

抗結核薬の殺菌作用に及ぼす作用環境 の pH 並びに血清濃度の影響

京都大学結核研究所内科学第1（教授 内藤 益一）

副 手 田 中 健 一

（昭和39年7月31日受付）

緒 言

1952年、Medlar¹⁾が肺結核患者切除肺病巣について細菌学的検索を試みた結果、抗酸性菌が多数発見されながら通常の培養法によっては発育の認められない場合の多いことを指摘して以来、Beck,²⁾ Yegian,³⁾ Steele,⁴⁾ Granville,⁵⁾ Hobby,⁶⁾ わが国においては芳賀⁷⁾、伊藤⁸⁾、赤倉⁹⁾、小川¹⁰⁾、中西¹¹⁾等により次々と同様な現象が報告されている。

一方喀痰検査の面からも、近年、塗抹陽性培養陰性という例がしばしば認められるようになって来ていることは周知の通りである。

もとよりこのような染色陽性培養陰性という現象は化学療法以前にもその報告があり¹²⁾、また植田¹³⁾の結核菌発育様式に関する研究によれば抗酸性に染まる結核菌は本来死菌またはこれに近い発育形であるとされ、決して奇異な現象とは言いがたいのであるが、そのような現象が強力な化学療法の実施にともない、日常検査の上でもしばしば認められるようになり、その原因として化学療法剤による生体内殺菌が想定されて来たことに重要な意義が認められるわけである。

もとよりここにいう殺菌とは、結核菌の菌体を瞬時にして破壊死滅させるといった性質のものではなく、菌の代謝過程を長期間にわたって阻害する結果として発育能力の喪失を招来せしめる作用といった程度に解せられるべきものであるが、今日の結核化学療法剤にこのような効果を期待出来るとすれば、これは化学療法の理想に向って一步を進め得たものと考えてよいと

思われる。

しかるに今日迄薬剤の試験管内抗結核菌作用は主として制菌作用の面から検討されて来た傾向がある。これは抗結核薬の作用機序が第一段階としては制菌的であるという見解に立つものであって、それ自体は当然のこととして首肯されよう。しかしながら菌の発育能力を奪い去る効果、即ち殺菌作用の問題に関する検討も、制菌作用に関する論議と同様、これからの化学療法においては重視されて行かねばならぬ重要な課題であると思われる。

従来、試験管内で殺菌作用を検討する方法としては、菌を一定期間薬剤に接触せしめた後、遠沈、洗滌等の操作を加えることによって菌に附着した薬剤を除去し、再び菌を培養してその発育状態を観察するという方法がとられている。このような操作はかなり煩雑であり、またそれにともない少なからぬ雑菌汚染率が認められる。

しかるにさきに東¹⁴⁾によって発表されたシリコン被覆スライド培養法による殺菌作用検討の方式は、結核菌が油水系界面に吸着されやすい性質を利用したもので、シリコン被覆スライドに結核菌を吸着させ、これを被検液中に浸漬し、一定期間後にスライドを取り出してスライドのまま洗滌操作を行ない、これを薬剤を含まない液体培地に培養して菌の生死を判定する方法であって、操作がいちじるしく簡略化され、かつ雑菌汚染率も少ないという利点をもっている。

ところで生体内結核病巣の物理化学的性状は

きわめて広汎多岐にわたっており、したがって薬剤の殺菌作用を試験管内で検討する場合にも出来るだけ多くの角度からこれを行なうことが必要であろうと思考される。そのような因子として著者は、作用環境の pH および血清濃度の2つをとりあげ、これらの因子によって抗結核薬の殺菌作用がどのような変容をうけるかについて検討を試みた。

本報告は現在結核化学療法剤として臨床的に用いられている薬剤について、それらの殺菌効果を系統的に研究したものである。

実験材料

1. 培地

10%牛血清加キルヒナー培地を成書に記載の方法にしたがって作成した。この他高濃度血清加キルヒナー培地作成のため、10倍濃厚キルヒナー原液、および56°C 30分加熱により非働化された牛血清を用意した。

2. 菌株

Tween-albumin 培地に継代培養した研究室保存の H37Rv 株を使用した。

3. 検体

Dihydrostreptomycin (SM), Sodium p-Aminosalicylate (PAS), Isonicotinic acid hydrazide (INH), Kanamycin (KM), Cycloserine (CS), Viomycin (VM), Ethionamide (TH), Sulfisoxazole (SI), Sodium o-Aminophenolmethanesulfonate (SOM) の9検体を使用した。

