

結核菌の振盪培養に関する研究 (V)

迅速分離培養法としての意義

昭和37年10月31日 受付

信州大学医学部戸塚内科教室(指導: 戸塚忠政教授)

羽 田 忠 彦

Studies on Growth of Mycobacterium Tuberculosis with Shaking Culture Method

Isolation of Mycobacterium Tuberculosis from Patients with Shaking Culture Method as Rapid Culture

Tadahiko Hata

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director: Prof. T. Tozuka)

緒 言

結核菌の発育は一般に遅く菌の検出までに比較的長時間を要し、結核の治療上にも重要な関係を有するためその早期検出に種々の方法が試みられている。

Dubos 等^{①②}により Tween-Albumin 添加の液体培地が使用されるに及び液体培地の研究も発展し、固型培地に比べ検出までの期間が短縮され、更に培地に酸素を供給することにより結核菌の発育を著明に増強させることが可能であることが明らかとなった。

当教室に於てもすでに Dubos 液体培地を用い振盪培養により、培地に酸素を供給させることにより結核菌の Generation Time を短縮させ得ることを報告^{③④⑤⑥}した。

今回著者は振盪培養法を用いて、結核患者の被検材料からの結核菌の分離培養を試み、同時に小川培地に於ける培養及び塗抹標本に於ける結核菌の検出を施行し、比較検討を試みたので報告する。

実験材料及び実験方法

材料: 当科に結核性疾患及びその疑で受診中の外来及び入院患者の喀痰、胃液、胸水、髄液を用い総数 230 例について施行した。喀痰は 4% NaOH を用いて前処置を施行し、胃液は沈渣に等量の 4% NaOH にて前処置を施行し、各々 0.2cc ずつ用いた。胸水、髄液は沈渣を各々 0.1cc ずつ用いた。被検材料はすべて最初に塗抹標本作製しチールネルセン染色法をもつて染色し検鏡した。

培地: 1) Dubos 液体培地(栄研)を使用した。更に荒井^⑦の方法に準じ、培地 900ml. に Tween 80 を 5g 加え、120°C, 15 分間滅菌後、培地用アルブミン“栄研”を 100ml. 加えた。材料接種後の pH は 6.8

になる様にした。2) 固型培地は 3% 小川培地を使用した。

培養: 島津 AKA 光電比濁計の比濁セルと同質のガラスで特別に製作した L 型試験管を用い、之に上記培地を 10ml. ずつ入れ各被検材料を夫々接種後、孵卵器内の振盪装置にとりつけて 37±1°C にて振盪しながら培養した。対照として同一の材料を夫々 3% 小川培地に接種して培養した。

観察: 振盪培養に於ける観察は培養開始 3 日ないし 4 日後に行つた。培地を 3000 回転、45 分間遠心沈澱させ、沈渣を塗抹、染色して検鏡、抗酸菌の有無を決定した。小川培地に於ける結核菌の発育は 4 週ないし 8 週後に判定した。

実験成績

1) 振盪培養と小川培地及び塗抹標本に於ける結核菌検出率の比較

成績は〔表 1〕の如くで、塗抹陽性のもは 230 例中 27 例 (11.7%) であり、振盪培養陽性のもは 230 例中 55 例 (23.9%) であり塗抹陽性のものに比べ 2 倍強の検出率を示した。小川培地陽性のもは 230 例中 65 例 (28.2%) で振盪培養よりやゝ良好な検出率を示した。

検査材料別にみた検出率については、喀痰では 187 例中塗抹陽性のもは 26 例 (13.9%) であり、振盪培養陽性のもは 46 例 (24.6%) で塗抹陽性例のほぼ 2 倍弱の値を示した。小川培地陽性のもは 54 例 (28.9%) で振盪培養の場合よりやゝ良好な検出率を示した。喀痰の場合は全般に検出率は平均値より良好な値を示した。胸水では 25 例中塗抹陽性のもは 1 例 (4%) であり、振盪培養陽性のもは 7 例 (28.0%) で

表1. 検出率の比較

検 材 査 料	施 行 数	塗沫陽性		振盪培養 陽 性		小 川 培 地 陽 性	
		数	%	数	%	数	%
咯 痰	187	26	13.9	46	24.6	54	28.9
胸 水	25	1	4.0	7	28.0	5	20.0
胃 液	13	0	0	0	0	2	15.4
髄 液	5	0	0	2	40.0	4	80.0
計	230	27	11.7	55	23.9	65	28.2

