度100%、特異度95.2%であった。

3) 検体を喀痰に限ったときの成績をTable 3に示した。MTDとAMP-M. tbは共に感度94.4%、特異度95.2%であった。[AMP-M. av/AMP-M. in]の感度と特異度は各々100%、96.7%であった。

4) 病院の患者由来の検体で、分離培養陰性にもかかわらず、MTDあるいはAMP-M. tbが陽性であった検体は8人の患者から9件あった。その患者の臨床診断を再検討した(Table 4)。患者1) 2) 3)は、化学療法下での回復状態や他の検体からの結核菌の分離状況から明らかに肺結核症であり、その患者からの4検体の「MTD陽性」は真の陽性と思われた。患者4)と5)は各々結核の疑いと診断され、患者の検体は真の陽性の可能性が高いと思われた。患者6)は結核性の疑いもあるとした。患者7)と8)では同一検体の再検査が陰性、後日採取された検体も陰性であり、胸部XP像にも変化が観られなかったことから、初めの「MTD陽性」はコンタミネーションの可能性があるとされた。

5) 結核菌陽性喀痰を希釈し、これを試料として感度を比較した成績をTable 5に示した。菌量の多いNo.1

Table 3 Genetic Identification of *M. tuberculosis* and *M. avium* complex from Culture Positive or Negative Sputa

Culture (<i>M. tb</i>)	MTD		AMP- <i>M. tb</i>		Culture (MAC)	AMP- <i>M. av</i> or AMP- <i>M. in</i>	
	Positive	Negative	Positive	Negative		Positive	Negative
Positive 18	17	1	17	1	Positive 12	12	0
Negative 146	7	139	7	139	Negative 152	5	147
Total 164	24	140	24	140	Total 164	17	147

M. tb: *M. tuberculosis*, MAC: *M. avium* complex

Table 4 Clinical and Laboratory Findings of Eight Patients Whose MTD or AMP-*M. tb* Were Positive but Culture Were Negative

Patient	Clinical diagnosis	Specimen	Smear	MTD	AMP- <i>M. tb</i>
1)	Pulmonary tuberculosis and tuberculous lymphadenitis *1	sputum pus	+	+	+
2)	Pulmonary tuberculosis *2	blood	-	+	+
3)	Pulmonary tuberculosis *3	sputum	-	+	-
4)	Suspicion of primary pulmonary tuberculosis	sputum	-	+	-
5)	Suspicion of tuberculous meningitis	blood	-	+	-
6)	Suspicion of urinary tract tuberculosis	urine	-	+	-
7)	Pulmonary aspergillosis *4	pus	-	+	-
8)	Septicemia of ATL *5	CSF	-	+	-

*1: being under treatment for sequelae of pulmonary tuberculosis, *2: *M. tuberculosis* was isolated from the sputum, *3: *M. tuberculosis* was isolated from the pulmonary pus, *4: *Aspergillus* sp. was isolated from the pulmonary pus, *5: *Bacteroides distasonis* was isolated from the blood.

Table 5 Comparison of Detection Limits of Culture, MTD and AMP-*M. tb* in Diluted Samples of Smear Positive Sputum

Sample	No. 1 (Gaffky # 4)					No. 2 (Gaffky # 2)					No. 3 (Gaffky # 2)				
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
Culture	++	+70	+15	+2	-	++	+22	-	-	-	+44	+2	-	-	-
MTD	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
AMP- <i>M. tb</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-

In culture, ++: ≥200 colonies; +: Actual colony number observed on a slant medium was shown.