このうち SM, KM, VM はヴァイアル入り、CS はアンプルに滅菌封入されたものを蒸留水で溶解して用い、INH, SI はそれぞれ2%ハイコチッド溶液、10%サルファジン溶液を使用した。また PAS, SOM は秤量後70%エタノールで、TH は秤量後プロピレングリコールで溶解と同時に滅菌して実験に供した。これらの溶解液を蒸留水で適宜希釈し、所定濃度の薬液を作成した。

4. シリコン被覆スライド

東⁴⁾の方法によって作成した。即ち普通のスライドガラスを縦に3切したものをクロム硫酸中に24時間浸漬後、流水中で数時間洗滌してから乾燥、更に石油ベンジンで洗滌した後室温で乾燥させ、ついでこれを粘度 350~500 centistokes の Dimethyl-silicone の2%クロロホルム溶液に約1分間浸漬後、室温で1乃至2時間風乾し、300°C 1時間熱処理したものを用いた。

実験方法

1. 作用環境の pH と抗結核薬の殺菌作用

10%牛血清加キルヒナー培地の pH を、伊藤¹⁵⁾の方法に準じて1規定塩酸、および1規定苛性ソーダでそれぞれ5.5, 6.5, 7.5に修正した。

20管1系列の小試験管を試験管立に併列し、培地を第1管に3.6ml、第2管以下には2ml ずつ分注、第1管試験管に10,000γ/ml の SM 溶液0.4ml を注加攪拌し、その2ml を第2管へ移し、以下第19管迄倍數希釈を行ない、第20管は薬液を含まない対照培地とした。使用培地は前述の、pH を修正した3種の10%牛血清加キルヒナー培地であり、第1管 SM 濃度は1,000 γ/ml となっている。

同様の操作を他の薬剤についても実施した。INH については希釈列を3種の培地について2系列ずつ作成した。第1管の各薬剤濃度は PAS 10,000γ/ml, INH 100γ/ml, KM, CS, VM, TH 各 1,000γ/ml, SI 10,000γ/ml である。

この後 Tween-albumin 培地に約2週間培養した H37Rv 株培養液を蒸留水で希釈することにより約1mg/ml の菌液を作成し、この菌液にシリコン被覆スライドを瞬時浸漬せしめて結核菌を附着させ、前述した各系列の試験管に1枚ずつ入れ、この各系列を37°C の孵卵器内に静置した。

この中で INH 2系列の中1系列は置換培養¹⁶⁾を行なった。即ち週2回、第1管濃度が100γ/ml となる INH の倍數希釈列を新しく作成し、これにシリコン被覆スライドを移しかえ、培養を続けて行く方法である。

制菌作用の判定は培養開始後4週間毎週これを行なった。4週間後にスライド上の結核菌発育の状態を試験管の中に入れたまま肉眼的に観察し、発育阻止最低濃度 (MIC) を判定した。

ついでこれらのシリコン被覆スライドを生理食塩水で2回よく洗滌し、これを薬剤を含まぬ10%牛血清加キルヒナー培地に移しかえ、再び4週間 37°C に培養した。4週後にスライド上への菌発育の状態を肉眼的に観察し、菌発育のほとんど認められないものは殺菌効果があったものと判定し、そのような効果をあげ得る最小の薬剤濃度を殺菌最低濃度とした。本論文では MSC と略称する。

2. 作用環境の血清濃度と抗結核薬の殺菌作用

10倍濃厚キルヒナー原液、および牛血清を用い、志保田¹⁷⁾の方法によって10%, 50%, 90%血清加キルヒナー培地を作成した。これら各培地は1規定塩酸および

1 規定苛性ソーダで pH 約6.8に修正した。

この3種の培地について第1項において述べたと同様の方法により、各薬剤毎にその MIC, MSC を検討した。

実験成績

MIC, MSC の判定基準はスライド表面における菌発育の状態の肉眼的観察によるもので、集落数が算定出来るものは算定し、算定が困難で

菌集落がシリコン被覆スライド表面の1/3以下のものは+、1/3～2/3は++、2/3以上は+++と判定し、++以上をそれぞれ発育抑制効果、殺菌効果なしとみなした。したがって以下述べる MIC, MSC はいずれも微量の菌発育状態を無視した成績である。