あり、小川培地陽性は5例(20.0%)であり振盪培養が最も良い検出率を示した。胃液では13例に施行し塗沫標本及び振盪培養では菌は検出されず小川培地陽性が2例(15.4%)に認められたのみであり全般に低い検出率を示した。髄液では5例に施行し塗沫陽性例は認められないが振盪培養陽性は2例(40%)であり、小川培地陽性は4例(80%)であり高い検出率を示した。以上の如く胸水、髄液に関しては振盪培養は高い検出率を認めたが胃液については1例も検出されなかった。併し例数が少く結論は出せない。

振盪培養、小川培地及び塗沫標本に於ける結核菌検出の相互関係についてみると〔表2〕の如くである。

表2. 各検出法に於ける相互関係

塗沫標本	振盪培養	小川培地	例 数	%
+	+	+	27	11.7
-	+	+	19	8.3
-	-	+	19	8.3
-	+	-	9	3.9
計			74	32.2

塗沫標本、振盪培養及び小川培地共に陽性のものは230例中27例(11.7%)であり、塗沫陰性で振盪培養及び小川培地共に陽性のものは230例中19例(8.3%)である。塗沫及び振盪培養が陰性で小川培地のみ陽性のものは230例中19例(8.3%)であり、塗沫及び小川培地陰性で振盪培養のみ陽性のものは230例中9例(3.9%)である。即ち塗沫陰性で振盪培養又は小川培地のいずれかが陽性のものは、小川培地陽性のものの方が多く認められた。又塗沫陽性で培養陰性例は認められなかった。

Ⅱ) 振盪培養及び小川培地に於ける培地汚染度について

振盪培養及び小川培地に於ける雑菌による培地の汚染については〔表3〕の如くである。230例中で汚染

表3. 培地汚染率の比較

	施 行 数	汚 染 数	汚染率(%)
振盪培養	230	9	3.9
小川培地	230	8	3.5

されたものは振盪培養では9例(3.9%)であり、小川培地では8例(3.5%)であり両者ともにほぼ同一の値を示した。但しこの場合、雑菌による汚染のため判定に支障をきたすもののみを含み、判定可能の程度のもものは含まれていない。

Ⅲ) 振盪培養により早期に確診し得た興味ある症例について

症例1. 小○保○, 32才, 男, 会社員。

現病歴: 昭和34年9月全身倦怠感、関節痛、発熱が認められ関節リウマチとして治療を受けた。昭和35年5月38.5°C位の弛張熱あり貧血症として輸血、ブレドニン投与を受けた。7月に至り悪感戦慄を伴い40°Cに発熱、鼻出血も認められ7月19日当科に入院した。

入院時所見: 皮膚粘膜は貧血性で出血を認む。脈拍92回、体温38.5~40°C、右鎖骨上窩に小リンパ腺腫脹数ヶあり、心尖部に収縮期雑音(+), 肺は異常なし、肝は3横指径触知、脾は触知せず。

検査所見: 血液は色素48%, 赤血球280万、色素係数0.86、網状赤血球48%, 粒球8万、白血球4400、白血球分類で好中性の骨髓芽球7.0%, 前骨髓球9.5%, 骨髓球14.5%, 後骨髓球18.5%, 桿状核15.0%, 2核14.0%, 3核3.0%, 単球2.5%, リンパ球15.0%。骨髓像は細胞数88000、骨髓芽球と好中性の前骨髓球、骨髓球の増加が著明。血沈は115~146mm、胸部レ線で異常を認めず。

経過: 亜急性骨髄性白血病の疑いで治療を開始したが7月29日に右前胸下部で肋膜摩擦音を聴出し、胸部レ線写真にて胸水貯溜を認めた。胸水の振盪培養で4日後に結核菌を検出し粟粒結核及び類白血病性反応と診断した。尚1ヶ月後に小川培地にて結核菌を認めた。以上白血病を思わせる症状を呈したが、胸水中より振盪培養により早期に結核菌を認め確診し得た。