の試料では3法共に10⁻⁵まで陽性であった。菌量が少ないNo. 2およびNo. 3ではMTD法の検出感度が最も高かった。

6) 臨床検体の種類別陽性数をTable 6に示した。

喀痰164件中塗抹陽性22件、分離培養で結核菌陽性18件、MAC陽性12件あった。MTDとAMP-*M. tb*では各々24件陽性で、核酸診断法の高い陽性率が観察された。「AMP-*M. av*/AMP-*M. in*」も培養より高い陽性率

Table 6 Number of Positive Samples in Different Clinical Specimens Tested with Genetic Identification Techniques and Conventional Methods for Detecting Mycobacteria

Clinical specimens	No. of samples	No. of positive samples						
		Smear	Culture		MTD	AMP		
			M. tb	MAC		M. tb	M. tb	M. av
Sputum	164	22	18	12	24	24	11	6
BALF	37	3	6	1	4	4	5	1
Pleural effusion	12	1	3	0	1	1	0	1
CSF	7	0	0	0	1	0	0	0
Pus	5	3	1	0	3	2	0	0
Percutaneous aspiration	5	1	2	0	1	1	0	0
Gastric juice	3	1	2	0	0	1	0	0
Urine	3	0	0	0	1	0	0	0
Blood	2	0	0	0	2	1	0	0
Curetting alveolus	2	1	0	0	0	0	0	0
Ascites	2	0	0	0	0	0	0	0
Lymphnode pus	1	0	1	0	1	1	0	0
Pericardial effusion	1	0	0	0	0	0	0	0
Total	244	32	33	13	38	35	16	8

M. tb: *Mycobacterium tuberculosis*, MAC: *M. avium* complex, M. av: *M. avium*, M. in: *M. intracellulare*, BALF: bronchoalveolar lavage fluid, CSF: cerebrospinal fluid.

を示した。気管支洗浄液と胸水からの結核菌の検出では、分離培養が一番高い陽性率を示した。その他の臨床材料10種類31検体での陽性件数は、鏡検6(4種類)、結核菌分離培養6(4種類)、MTD9(6種類)、AMP-M.tb6(5種類)であった。種類別試験例数は十分ではないが、両核酸診断法は各種の検体で使用が可能であると思われた。

考 察

MTDとAMP-M.tb、並びに「AMP-M.av/AMP-M.in」の感度と特異度を検討するために、喀痰164件を含む13種類合計244件の臨床検体を用いて試験し、分離培養の成績と比較した。

全種類の検体におけるMTDの陽性数は38、その中のAMP-M.tb陽性数は30、MTD陰性206中のAMP-M.tb陰性は201で、MTDとAMP-M.tbの一致率は94.7%であった。MTDとAMP-M.tbの特異度は93.8%と95.7%であった。しかし、感度は各々75.8%と78.8%で、それほど高くはなかった(Table 1およびTable 6)。

検体の種類を喀痰に限った場合、感度は両者共に94.4%、特異度も共に95.2%と高い値を示した(Table 3およびTable 6)。この値は喀痰についての多くの報告^{5)~10)}とほぼ同値であった。すなわち、各種の検体を含む場合

と喀痰だけの場合とで感度に約20%の差があった。この差は核酸抽出の効率あるいはインヒビターの除去の効率が検体の種類により異なるためかもしれない。最近開発されたAMP法の付属製品である「内部コントロール」(日本ロシユ)を使用してみると、各種検体のDNA抽出液中にインヒビターの含有を示す「内部コントロール陰性」例があった。データは示していないが、このような例は喀痰では極く少数であったが、胸水や便では多かった。

核酸診断法の喀痰以外の検体についての応用例は少ない¹²⁾。高嶋ら¹³⁾は細胞成分の多い検体ではAMP法の溶菌操作法だけでは不十分なケースを認めている。また豊田ら¹⁴⁾は、MTDの核酸抽出法に改善を試みている。各種検体からのDNA抽出法の確立が望まれる。

M. avium complexの分離培養と比較した「AMP-M.av/AMP-M.in」の感度は100%、特異度は97.0%であった。この感度は、結核菌を検出するAMP-M.tbのそれよりも高かった。この感度の差は、主には検体のアルカリ処理に関係があるのかもしれない。結核菌はアルカリ処理に比較的高い抵抗性を示すが、MACのそれはそれほど高くないので微量菌の場合は培養陰性となりやすい¹⁵⁾¹⁶⁾ので、培養陽性を示した検体中には比較的菌が多数存在していたことになる。「AMP-M.av/AMP-M.in」の感度は培養成績を基準にして比較した