1. 作用環境の pH と抗結核薬の殺菌作用

pH の異なる各培地における抗結核薬の MIC

表 1 作用環境の pH と抗結核薬の殺菌作用

培地 pH	5.5		6.5		7.5	
抗結核薬	MIC (γ/ml)	MSC (γ/ml)	MIC (γ/ml)	MSC (γ/ml)	MIC (γ/ml)	MSC (γ/ml)
SM	15.6	125	2.0	15.6	0.5	2.0
PAS	0.3	1,250	0.6	1,250	0.3	1,250
INH (置換法)	0.024	0.049	0.024	0.049	0.024	0.049
INH (非置換法)	0.024	0.098	0.049	3.125	12.5	25
KM	2.0	7.8	1.0	3.9	0.5	2.0
CS	3.9	7.8	3.9	7.8	3.9	7.8
VM	7.8	62.5	3.9	31.3	2.0	15.6
TH	1.0	3.9	1.0	3.9	1.0	3.9
SI	9.8	312.5	19.5	625	78.1	5,000
SOM	3.9	7.8	3.9	15.6	3.9	15.6

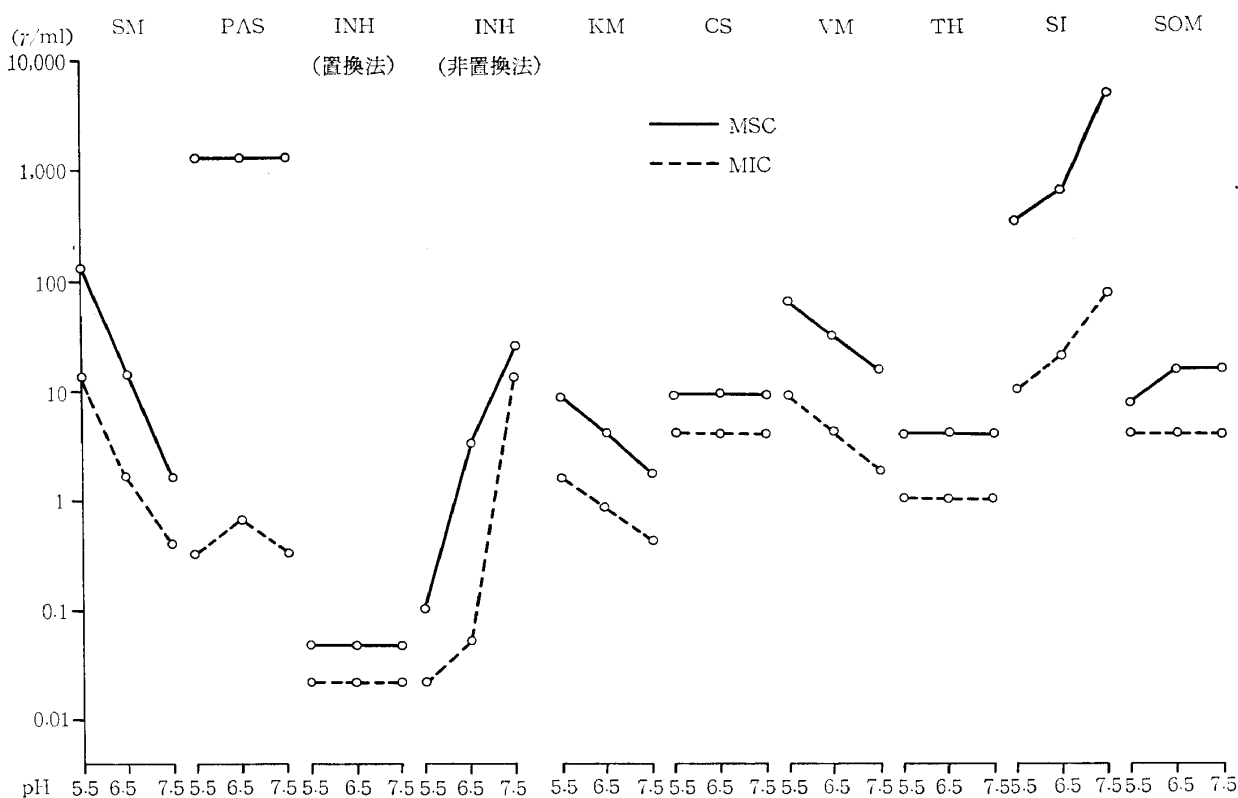


図1 作用環境の pH と抗結核薬の殺菌作用

MSC はこれを一括して表 1 に示した。また図 1 はこれを図示したもので、点線は MIC, 実線は MSC の変化を示したものである。以下個々の薬剤について pH の変動にともなう MIC MSC の変化について説明する。