症例2. 深○松○, 65才, 男, 商業。

既往歴: 25才の時左湿性肋膜炎に罹患した。

現病歴: 昭和38年8月中旬から強い盗汗を認めたが、咯痰、咳嗽等なく8月25日当科に入院。

入院時所見: 体格小、栄養悪い、体温37~37.6°C 胸部は聴打診で異常を認めず、肝は4横指径触知し硬度は増強している。

検査所見：胸部レ線写真で右上肺野縦隔影に接し、ほぼ半円形、辺縁鋭利の胡桃大陰影あり、又両側ほぼ全肺野、特に下肺野に多く米粒大の撒布性陰影を多数認め、腫瘍とその散布を思はせる像を呈した。しかし左下肺野に肋膜石灰化像あり。血液像は異常なく、血沈51~95mm、喀痰は粘液性で塗沫にて結核菌(-)であつたが振盪培養で4日後に結核菌を認め肺結核と診断された。以上の如く腫瘍との鑑別困難であつたが結核菌の早期検出により確診し得た。

症例3。村○光○, 24才, 女。

現病歴：昭和34年10月初旬微熱、咳嗽、喀痰が認められアイロタイシンの使用で改善した。10月末、左胸部に鈍痛あり咳嗽、喀痰が持続する様になり11月2日肺炎と診断され入院した。

入院時所見及び検査成績：体温37.2°C、胸部は左背上部で捻髪音、笛声を聴取する。胸部レ線写真で左上肺野に拡範囲な淡いほぼ均等な陰影を認める。血沈は53~97mm、白血球7800、喀痰は粘液性や膿性で塗沫にて結核菌(-)であつたが双球菌(+), 連鎖状球菌(+), 振盪培養で4日後に結核菌を検出した。以上の如くレ線写真上で肺炎様の像を呈しアイロタイシンにより改善したため肺炎と診断されたが、振盪培養により、結核菌を早期に検出し確診し得た。尚1ヶ月後に小川培地にて結核菌を認めた。

症例4。南○次○, 52才, 男。

既往歴：昭和25年10月より肺結核にてSM, PASの投与と右人工気胸を施行された。

現病歴：昭和32年2月10日、血痰が認められ頭痛、睡眠障害を訴え性格の異常を示した。3月16日より失禁が認められ、38.5°Cに発熱し3月23日当科に入院した。

入院時所見：意識不明で嗜眠状、脈拍90回で細小、左顔面神経麻痺あり、左眼瞼下垂し、胸部は打診にて右前上~中部にかけ濁音を呈し、呼気鋭利及び延長あり、腹壁反射、睪丸反射、両側共なし、膝蓋腱反射、アキレス腱反射両側共なし、病的反射なし、ケルニツヒ症状(+), 項部強直(+), 血沈60~78mm、体温36.5°Cである。

髄液所見：初圧370mm水柱、20cc採液し終圧100mm水柱、淡黄色透明、キサントクロミー(++)、飛塵(+), クエツケンステツト症状(-), 細胞数 $828/a$, 大部分リンパ球、バンデイ(++)、糖25mg/dl、トリプトファン反応(-), 沈渣の塗沫標本で結核菌(-), 振盪培養で3日後に結核菌を認めた。以上の如く非定型の臨床症状を示した結核性髄膜炎であるが早期に確診し得た。

考 按

結核菌の培養に関しては多くの研究が続けられており、より正確に迅速に判定可能であつてしかも簡単に施行出来る方法が望ましいわけである。

液体培地の研究は古くから行われていたが固型培地に比し種々の不利な点があり実用的に使用されにくく固型培地ほど研究されなかつた。併しながら近年化学療法が行われるにつれ結核菌の物質代謝、栄養要求の面での変化に対応するために従來の鶏卵培地による培養のみでは万全を期することが出来ず、かつ鶏卵培地による培養では判定までに長時間を要する状態であり、早期診断により治療法を確立する上にも臨床上大きな欠点とされるに至つた。一方Dubos等^{①②}により抗酸菌の培養にTween 80が利用され、かつ血清アルブミン添加により液体培養が容易になり優れた結果が認められる様になり、液体培養の研究も盛んとなつて来た。

結核菌の発育は一般に遅く液体培地に於ても静置培養ではarithmeticalな発育を示すことが特徴とされているが液体培地に振盪又は通気により酸素を供給することにより結核菌も他の菌と同様にlogarithmicな発育をすることが多くの研究者^{⑦~⑩}により明らかとされた。