ので、高い値が得られた一面があると考えている。

また個々の検体では、環境中のコンタミネーションの影響の可能性も完全にぬぐい去ることはできない。MACは環境中にも存在していることが知られており、日本結核病学会予防・治療合同委員会¹⁷⁾は鏡検と分離培養を必ず併用するよう勧告している。山崎¹⁸⁾も同様な指摘をしている。非結核性抗酸菌の微量菌の検出は必ずしも病状を反映しているとは言えないことから、診断基準が設けられている¹⁹⁾。これは分離培養での菌の検出を基準にしているため、培養陰性・「AMP-M. av/AMP-M. in」陽性の結果の解釈は現在では困難である。今後臨床例を積み重ねていけば、核酸診断法による診断基準の設定が可能になるかもしれない。

分離培養陰性・MTD陽性を示した9検体の患者8人の臨床診断を再検討した結果、3人の患者からの4検体の「MTD陽性」は真の陽性と思われた。他の2人の患者は初期結核の疑い、他の1人は化学療法下での回復状況から結核性髄膜炎の疑い、他の1人は尿路結核症の疑いと診断された。

しかし、他の1人は同一検体のMTDの再検査が陰性であり、その検体から *Aspergillus* sp. が分離され、後日の検体でのMTDの成績はいずれも陰性であったので、初めの「MTD陽性」は、阿部らの指摘²⁰⁾のようなコンタミネーションの可能性があるとみなし、肺アスペルギルス症と診断された。もう1人の髄液、血液、胸水、喀痰、肺膿瘍についての再検査はいずれも抗酸菌陰性であり、胸部XP像にも変化が観られなかった。後日、血液培養で *Bacteroides distasonis* が分離されたので菌血症と診断された。

すなわち、MTD陽性9検体中の4件は真の陽性であり、核酸診断法、とりわけMTD法の高い感度を反映していると思われた。他の3件も真の陽性の可能性が高いと思われたが、他の2件はコンタミネーションの影響と思われた。コンタミネーションの影響が疑われるときは、再試験によって誤診は避けられると思われた。

培養陰性・核酸診断法陽性の検体については、一般に菌量が少ない場合が想像されている^{6)~8)}。このことを確かめるために、結核菌陽性喀痰を希釈し、その試料を用いて感度を比較した。菌量が少ない試料では、分離培養陰性であっても核酸診断法だけが陽性になることが観察された。

核酸診断法の偽陽性偽陰性については多くの報告がある。MTDについてはJonasら⁵⁾、阿部ら²⁰⁾の報告がある。Jonasらは、758件中偽陽性は4件、偽陰性は24件あり、偽陰性24件中6件は検体中のインヒビターによると報告している。阿部らは6施設の共同研究で超純

水でも偽陽性を示した例や、菌を添加した喀痰で偽陰性を示した例を報告している。AMP-M. tbについてはChinら⁹⁾、阿部ら²¹⁾の報告がある。Chinらの偽陽性は0.8%で、有用性が高いとしている。阿部らはMTDの評価試験と同様な調査で、菌を添加した喀痰で偽陰性の例があったが超純水で偽陽性を示した例はAMP-M. tbでは認めていない。今回の私たちの試験成績や上記の文献を参照すると、AMP-M. tbはMTDより若干感度は低いが、そのぶん偽陽性も少ないようである。

AMP法のもう一つの利点は、主要3菌種が検出できる点である。244検体のうち塗抹陽性は32件あった。この中から分離培養で結核菌17件、MAC7件が陽性であり、MTDで20件、AMP-M. tbで18件、そして「AMP-M. av/AMP-M. in」で8件が陽性であった。環境からの影響についての配慮は必要ではあるが、全国的にMAC症の増加傾向²⁾が見られている中で、結核菌とMACとの迅速な区別の意味からも、AMP法による迅速診断の要望は今後ますます高まると思われた。