1. SM

まず SM について観察すると pH 5.5 の培地における MIC は 15.6 γ /ml であるのに対し、pH 6.5, および pH 7.5 の培地における MIC は、pH 5.5 の培地における MIC のそれぞれ 1/8, 1/32 である 2.0 γ /ml, 0.5 γ /ml であって、アルカリ性側で制菌作用が強く出現している。一方 MSC は pH 5.5 の培地における値 125 γ /ml に対して pH 6.5 および pH 7.5 の培地では 125 γ /ml のそれぞれ 1/8, 1/64 である 15.6 γ /ml, 2.0 γ /ml であって、制菌作用と同様アルカリ性側において殺菌作用が強く現われている。

2. PAS

MIC は pH 5.5, 7.5 の培地で 0.3 γ /ml, pH 6.5 の培地で 0.6 γ /ml であり、pH 6.5 の培地で 2 倍に出現している。しかしながら MSC は 3 種の培地でいずれも 1,250 γ /ml と大きく現われている。

3. INH

置換培養法の場合と非置換法との間で実験成績に大きな相違がみられる。即ち培地置換を行った場合は MIC, MSC いずれも培地 PH によって差がなくそれぞれ 0.024 γ /ml, 0.049 γ /ml であるが、培地置換を行わない場合、培地 pH がアルカリ性側に 傾く 程抗菌 作用が 低下し、

pH 7.5 の培地における MIC, MSC はそれぞれ pH 5.5 の培地における MIC, MSC の 512 倍, 256 倍である 12.5 γ /ml, 25 γ /ml を示している。

4. KM

SM 同様アルカリ性培地において MIC, MSC が小さく出現している。即ち pH 7.5 の培地における MIC, MSC はいずれも pH 5.5 の場合の 1/4 である。

5. CS

3 種の培地における MIC, MSC はそれぞれいずれも 3.9 γ /ml, 7.8 γ /ml であり、培地 pH の差によって抗菌作用に差のない実験成績が得られている。

6. VM

SM, KM 同様アルカリ性培地において MIC, MSC の値が小さい。

7. TH

MIC, MSC, いずれも培地 pH によって変動が認められない。

8. SI

培地 pH が酸性に 傾く 程抗菌 作用の 強く 出現する傾向がある。即ち pH 5.5 の培地における MIC, MSC は、pH 7.5 の培地におけるそれ等のそれぞれ 1/8, 1/16 である。

9. SOM

MIC は 3 種の培地において変化がなく、MSC が pH 5.5 の培地においてのみ、他の培地に比し 1/2 となっている。

2. 作用環境の血清濃度と抗結核薬の殺菌作用

表 2 作用環境の血清濃度と抗結核薬の殺菌作用

培地血清濃度	10%		50%		90%	
抗 結 核 薬	MIC (γ /ml)	MSC (γ /ml)	MIC (γ /ml)	MSC (γ /ml)	MIC (γ /ml)	MSC (γ /ml)
SM	2.0	7.8	7.8	62.5	31.3	125
PAS	0.6	1,250	1.2	2,500	2.4	10,000
INH	0.05	3.13	0.10	12.5	0.78	50
KM	1.0	3.9	3.9	15.6	31.3	62.5
CS	3.9	7.8	7.8	31.3	15.6	125
VM	2.4	39.0	9.8	78.1	19.5	156.2
TH	1.0	3.9	3.9	31.3	15.6	125
SI	19.5	625	39.0	2,500	78.1	5,000
SOM	3.9	15.6	7.8	62.5	31.3	250

