ブドウ球菌のファージ型別及びそれと薬剤耐性と の関係について (第3報)

氏 家 淳 雄 伊 藤 周 治

慶応義塾大学医学部細菌学教室 (主任 牛場大蔵教授)

〔受付: 9 月 27 日・1958 年〕

ブドウ球菌のファージ型別においてペニシリン耐性菌にⅢ型が多くⅡ型が少いことは既に第1報及び第2報で報告してあるが、かかる傾向は多くの研究者により指摘されている¹⁻⁷⁾。

特に病院内で分離せる菌株はペニシリン耐性にしてⅢ型を示すものが著明に多く *hospital Staphylococci* という別称がある位である⁸⁾。これはⅢ型のペニシリン耐性菌株がペニシリン治療によつて選択的に流行菌株となつて、患者よりの分離例が増加している為であることが最も考え易い。然し別にⅢ型菌株がペニシリン耐性になり易いこと、あるいはペニシリン耐性になるとⅢ型に変わり易いことも考えられる。

とにかく薬剤耐性化によつてファージ型別が変化するか否かは流行疫学的にみて重要な故、今回は *in vitro* でペニシリン感受性菌より耐性菌を分離し、型別変化の有無を検討した。

実験材料及び方法

1) 使用菌株は第2報に報告せる菌株より撰択した患者分離のペニシリン感受性菌を用う。

2) ファージ型別は第1報、第2報と同様で *National Collection of Type Culture* のファージ20種を用いて、*Williams and Rippon* の方法⁹⁾ に準じて行つた。然し簡略のため溶菌頻度の高いファージ10種、即ち1型ファージ株として29, 52, 2型ファージ株として55, 71, 3 C, Ⅲ型ファージ株として7, 73, 47, 54, 53, を使用した。型別変化の比較は常に同時施行の結果をのみ比較して表示した。

3) ペニシリン耐性化

a) ペニシリン含有普通寒天平板を用いて2～4日間隔増量継代を行い、耐性を逐次増加して、ペニシリン100 u/ml 含有平板に発育したもの、及び約15回継代を行つてペニシリン5 u/ml～50 u/ml 含有平板に発育した

ものを無薬剤普通寒天平板で集落を拾い、普通寒天斜面に分離して便宜上低度耐性菌として使用した。

この低度耐性菌より同様に増量継代を約10回行い、最後はペニシリン100 u/ml 含有平板で集落を分離して便宜上高度耐性菌として使用した。なおこれらの継代を通じて3回に1度は集落を拾つて継代した。

斜面に分離後、耐性を平板法にて測定したが低度耐性菌は4株が50 u/ml 耐性で、他は0.05 u/ml～5 u/ml 耐性を示し、高度耐性菌は1株のみが10 u/ml 耐性で大部分50 u/ml 以上の耐性を示した。対照としてエリスロマイシン耐性化を同じ方法で行つた。大部分10回継代で、多くも15回継代で100 γ /ml 以上耐性となり斜面に分離後も耐性の低下が認められなかつた。又薬剤を含まない普通寒天培地に2日間隔で継代を行い、15代及び25代継代せるものを対照として使用した。この際、耐性化の場合と同様に3回に1度は平板を用いて集落を分離して継代した。

これら対照に用いた菌株はペニシリン耐性化に用いた菌株に数株を加えたものである。

b) ペニシリン含有ブイヨンを用いて2～4日間隔で増量継代を行い、継代毎に型別を行つて耐性上昇と型別変化を関連させながら観察した。このときペニシリンを含まないブイヨンで継代せるものを同時に型別して対照とした。継代は15代行い、これによる耐性上昇は菌株によつて色々であるが斜面分離後の測定では平板法で0.1～500 u/ml の耐性を示した。型別変化あれば継代の途中で平板で集落を拾つて斜面に分離し、これらは全て継

UJIIE Atsuo and ITO Shuji: Phage-typing of *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* and its relationship to drug resistance. III. Department of Bacteriology, School of Medicine, Keio University. — Jap. J. of Bact., 14 (3), 198–205, 1959.