当教室でもすでにDubos液体培地の振盪培養により結核菌の発育を促進させGeneration Timeを短縮させ得ることが出来、臨床的に応用して良好な結果を得たことを報告し、又分離培養に用い得ることを予報^{③④⑤⑥}した。

今回著者は結核患者及びその疑ある者の喀痰、胃液、胸水、髄液を用い振盪培養により分離培養し、同時に施行した3%小川培地による培養及び塗沫標本による結核菌の検出について教室で行つた成績を比較検討した。

Dubos培地が研究されて以来、液体培地も次第に使用される様になり、その報告も認められるが多くは基礎的な結核菌発育に関するものであり、患者の被検材料よりの分離培養に関する報告は比較的少ない。

Foley^⑪はDubos培地の静置培養法により143人の結核患者の喀痰より分離培養を行い28例に結核菌を検出し、同時に施行した動物接種試験の成績とは同一の結果を得ており、Dubos培地による分離培養の優れていることを報告している。

Goldie^⑫はDubos培地で静置培養を行い400例について分離培養を試み塗沫陰性で培養陽性のもの34例(8.5%)を得ており簡易に使用出来る培地であることを報告している。

木下²⁰は Dubos 培地の静置培養と小川培地による分離培養の比較を試み、結核患者30人の喀痰につき施行し検出率については両者共にほぼ同じであるが迅速性で Dubos 培地の優れていることを報告している。

林²¹等も Dubos 培地の静置培養により 101 例の喀痰の分離培養を行い小川培地との検出率の比較を試み、Dubos 培地陽性例は32例 (31.7%)、小川培地陽性例は30例 (29.7%) で検出率に大差はないが、検出までの期間は Dubos 培地の方が短いことを認めた。又小川培地陰性で Dubos 培地陽性例が3例認められたがこの逆は認められず、Dubos 培地の優れた点を報告している。

その他液体培地を用い分離培養を試みた報告は少いが Kirchner 培地を用いたものとして室橋²²、城山²³等の報告がありいずれも小川培地に匹敵し得る検出率を示すことが明らかである。

振盪培養による分離培養の報告は教室の予報以外は認められていない。著者の実験では 230 例に施行し塗沫陽性のは27例 (11.7%) に比し振盪培養陽性は55例 (23.9%)、小川培地陽性は65例 (28.2%) と倍以上の陽性率を示しており、振盪培養と小川培地による培養ではほぼ同様の値を示し振盪培養が結核菌の分離培養法として臨床検査に日常使用出来ることを示している。

振盪培養、小川培地、塗沫標本に於ける結核菌陽性例について更に分析比較すると〔表2〕に示す如くである。近年化学療法の発達につれ問題となつて来た塗沫陽性、培養陰性例については、工藤²⁴によれば全例の約5%に培養、鏡検不一致例を認めておるが、本実験では一例も認められなかつた。城山²³は塗沫陽性、培養陰性例は小川培地では若干認められたが Kirchner 培地では認められず培地による差異を指摘している。

塗沫標本、振盪培養及び小川培地共に陽性の例と塗沫陰性で振盪培養陽性、小川培地陽性の例については〔表2〕に見られる如くで問題はないが、塗沫陰性で振盪培養のみ陽性又は小川培地のみ陽性の例については多くの問題を有する。著者の結果では塗沫陰性で小川培地のみ陽性例は19例 (8.3%) であり、塗沫陰性で振盪培養のみ陽性例は9例 (3.9%) で、前者に属する例の方が多しことを示している。小川培地のみ陽性の19例の大部分は発育コロニー数が少なく1ヶないし数ヶのものでありしかも検出までに比較的長時間を要したものである。従つて微量の菌を含有する材料からの分離培養の場合に小川培地陽性で振盪培養陰性となる可能性が考えられ、更に振盪培養の場合、検出に際して

遠沈、塗沫、染色、鏡検等の処置をするためその間に検出率を悪くする要素が考えられる。これと逆に小川培地陰性で振盪培養陽性の例については、林²¹が指摘した如くもともと菌数の少い被検物を培養した場合たまたま生菌の一部が一方に含まれ一方に含まれないと考えるチャンスの問題も考えられるが、又各種化学療法剤と接触した菌が栄養要求の変異又は生活力の減弱を来し卵培地に発育しにくく Dubos 培地に発育し易いことも考えられ、高橋²⁵も菌株によつては培地の種類により生え易い場合と生え難い場合のあることを認めている。又小川培地の判定が8週間後までであつたために Hobby²⁶が観察した長期培養の成績や伊東²⁷が8週間以後に初めて発育を認める菌のあることを考えるとこれらの例にあてはまるものも含まれている可能性を有する。