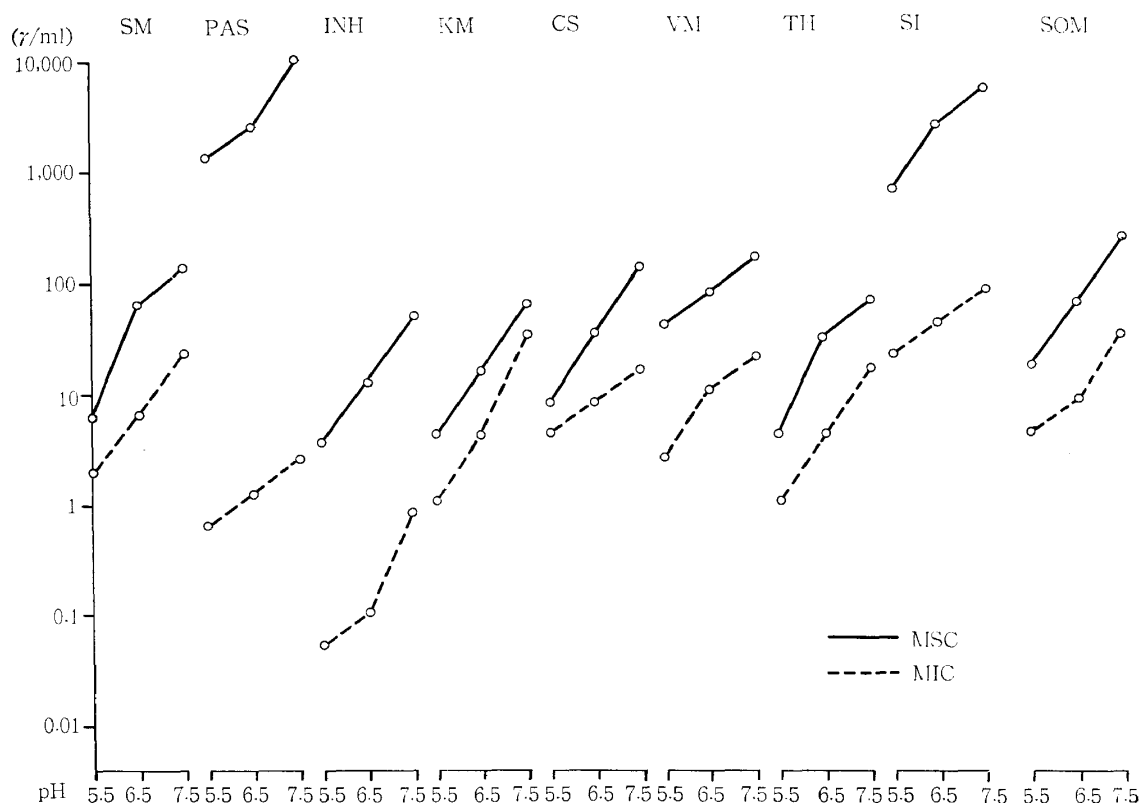


図2 作用環境の血清濃度と抗結核薬の殺菌作用

10%, 50%, 90%にそれぞれ牛血清を含有するキルヒナー培地（以下10%K培地, 50%K培地, 90%K培地, と略記する）における抗結核薬の MIC, MSC を表2, および図2に一括して示した。

1. SM

10%K培地, 50%K培地, 90%K培地における SM の MIC は表より明らかなごとくそれぞれ 2.0 γ /ml, 7.8 γ /ml, 31.3 γ /ml であり, 後2者は10%K培地における MIC のそれぞれ4倍, 16倍となっている。一方 MSC はこれら3種の培地で 7.8 γ /ml, 62.5 γ /ml, 125 γ /ml となっており, 後2者は10%K培地における MSC の8倍, 16倍となっている。

2. PAS

50%K培地, 90%K培地における PAS の MIC は, 10%K培地における値のそれぞれ2倍, 4倍である 1.2 γ /ml, 2.4 γ /ml を示している。一方 MSC は10%K培地で 1,250 γ /ml であり, 50%K培地, 90%K培地ではその2倍, 8

倍である 2,500 γ /ml, 10,000 γ /ml を示している。

3. INH

50%K培地, 90%K培地における INH の MIC は10%K培地における値の2倍, 16倍であり, MSC は10%K培地における値の4倍, 16倍である。