表1 薬剤耐性化と型別変化

型別変化	ペニシリン		エリスロマイシン	無薬剤継代株	
	低耐株	高耐株	耐性株	15代	25代
全く同じ	0	0	9	11	10
溶菌程度の差のみ	2	2	4	2	2
弱反応のみ消失又は附加	5	3	5	5	5
強反応1つのみ消失又は附加	6(4)	4(4)	4(2)	1	4(2)
強反応2つ以上消失又は附加	5(5)	8(8)	2(1)	3(3)	2(2)
共に全く溶菌せず	3	3	4	5	4
計	21(9)	20(12)	28(3)	27(3)	27(4)

(): 他のファージ型に変わったもの

代終了後再びファージ型別, 及び耐性測定を行って比較した。

使用菌株は平板増量継代で用いた菌株より撰んだ10株である。猶使用せるペニシリンは明治の結晶ペニシリンGナトリウムである。

4) 溶原性に対する検討。各菌株のブイヨン2日培養菌液の遠心上清を分離し, ファージ増強に用いる10種の菌株を indicator として, ファージ価を重層法及び一滴法(ファージ型別と同様な手技)にてファージの有無及び価を算定した。

又同じ2日菌液 3 ml を内径 8.5 cm のペトリ皿に入れ約 20 cm の高さより紫外線(シマダ低オゾン殺菌灯 10W, 2537 Å)を90秒間照射し, 同量のブイヨンを加えて37°C 5時間培養して後に, その遠心上清を同様にしてファージ価を算定した。重層法は小試験管でファージ稀釈液 0.2 ml と指示菌の1日培養ブイヨン菌液を4倍に稀釈したもの 0.8 ml とを混じて, 37°C温浴内で5分間吸着後にその 0.5 ml を 0.6%寒天培地と混釈して1日培養後乃至2日培養後に算定した。

5) “Efficiency of Plating” は上述の重層法を用いて検討した。

実験成績

薬剤含有普通寒天平板による増量継代で得た耐性菌は表1にある如くエリスロマイシン耐性菌及び無薬剤継代株と比べ, ペニシリン耐性菌はファージ感受性の変化が多く認められ, 従つて他のファージ型に変つているものも多い。

特に高度耐性菌において著明である。

これを型別分布でみると表2の如く原株に比し耐性化菌株はⅠ型が少くなりⅡ型も高度になると少くなつてい

る。Ⅲ型も少くなっているが, この場合Ⅰ+Ⅲ型に変つているためで, むしろⅢ型ファージに溶ける菌株は増加している。Ⅰ型の菌株は耐性になると, 特に高度耐性化すると全然溶菌しない型別不能のものにこの場合は変つている。

これが一般的傾向とは数が少い故云うことは出来ぬ。なおⅠ+Ⅲ型が増加しているも, この場合全てⅠ型より

表2 ペニシリン耐性化と型別分布の変化

ファージ型	感受性原株	低耐株	高耐株
I	5	2	0
II	5	5	3
III	4	2	1
I+III	0	4	4
O+	3	2	3
O	4	6	9
計	21	21	20

O+: 弱反応で溶けるもの

O: 全く溶菌せぬもの

由来したものではないが, Ⅰ+Ⅲ型に変つた菌の原株は全て弱反応ながらⅠ型のファージに溶菌していて, 耐性化により溶菌程度が著明になったと云い得るものである。同じⅢ型でも耐性化株は溶菌程度が著明で, ペニシリン耐性化によりⅡ型が少くⅢ型ファージに溶け易くなる傾向は僅かながら認められるも, はつきりした成績ではない。