検査材料別の検出率については〔表1〕の如くであり喀痰ではほぼ平均値に近い値を示している。胸水では25例中塗沫陽性例は1例 (4.0%) にすぎないが振盪培養陽性は7例 (28.0%) と高い値を示した。胸水中の結核菌は折出したフィブリンに附着し易いことが知られており、著者もフィブリン折出の部を接種し、これも検出率の比較的良かつた一因とも考えられる。肋膜炎の性質を早く知ることは临床上重要な点であり、しかもその決定にはしばしば困難を感じる事が多いので振盪培養により早期に結核菌を検出することは有利である。胃液での検出率は低く13例中小川培地のみで2例 (15.4%) 検出されたにすぎないが、胃液培養を行う場合多くは喀痰培養陰性例であり従つて微量排菌の例であり、又胃液を接種する場合 pH の調節にも問題があり検出されにくいと考えられる。髄液に於ける検出は施行例が少ないが、5例中塗沫では1例も検出されないが振盪培養では2例 (40.0%) 小川培地では4例 (80.0%) で検出可能であり比較的高い値を示した。結核性髄膜炎の際には早期治療が必要のため振盪培養での検出は特に有意義となる。髄液中の結核菌検出は化学療法施行前に行はれた場合に良好な結果を得られることが知られているが、振盪培養陽性の2例については1例は既往症に脊椎カリエスがあり化学療法を受けており、他の1例は肺結核で化学療法施行中の例である。

結核菌検出までの期間は早期治療のために出来得る限り短いことが望まれるが、結核菌は発育が他の菌に比べ遅く検出までに長時間を要するが液体培地の発達につれて固型培地に比べ検出までの時間は更に短縮されるであろう。

Foley¹⁸によれば Dubos 培地の静置法で分離培養

を試み、検出までの期間は5日ないし27日で平均11.1日であることを報告している。

Goldie^④も Dubos 培地の静置法で行い8日ないし15日間に検出可能であり、特に塗沫陽性例では検出が早く塗沫陰性例ではやゝ長時間を要したことを報告している。林^⑤も Dubos 培地の静置法で行い32例の陽性例中で5日後に陽性のもの6例、10日後に陽性のもの9例、残りの17例は2週ないし8週後に検出可能であり、同時に施行した小川培地での検出までの日数は最も早いものが12日後であり、他は2週ないし8週後に検出可能であり明らかに液体培地の方が早期に検出々来ることを認めている。木下^⑥も Dubos 培地の静置法と小川培地の検出までの期間を比較し Dubos 培地では6日ないし28日の間に、又小川培地では13日ないし28日の間に検出され特に3週間以内に検出されるものは Dubos 培地による場合が多いことを報告している。

以上の如く液体培地による結核菌の培養により検出までの期間は固型培地に比べやゝ短縮を認める報告が多い。更に液体培地に酸素を供給することにより発育を促進させることが報告されており、Miller^⑦は液体培地中で増殖する場合表面培養に比べ酸素が十分に供給されず強い発育が認められないので酸素供給の目的で振盪培養し Generation Time の短縮を認めている。又 Halpern^⑧は酸素供給により菌の発育を logarithmic に促進させても発育の態度には変化を認めず又酸素供給を中止すると再び発育は arithmetical にもどることを明らかにし、酸素供給の減少につれて Generation Time の延長することを報告している。併しながら振盪培養を用いての分離培養の報告は未だない。

著者の振盪培養による分離培養では結核菌検出までに要した日数は培養開始後3日ないし4日後であり、固型培地に於ける場合はもちろん静置培養に比べ明らかに酸素供給の効果が認められ検出までの期間を短縮させ得ることが可能であり、早期診断の必要な場合特に有用であると考えられる。

使用培地の汚染度については日常検査に使用可能であるか否かの重要な要素となり、液体培地は汚染度が高いため使用されにくいと云われていた。林^⑤は Dubos 培地と小川培地の汚染率について比較し小川培地では1.5%、Dubos 培地では5.5%と Dubos 培地がやゝ汚染され易いことを認めており培地汚染の対策の可能性を論じている。