4. KM

90%K培地における KM の MIC, MSC は10%K培地における値のそれぞれ32倍, 16倍である。

5. CS

50%K培地, 90%K培地における CS の MIC は, 10%K培地のそれぞれ2倍, 4倍であるが, MSC は4倍, 16倍であって, MSC が MIC に比し, かなり大きく血清濃度の影響を受けている。

6. VM

90%K培地における VM の MIC, MSC は, 10%K培地における値のそれぞれ8倍, 4倍で

ある。

7. TH

90%K培地における TH の MIC, MSC は、10%K培地における値のそれぞれ16倍、32倍である。

8. SI

90%K培地における SI の MIC, MSC はそれぞれ10%K培地における値の4倍、8倍である。

9. SOM

90%K培地における SOM の MIC, MSC は10%K培地における値の8倍、16倍である。

総括並びに考按

薬剤の試験管内抗結核菌作用に及ぼす培地 pH の影響については研究室の伊藤¹⁵⁾が詳細な報告を行なっている。

このような検討がわれわれの興味をひく一つの理由は、生体内結核病巣の pH が酸性からアルカリ性迄かなり広範囲にわたっているという事実にもとづくものである。

永井¹⁸⁾は切除肺、および実験的に動物より得た結核病巣の pH を、安平¹⁹⁾の方法を利用してガラス電極および pH 試験紙で測定し、乾酪果の pH は 6.5~6.8 程度であるが、これが融解し、空洞化する場合に pH は 6.2~6.3 程度に酸性化すること、また病巣が治癒に傾いて癒痕化する場合にその pH がアルカリ性側に傾くことなどをあげている。

このように結核病巣の pH に差異のあることは、pH の相違する作用環境における抗結核薬の態度と関連してきわめて興味深い。

本実験の成績より、各薬剤の抗菌作用の表現は、培地 pH の差異により大いに相違する場合のあることが明瞭である。しかも制菌作用が酸性側で強く表現されるのに対して殺菌作用がアルカリ性側で強く表現されるとか、制菌作用が培地 pH の差によって変化しないのに、殺菌作用において pH の差が大きい影響をあたえる、といった様な現象は一例も認められない。のみならず制菌作用の変化と殺菌作用の変化との間には、常にほぼ平行的な関係のあることが明ら

かにされている。

さて検討した薬剤の中で、pH の影響を大きくうけているのは SM、培地置換を行なわない場合の INH, KM, VM、および SI であり、この中で SM, KM, VM はアルカリ性側で抗菌作用が強く、INH, SI は酸性側で強く表現されている。pH の影響が抗菌作用に大きい影響をあたえていない薬剤は PAS、培地置換を行なった際の INH, CS, TH, SOM である。

次に MIC と MSC の相互関係についてみると、SM、置換法による INH, KM, CS, TH, SOM においてはいずれの pH の培地においても MSC が MIC の10倍以下であるが、pH 6.5 の培地における非置換法の INH の MSC は MIC の64倍であり、SI の MSC は各 pH の培地でいずれも MIC の32倍以上であって、MIC に比して MSC がやや大きい傾向がみられる。PAS では MSC が MIC の2,000倍以上で、MIC と MSC の差が特に大きい。このことは PAS の作用機序が本質的に制菌的であることを示すものであろう。

以上の現象を生ぜしめた要因についてはいくつかの立場からこれを考察することが可能である。

まず第1に結核菌の発育に際しての至適 pH の問題がとりあげられる。

Dubos & Middlebrook²⁰⁾によれば結核菌の発育限界は pH 5.4 から pH 8.2 の間であり、至適 pH は 6.4~6.7 であるという。伊藤¹⁾は pH 5.5, 6.5, 7.5 の3種の培地においては pH 6.5 の培地でもっとも菌発育がすぐれ、ついで pH 5.5, pH 7.5 の順であったという。

本実験において PAS の MIC が pH 6.5 の培地において他の培地の2倍になっていること、および SOM の MSC が pH 5.5 の培地において他の培地の1/2になっていること等は、このような影響によるものであろう。しかしながらその影響はそれ程大きいものではなく、pH 5.5~7.5 の間においては MIC, MSC の数値に決定的な影響をあたえる程度の菌発育の差はないのであるまいかと想像される。