ペニシリン含有ブイヨンで増量継代して得た耐性菌の型別変化は表3に示してある。

この表は継代途中及び15代継代で分離せる菌株を後で同時に型別及び耐性検査を行い, 比較せるものから代表

表 3 ペニシリン増量継代(ブイヨン)における分離耐性菌株の型別

菌 株	発育	色素	耐 性 度 u/ml	フ ァ ージ									
				29	52	55	71	3 C	7	73	47	54	53
原耳 252	++	++	0.05	+++									
14 (25)	++	++	10	+++									
原耳 261	++	+	0.025	+++	+++								
15 (25)	+	++	10	+++	+++				++	++			
原 311	++	+	0.025	+++	+++								
14 (1000)	++	++	>500	+++	+++						±	+	
原耳 177	++	+	0.025			+	±	+					
8 (5)	++	++	1	±		++	+	++					±
15 (500)	++	+	25	++	±	++	+	++	±	±	±	±	+
原耳 217	++	±	0.025			+++	+++	+++					
15 (25)	++	±	5	+		+++	+++	+++			±	±	±
原耳 13	++	+	0.025			0							
4 (50)	++	++	1			0							
8 (500)	++	++	25		±								
15 (500)	+	±	25	+	±								
原耳 216	++	++	0.025								±		± ±
15 (500)	++	++	50	++	±				++	++	++	++	±
15 (100)	++	+	50	++	±				++	++	++	++	±
原 303	++	++	0.025	++							±		++
13 (100)	++	±	5	+++	++				++	++	++	+++	++
15 (250)	++	±	50	+++	++				+++	+++	++	+++	++
15 (50)	++	++	25	++					++	++	++	++	++
原 304	++	++	0.025	+							±		++
12 (100)	++	+	10	+++	++		±		++	++	++	++	+++
15 (25)	+	+	10	+++	++	±	±		+++	+++	+++	+++	+++
15 (100)	+	±	10	+++	±	±			++	++	+	++	±
原耳 242	++	++	0.025	+					+	++	+	++	+
6 (10)	++	++	0.25	++	±				++	+++	++	++	++
14 (100)	+	++	50	+++					++	+++	+	++	++
15 (1000)	+	++	250	+					+	++	±	++	+

菌株: 原は感受性原株を示す

14 (25) は 14 代の 25 u/ml ペニシリン含有ブイヨン発育菌より分離せるもので以下これに準ずる。

的な株を選び出したものである。

耳 252株は14代継代しても原株と変りない。

しかしこの菌株を普通寒天平板で耐性化した低度及び高度耐性菌は共にⅠ型から、どのファージにも全然溶菌しない型別不能に変つている。

即ち耐性化により必ずしも一定の変化を示すとは限っていない。

耳 261株は15代継代して耐性になると発育は悪くなり反対に *aureus* の色調が強くなり型別はⅠ型よりⅠ+Ⅲ型に変つている。

表 4 培養時間と型別との関係

菌 株 (304 株)	培養時間	型別菌量	フ ァ ージ									
			29	52	55	71	3 C	7	73	47	54	53
原 株 (0.025 u/ml)	24×5	原 液	++						±			+
	24×5	10 ⁻¹ 液	+++		±			+	+	±	±	++
	24×4	原 液	++						±			++
	24×3	"	++						±			++
	24×2	"	+									++
	24×1	"	+									++
	24×1	10 ⁻¹ 液	+									++
	6	原 液	+									++
	4	"	±									++
	3	"	+++					+	±			++
低度耐性株 (0.25 u/ml)	24×3	原 液	+++					+++	+++	++	++	+++
	24×2	"	+++					++	+++	++	++	+++
	24×1	"	+++					++	++	++	+	+++
	5	"	+++					++	++	+	+	+++
高度耐性株 (250 u/ml)	24×3	原 液	+++					++	+++	++	++	++
	24×2	"	+++					++	+++	++	+	++
	24×1	"	+++					++	+++	++	+	+++
	5	"	+++					++	+++	+	++	++

(): 平板法に依るペニシリン耐性度

311 株は発育には著変なく、色素産生が強くなり型別はⅢ型ファージに弱いながら溶ける様になっている。

耳 177 株は中等度耐性菌になると色素産生が多くなりⅡ型に溶ける程度が強くなると共に溶菌域もやゝ広くなっている。然し高度になると発育がやゝ悪く、色素産生も少く溶菌域も広くなりⅠ＋Ⅱ型に変っている。