文 献

- 1) 猪狩英俊, 菊池典雄, 川島辰男, 他: 一般病院における非定型抗酸菌の検出状況と肺非定型抗酸菌症. 結核. 1994; 69: 483-490.
- 2) 坂谷光則: 非定型抗酸菌症の疫学. 胸部疾患. 1994; 32: 211-215.
- 3) Hance AJ, Grandchamp B, Frebault VL, et al.: Detection and identification of mycobacteria by amplification of mycobacterial DNA. Mol Microbiol. 1989; 3: 843-849.
- 4) Arnold LJJ, Hammond PW, Wies WA, et al.: Assay formats involving acridinium ester-labeled DNA probes. Clin Chem. 1989; 35: 1588-1594.
- 5) Jonas V, Alden MJ, Curry JI, et al.: Detection and identification of *Mycobacterium tuberculosis* directly from sputum sediments by amplification of rRNA. J Clin Microbiol. 1993; 31: 2410-2416.
- 6) Abe C, Hiraono K, Wada M, et al.: Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by polymerase chain reaction and Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test. J Clin Microbiol. 1993; 31: 3270-3274.
- 7) 青柳昭雄, 豊田丈夫, 大角光彦, 他: 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. 結核. 1994; 69: 7-14.

- 8) 青木正和, 片山 透, 山岸文雄, 他: PCR法を利用した抗酸菌 DNA 検出キット (アンプリコア™ マイコバクテリウム) による臨床検体からの抗酸菌迅速検出. 結核. 1994; 69: 593-605.
- 9) Chin DP, Yajko DM, Hadley WK, et al.: Clinical utility of a commercial test based on the polymerase chain reaction for detecting *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens. Am J Respir Crit Care Med. 1995; 151: 1872-1877.
- 10) 後藤美江子, 奥住捷子, 坂井康郎, 他: 臨床材料から直接検出可能な結核菌核酸増幅法キットの検討. 感染症誌. 1995; 69: 539-545.
- 11) 室橋豊穂, 伊藤忠雄, 小川辰次, 他: 抗酸菌の同定法, 「結核菌検査指針」, 1979年改訂版, 結核菌検査指針編集委員会, 財団法人日本公衆衛生協会, 東京都, 1979, 31-47.
- 12) 豊田丈夫, 大角光彦, 青柳昭雄, 他: 結核菌群核酸増幅同定検査 (MTD) により迅速診断が可能であった結核性髄膜炎の2例. 感染症誌. 1995; 69: 945-949.
- 13) 高嶋千恵, 根ヶ山清, 藤田次郎, 他: 未治療症例における AMPLICOR™ *Mycobacterium* 偽陰性検体についての検討. 臨床微生物誌. 1996; 6: 27-30.
- 14) 豊田丈夫, 大角光彦, 青柳昭雄, 他: 喀痰以外の臨床検体中の結核菌の MTD による検出—検体前処理法の基礎検討および臨床評価—. 結核. 1996; 71: 495-503.
- 15) 加藤睦子: 抗酸菌の分離培養に於ける喀痰前処理方法の検討 1) 抗酸菌に及ぼす NaOH の影響. 衛生検査技師会誌. 1967; 16: 447-449.
- 16) 丸茂健治, 青木良雄: 抗酸菌に対する NaOH の殺菌作用 2. 人工的抗酸菌含有喀痰中の生存率. 結核. 1986; 61: 265-271.
- 17) 日本結核病学会予防・治療合同委員会: 核酸増幅法による結核菌検査の臨床での利用について. 結核. 1995; 70: 711-712.
- 18) 山崎利雄: 結核菌の核酸増幅による同定, その臨床応用. 小児科診療. 1996; 59: 107-115.
- 19) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班: 非定型抗酸菌症 (肺感染症) の診断基準. 結核. 1985; 60: 51.
- 20) 阿部千代治, 森 亨, 藤井英治, 他: 結核菌の迅速検出のための MTD の評価に関する共同研究. 結核. 1995; 70: 467-472.
- 21) 阿部千代治, 斎藤由美子, 本山禎二, 他: アンプリコア™ マイコバクテリウムキットの評価に関する共同研究. 結核. 1997; 72: 181-186.