次に培地内における薬剤の安定性の問題がと

りあげられねばならない。この問題に関連して、シリコン被覆スライド培養法を用いて神田が各抗結核薬について系統的な観察を行なっている。本実験において INH に置換培養法を併行して試みた目的は、アルカリ性培地におけるこの薬剤の迅速な不活性化を考慮したからに他ならない²¹⁾²²⁾。実験成績はまさしくこのような予想を裏書きしており、培地置換を行なった場合は3種の培地で MIC, MSC が全然相違しないのに対し、培地置換を行なわない場合、pH 6.5 の培地で殺菌作用が大きく減弱していること、また pH 7.5 の培地で MIC, MSC がいずれも大きい値をとっていることが注目される。

次に細菌の荷電の問題があげられる。

細菌の荷電は培地 pH と共に変化し、薬剤に対してはこれと反応して最小の荷電の状態を示す性質があるといわれる²³⁾。したがって抗結核薬が両性でない時、正の荷電をもつ塩基性物質は培地 pH がアルカリ性になるほど、負の荷電をもつ酸性物質は酸性になるほど菌体との親和性が増大し、したがって抗菌作用も増強されると説明されている。

本実験において SM, KM, VM 等の塩基性の抗生物質の抗菌作用が、アルカリ性側で強く、酸性物質である SI の抗菌作用が酸性側で強く出現しているのはこのような因子に負うところが多大であろうと思考される。

以上の他にも検討を要する因子はなお多々あるものと想像され、そのような因子の総和がこのような現象を招来せしめたものとして解されよう。しかも本実験においては pH の問題を一定の成分よりなる培地内においてとりあげたのであって、複雑きわまりない生体内病巣においては、更に多くの条件が pH の変化によって影響をうけていることは想像にかたくない。

次にキルヒナー培地に加えられる血清濃度が薬剤の抗菌作用、なかんずく殺菌作用に及ぼす影響について考察を加えたい。

1932年、Kirchner²⁴⁾が血清加合成培地を発表して以来、結核菌の発育を良好ならしめる血清量について数多くの研究が行なわれたが、多くの見解は10%をもって至適としているようにみ

うけられる²⁵⁾。

これに対して1952年、志保田¹⁷⁾は試験管内培地環境を出来るだけ生体に近いものにしたいという考え方から、90%血清加キルヒナー培地を発表した。即ちキルヒナー培地の原液を10倍濃度とすることにより、添加する血清量を90%迄引き上げても結核菌が充分発育すると述べたのである。しかしながらその後の研究により、いわゆる90%血清加キルヒナー培地においてしばしば菌発育の不良な場合があること、そのような原因は培地 pH が大きくアルカリ性に傾くためであること、また pH を適当に修正さえすれば、全血清においても充分結核菌の発育が認められること等が明らかにされて来ている。^{26)~29)}

血清含有量の相違するキルヒナー培地において抗結核薬の制菌作用を検討した報告としては、山下²⁷⁾による SM, PAS, INH, KM, VM, TC, PZA, TBI, SI 等に関する研究があげられる。しかしながら殺菌作用に関しては今日迄このような検討が行なわれていない。

さて山下も述べているように、高濃度血清加キルヒナー培地で薬剤の抗菌作用を検討する場合には培地の pH に特に留意する必要があり、pH 修正の培地と無修正の培地とでは実験成績に非常な差異の認められることが知られている。したがってここでは pH を1規定塩酸および1規定苛性ソーダで約6.8に修正して抗菌作用を検討した次第である。

実験成績によれば各抗結核薬の MIC, MSC はいずれも培地内血清濃度の増加にともない、その値が増加している。換言すれば薬剤の制菌作用、殺菌作用の両方とも、培地血清濃度の増加にともない低下することが明瞭である。しかしながらその程度は薬剤個々について多少の相違が認められる。

まず MIC について観察すると、90%K培地における MIC を10%K培地におけるそれと比較した場合、PAS, CS, SI では4倍、VM, SOM では8倍でいずれも10倍以下であるが、SM, INH, TH では16倍、KM では32倍と大きい開きが認められる。

一方 MSC の変化をみると VM の4倍がも

っとも少なく、PAS, SI が8倍でこれに次ぎ、SM, INH, KM, CS, SOM が16倍でやや大きく、TH が32倍でもっとも大きい。

次に MIC と MSC の相互関係について検討してみると、図より明らかなごとく CS においては MIC に比し MSC が血清濃度の影響をかなり強くうけていることがわかるが、その他の薬剤においては MIC と MSC がほぼ平行して変化している傾向が認められる。