耳 216 株は耐性になると共に発育悪く、型別はⅠ及びⅢ型のファージに溶け易くなっている。

なお色素産生の異なる同じ耐性菌を分離したが型別及び耐性において変りなかつた。

303 株も同様であるが、この場合色素産生の良いものと悪いものにおいて色素産生の良い方が幾分溶菌程度が弱いのが見られる。

304 株も耐性化すると発育が悪くなり型別は溶菌程度及び広さが著明になつている。

耳 242 株は中間において溶菌域の広さ及び溶菌程度が著明になつているが、250 u/ml 耐性になると発育は依然として悪いが原株と大体同様な型別を示している。

以上より一般に実験的ペニシリン耐性化すると溶菌域が広く、溶菌程度も強くなり、特にⅢ型のファージに溶

け易くなっている。

ペニシリン耐性化すると一般に発育速度が遅くなり、特に高濃度耐性化すると著明である。

こゝで単に発育が悪いために型別の変化が起るのか否かについて検討した。

第 1 に耐性菌の型別と発育速度の良い原株の型別を同じ培養時間の菌液で比較していることが良いか否かである。

それで種々の培養時間の異なる菌液を揃えて、同時に型別を行い比較したのが表 4 である。

304 株の 5 日培養菌液を 10 倍に稀めた菌液を用いて型別をしたとき、及び 3 時間菌の型別は溶菌域が広く又強く溶菌して、培養時間及び菌液の濃度に依つて多少とも変化はみられる。しかしこの株の耐性菌は低度耐性菌も高度耐性菌も共に、これ以上の変化を示し、この株においては単に発育相の差からのみでは説明出来ない。

第 2 に発育の悪い耐性化株を普通寒天平板に継代して発育の良くなつた場合、どの様に型別が変るかを検討した。勿論このときは耐性度の変化も見ている。これが表 5 である。

表 5 発育悪き高度ペニシリン耐性菌とそれに由来する発育可長な耐性菌の型別比較

原 株	発 育	耐 性 度 u/ml	フ ァ ージ									
			29	52	55	71	3 C	7	73	47	54	53
329	±	250			±							
	+	100			冊							
303	±	>500	冊 冊	冊	±	±		冊	冊	冊	冊	冊
	冊	0.25	冊 冊	冊				冊	冊	冊	冊	冊
311	±	250	(冊)	(冊)			0					
	+	2.5	冊 冊	冊								
耳 26	±	250	±	±				(±)	(±)	(±)	(±)	
	冊	100	冊 冊	冊				冊	冊	冊	冊	冊

() : 同時に行つた感受性原株の型別
発育: 感受性原株の発育程度は冊である

表 6 I 溶原性ファージに対するペニシリン耐性化の影響 (1 滴法)

	溶原ファージ	指 示 菌									
		29	52	55	71	3 C	7	73	47	54	53
	304 原株 (0.025 u/ml)						+	冊	冊	冊	冊
	Pc 304 (0.25 u/ml)						+	冊	冊	冊	冊
	Pc 304 (250 u/ml)						+				
	Pc 304-8 (250 u/ml)						+	冊	冊	冊	冊
紫外線照射	304 原株			?	冊	冊		冊	冊	冊	冊
	Pc 304			冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊
	Pc 304			冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊
	Pc 304-8			冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊

() はペニシリン耐性度を示す

329 株と 311 株は感受性原株に復帰している。しかし 303 株は発育が良くなるにつれて耐性度も著減しているが型別は高度耐性菌と大体同様である。耳 26 株において、高度耐性菌は溶菌程度が弱く、溶菌域も狭くなっているが、発育の良くなると耐性度はあまり低下しなくとも、原株以上に溶菌程度が強く型別も I + III 型に変つていく。しかし発育が良くなつたとは云つても、原株よりは依然として多少悪く、又このとき発育のみでなく耐性度の変化も伴ふ故に判然としないが、329 株と 311 株は発育速度が関係している如くに、303 株と耳 26 株は関係していないかの如に見える結果である。

次に耐性化によつて型別の変化せるとき溶原性に変化が認められるか否かをみた。ブドウ球菌は溶原性になっている場合が非常に多い。私達も薬剤含有ブイヨンで増量継代を行つた 10 株について、ファージ増強用標準菌株より 7 株を選んで指示菌として溶原性を検査した処、4 株が溶原性であつた。これら 4 株のうち 304 株のみに耐性化による型別変化がその菌の溶原性ファージの変化を伴ふか否かをみたのが表 6 である。

表 6 II 溶原性ファージに対するペニシリン耐性化の影響 (重層法)