著者の実験での汚染率は〔表3〕の如くであり振盪培養では3.9%、小川培地では3.5%であり、両者に

ほとんど差は認められていないのでこの点に関しても日常使用に耐え得るものである。培地汚染については培地作製上の汚染は充分注意することによりさけ得るが問題となるのは被検材料の前処置の点であり、著者は髄液及び胸水については前処置なしに接種し、胃液及び喀痰については4% NaOH で5分ないし10分間前処置をしてから接種した。松島^⑨は前処置の点に関して研究を行い H₂SO₄ 又は NaOH をもつて施行し雑菌及び結核菌に対するこれら薬剤の作用を調べ著者の前処置とほぼ同様の方法で良好な結果を得ている。

以上の如く振盪培養による分離培養は良好な結果を示し日常検査法として優れていることが明らかであり、又症例についても前述した如く夫々興味あるものであり振盪培養により早期診断の可能であつたものである。

結 語

結核患者からの喀痰、胸水、胃液、髄液を用いて、230例につき結核菌の分離培養を振盪培養法により施行し、同時に施行した小川培地に於ける結果と比較検討した。

- 1) 振盪培養による結核菌検出率は小川培地に於ける検出率にほぼ匹敵し得る成績を示した。
- 2) 振盪培養による結核菌検出までの期間は3日ないし4日間であり、小川培地による場合より著明に短縮する。
- 3) 振盪培養及び小川培地に於ける培地汚染率はほぼ同一である。

稿を終るに臨み種々御懇篤なる御指導、御校閲を賜つた恩師戸塚忠政教授並びに種々御助力いただいた勝又昭司博士に深謝いたします。

尚本実験成績の一部は具真一博士、荒井聖二博士の御協力によることを記し深謝いたします。

参 考 文 献

- ①Dubos, R. J. et al: Am. Rev. Tuberc., 54: 204, 1946.
- ②Dubos, R. J. et al: Am. Rev. Tuberc., 56: 334, 1947.
- ③戸塚忠政・他: 日本内科学会雑誌, 47: 433, 昭33.
- ④戸塚忠政・他: 日本医事新報, 174: 42, 昭32.
- ⑤具真一・勝又昭司: 日本内科学会雑誌, 46: 771, 昭32.
- ⑥荒井聖二: 信州医学雑誌, 8: 1212, 昭34.
- ⑦Dubos, R. J.: J. Exper. Med., 97: 377, 1953.
- ⑧Cohn, M. L.: Am. Rev. Tuberc., 49: 463, 1953.
- ⑨Kempner, W.: Am. Rev. Tuberc., 40: 157, 1939.
- ⑩Halpern, B. et al: Am. Rev. Tuberc., 70: 665, 1954.
- ⑪Miller, I.

- L.: *Am. Rev. Tuberc.*, 73: 716, 1956.
- ⑫Volk, W. et al: *J. Bact.*, 66: 386, 1953.
- ⑬Weiss, D. W.: *Am. Rev. Tuberc.*, 79: 812, 1959. ⑭青柳高明・他: *日本細菌学雑誌*, 11: 629, 昭31. ⑮川村達・他: *国立公衆衛生院研究報告*, 5: 16, 昭31. ⑯土屋皖司: *日本細菌学雑誌*, 14: 24, 昭34. ⑰Rei, T. S.: *Japan J. Microb.*, 3: 506, 1959. ⑱Foley, G. E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 62: 298, 1946.
- ⑲Goldie, G: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 65: 210, 1947. ⑳木下太郎: *日本臨床結核*, 18: 652, 昭34. ㉑林治・他: *日本細菌学雑誌*, 12: 915, 昭32. ㉒室橋豊穂・他: *結核研究の進歩*, 12: 239, 昭30. ㉓城山万喜治: *衛生検査*, 10: 54, 昭36. ㉔工藤平治: *衛生検査*, 8: 68, 昭34. ㉕高橋昭三: *日本細菌学雑誌*, 12: 369, 昭32. ㉖Hobby, G. L.: *Am. Rev. Tuberc.*, 70: 191, 1954. ㉗伊東恒夫: *医療*, 15: 891, 昭36. ㉘松島留蔵: *京都大学結核研究所紀要* 8 (増刊2号): 576, 昭35.