以上の実験成績を山下²⁷⁾の行なった成績と比較してみると、各薬剤について、血清濃度の差異にともなう抗菌作用の変化が本実験において、より顕著に出ているように思われる。その理由の一つとして菌量の問題もとらえられようが、もっとも根本的な要因は、シリコン被覆スライド培養法と菌液滴下法という、実験方法上の差異にもとづくものであろう。

以上の全実験を総括して一言すれば、抗結核薬の殺菌作用は制菌作用と同様、作用環境によってかなり影響をうけるものであるということであろう。比較的単純と思われる試験管内培地環境においてすらそのような差の認められることは、複雑な生体内病巣における薬剤作用機作の難しさを物語るものであると考えられる。

結 論

10%牛血清加キルヒナー培地の pH の差異により、またキルヒナー培地に加えられる血清濃度の差異により、抗結核薬の殺菌作用がどのような影響をうけるかをシリコン被覆スライド培養法により検討し次の結論を得た。

1. SM, KM, VM の殺菌作用はアルカリ性側で強く現われ、SI では酸性側で強く現われる。INH, CS, TH, SOM においては pH の差による殺菌作用の差が認められない。

2. 培地 pH の変化により、発育阻止最低濃度と殺菌最低濃度はほぼ平行して変化する傾向が認められる。

3. 培地血清濃度の増加にともない、一般に殺菌作用の低下が認められる。

4. 培地血清濃度の変化により、発育阻止最低濃度と殺菌最低濃度はほぼ平行して変化する傾向が認められる。

欄筆に際し、御指導を賜った津久間俊次博士に深甚の謝意を表明する。

文 献

- 1) Medlar, E. M. et al: Amer. Rev. Tuberc., 66:36, 1952.
- 2) Beck, F. et al: Amer. Rev. Tuberc., 66:44, 1952.
- 3) Yegian, D.: Amer. Rev. Tuberc., 66:629, 1952.
- 4) Steele, J.D. et al: J. Thor. Surg., 22:459, 1953.
- 5) Granville, G.E. et al: Amer. Rev. Tuberc., 68:727, 1953.
- 6) Hobby, G. L. et al: Amer. Rev. Tuberc., 70:191, 1954.
- 7) 芳賀: 日本臨床結核, 12:652, 1953.
- 8) 伊藤他: 結核, 29:138, 1954.
- 9) 赤倉他: 日本臨床結核, 13:867, 1954.
- 10) 小川: 最新医学, 7:98, 1952.
- 11) 中西: 京大結研紀要, 10:55, 1961.
- 12) Feldman, W.H.: Amer. Rev. Tuberc., 68:477, 1953.
- 13) 植田: 病巣内の結核菌, 医学書院, 1957.
- 14) 東: 京大結研紀要, 7(3):461 (増刊第1号), 1959.
- 15) 伊藤: 京大結研紀要, 7(1):181, 1958.
- 16) 神田: 京大結研紀要, 7(3):328 (増刊第1号), 1959.
- 17) 志保田: 京大結研紀要, 1:135, 1953.
- 18) 永井他: 結核, 32:609, 1957.
- 19) 安平: 日本血液学会雑誌, 18:568, 1955.
- 20) Dubos, R.J. & Middlebrook, G.: Amer. Rev. Tuberc., 56:334, 1947.
- 21) 野村: 結核研究の進歩, 1:54, 1953.
- 22) Winder, F.: Amer. Rev. Tuberc., 73:779, 1956.
- 23) Lamanna, C. & Mallette, M. F.: 基礎細菌学 (甲野訳), 丸善, 1956.
- 24) Kirchner, O.: Z. Bl. Bakt. Bd. 124 org:403, 1932.
- 25) Dubos, R.J. & Middlebrook, G.: Amer. Rev. Tuberc., 54:204, 1946.
- 26) 恒村: 京大結研紀要, 7(3):338 (増刊第3号), 1959.
- 27) 山下: 京大結研紀要, 8(1):5, 1959.
- 28) 上田: 京大結研紀要, 8(1):436 (増刊第2号), 1959.
- 29) 井本: 京大結研紀要, 7(3):306 (増刊第3号), 1959.