	指 示 菌	7							73							55 71 29 53			
	ファージ稀釈																		
	溶原ファージ	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁰	10 ⁰	10 ⁰	10 ⁰
	304 原 株	+	41	2	1				++	+	+	8							
	Pc 304	+	20	3					++	+	20	1							
	Pc 304	23	1	1					+	46	1								1
	Pc 304-8	+	160	8	1				++	+	64	5							
紫 外 線 照 射	304 原 株	+++	++	+	86	16			+++	++	+	70	13						22
	Pc 304	+++	++	+	96	10			+++	++	+	104	7						9
	Pc 304	+++	++	+	114	8	1		+++	++	+	33	9						1
	Pc 304-8	+++	++	+	240	23	1		+++	++	+	+	32						

表 7 ファージ型別と plating efficiency 及び溶菌斑の大小との関係

ファージ	7						55						29								
ファージ稀釈	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
304 原 株	54	5													31	1					
	++	+	+	25	2			2							++	++	+	65	3	1	
	(++)	(+)	(+)	(±)	(0)			(0)							(++)	(+)					
Pc 304				62	7			2													
				125	11	2		2									15				
	+++	+++	++	+	44	1		3							+++	++	+	+	44	7	
	(+++)	(+++)	(++)	(+)	(±)			(0)							(+++)	(++)	(+)				
Pc 304				11	3			27													
				49	8			22	2	1									10	2	
	+++	+++	++	++	+	42	8	+	30	2					+++	+++	++	++	+	31	2
	(+++)	(+++)	(+++)	(++)	(+)			(+)	(±)	(±)					(+++)	(+++)	(+++)				
Pc 304-8				10	3			10	3												
				43	10			18											18	3	
	+++	+++	++	++	+	62	1	++	+	10	1				+++	+++	++	+	+	11	2
	(+++)	(+++)	(+++)	(++)	(+)			(++)	(±)	(±)					(+++)	(+++)	(+++)				
耳 216 原株		1													31						
	++	+	5												(0)						
Pc 耳 216-6				12																	
				4																	
	++	+	7												++	+	2				
															(++)						

数字の上, 中, 下段は夫々大, 中, 小溶菌斑数を示す () は同時に施行せる一滴法に依る判定 Pc 304-8 及び Pc 耳 216-6 は発育悪いため 2 日培養後判定で他は著変ない故 1 日培養後判定である。

溶原性ファージの溶菌域及び放出量は紫外線を照射しないで分離するときは各菌株間に多少の差を認められるも、紫外線照射して後に分離した場合、非常に良く一致して、この使用した指示菌の範囲内では殆んど変化がない。然し高度耐性菌である **Pc 304** 及び **Pc 304-8** は指示菌53に対し溶菌斑形成が殆んどないか、全く認められぬ。然し原株にて弱い故にはつきりと変化あるとは云えない。

次に型別変化の程度を重層法を用いて “**plating efficiency**” より検討したのが表7である。この表から耐性化によつて溶菌程度が強くなる場合、主に **plating efficiency** が増大するためと考えられるが、然し一つ一つの溶菌斑が大きくなる為に “**plating efficiency**” は同じでも型別において溶菌程度が強くなる場合もあることが解る。勿論両方の機序が考えられる場合も、“**plating efficiency**” のみが大きくなる場合もみられる。

又型別において全く溶菌しない株が耐性化に依つて溶菌される様に変化した株でも、ファージ濃度を高めて重層法でしらべると溶菌斑が認められ、“**plating efficiency**” の差であることが解る。数が少いので判つきり結論し得ないが、この場合重層法でも溶菌斑が認められないと云う例はまだ経験していない。例えば 304株と55ファージ、耳 216株と29ファージの場合である。

考 按

In vitro でブドウ球菌をペニシリン耐性にすると型別の変化が多くみられ、一般にファージに溶け易くなり、しかも幾分Ⅲ型が増大してⅡ型が減少する傾向はみられたが、この際Ⅲ型のファージを多く使用していることも議論のある処である。又これら耐性菌は一般に発育が悪く、全てペニシリネースを産生しない点等、患者より分離せるペニシリン耐性菌と異っている。

こゝで **in vitro** 耐性菌が単に発育が悪いためにファージ型別が変わるのか否かについて検討した。発育速度に差がある菌株を同じ培養日数で型別を比較することは当然発育相の異なる菌液で比較することになる。それで培養日数の異なる菌液を揃えて型別を行つたが、使用菌株においては、耐性化株の型別変化は著明で発育相からのみでは説明出来ない結果である。

次に発育の悪い耐性化株を薬剤の含まない培地に継代して発育の良い集落を分離して型別の変化を比較した。感受性原株と同じ型別に復帰したものも見られたが、復帰しないものもありはつきりしない。しかも発育は良くなくても感受性原株程ではなく耐性度の変化も伴うので

判つきりと、発育との関係を見ることは出来なかつた。しかし耐性化に依つて発育も悪くなるが型別に何ら変化を示さない菌株も多数あり、又型別の変化を示しても発育に差が認められぬものもあり、単に発育の差のみで型別の変化を示すことはあつても少いものと思われる。

耐性化により色素産生性の変化を来す菌株があるけれども両者間に一定の関連性をみることは出来なかつた¹⁰⁾。

これらの型別変化が本質的に変化せるものか単に溶菌程度の変化か、即ち “**plating efficiency**” の差にすぎぬかを検討した。実験菌株において溶菌程度の増大は主として “**plating efficiency**” が増大するためと思われるが、一つ一つの溶菌斑が大きくなることも関係している例もあることが解つた。溶菌斑の大きさは発育速度の遅い菌株が一般に大きい傾向はみられたが特に検討はしていない。

型別試験で全然溶菌しない菌株が耐性化に依り溶菌される様に変つたとき、これが単に “**plating efficiency**” の差でなく本質的に変つていると思われるものは本実験の範囲では認められなかつた。

結 論

ブドウ球菌のペニシリン感受性原株より **in vitro** で耐性菌を分離し、ファージ型別に変化が起るか否かを検討した。

In vitro ペニシリン耐性菌は **in vitro** エリスロマイシン耐性菌に比べて型別の変化を示すものが多く、約半数において他の型に変化している。一般にファージに溶け易く、又溶菌域が広がつて幾分Ⅲ型ファージに溶け易くなる傾向がみられた。

In vitro で得たペニシリン耐性菌は大部分発育が悪くなつてゐる故、発育の差による型別変化を検討したが、単に発育が悪いためのみではこれら型別変化を説明出来なかつた。ペニシリン耐性化による溶菌程度の差は主として “**plating efficiency**” によると思われる結果を得たが、同時に溶菌斑の大きくなるために溶菌が著明になると思われる例もみられた。

ファージ型別試験で全然溶菌されぬものがペニシリン耐性化によつて溶菌される様に変つた場合、少数例の経験ではあるが、すべてが単に “**plating efficiency**” の差によつて説明され得るものであつた。

又ペニシリン耐性化に伴い溶原性ファージの変化も見られなかつた。

然しながらこれらの結果は一般に発育が悪くペニシリンナーゼ非産生である *in vitro* ペニシリン耐性菌を対象としたものであるから、これをもつて直ちに生体内の現象への類似性を求めることは保留されねばならない。

本研究の一部は昭和32年度文部省科学研究費総合研究班「微生物の変異と疫学」の補助金によつた。又この要旨は第12回日本細菌学会関東支部総会(昭和32年11月16日。東京)で発表された。稿を終るに臨み御指導御校閲を賜つた牛場大蔵教授に深甚なる謝意を捧げる。

文 献

- 1) 氏家淳雄, 伊藤周治: 日本細菌学雑誌, 12巻6号, 455, 1957.
- 2) 氏家淳雄, 伊藤周治: 日本細菌学雑誌, 12巻9号,

- 707, 1957.
- 3) Kight, V. & Holzer A. R.: J. Clin. Invest., 33; 1190, 1954.
- 4) Fusillo, M. H., Roerig, R. N. and Erust, K. S.: Antibiotics & Chemotherapy, 4; 1202, 1954.
- 5) Gould, J. C. and McKillop, E. J.: J. Hyg., 54; 486, 1954.
- 6) Jackson, G. G.: J. Lab. Clin. Med., 44; 317, 1954.
- 7) Oeding, P. and Vogelsang, T. M.: Acta Path. and Microbiol., Scand., 34; 47, 1954.
- 8) Williams, R. E. O. & Rippon, J. E.: J. Hyg., 50; 320, 1952.
- 9) 波多野基一, 岩崎洋治: 日本細菌学雑誌, 12巻6号, 491, 1957.
- 10) Gould, J. C.: Nature, 176; 176, 1955.