

# トリパノゾーマ・ガンビエンゼの孵化 鶏卵内培養法に関する研究及び同法を 応用した2～3の実験について

## 第3報 人血清のトリパノゾーマ殺滅作用に関する研究

金沢大学医学部微生物学教室(主任 谷教授)

竹 多 外 志

(昭和32年4月10日受付)

### Studies on the Fertile Egg Culture of Trypanosoma Gambiense and Some Experiments by This Method Report 3. Study on the Trypanocidal Action of Human Serum Toshi Takeda

Department of Microbiology, School of Medicine, Kanazawa University  
(Director : Prof. Dr. T. Tani)

#### 第1章 緒 言

トリパノゾーマ(以下「ト」と略す)感染動物において「ト」が血中に増殖し動物がまさに死亡せんとする時に、人血清の少量を注射すると動物血中より「ト」は急速に消失し動物は死を免れる。この殺「ト」作用は人血清の最も特異にして興味ある作用の一つである。1902年、Laveran & Mesnil<sup>1, 2)</sup>は「ト・ナガナ」感染動物においてこの事実を初めて発見し、人血清中に「ト」殺滅素 Trypanocidie なるものの存在を報告した。この殺「ト」作用は人血清のみならず類人猿の血清中にも存在するがより下等な他動物(下等な猿、鶏、家鴨、馬、牛、羊、山羊、豚、兎、海狸等)には存在しない<sup>1-4)</sup>。人血清の本効果は生後3カ月で出現するが<sup>3)</sup>、種々の程度に差異が見られ、ワッセルマン反応陽性血清では一般に強く<sup>4)</sup>、或る病的条件、特に種々の肝臓疾患のもとでは低下する<sup>5-11)</sup>。所謂「ト」殺滅素は比較的耐熱性で、62°、30分で破壊されるが、新鮮海狸血清(補体)の追加によつても賦活されない<sup>5-15)</sup>。欧米における報告はすべて「ト・ガンビエンゼ」(「ト・ガ」と略記)に対して全く無効と記載しているが、本邦では「ト・ガ」に対し顕著な効果をもつと報告されている<sup>16-19)</sup>。

本作用の機転に関しては Mesnil<sup>2)</sup>、Goebel<sup>20)</sup> は in vitro では直接的な殺「ト」作用は確認されないとし、Rosenthal et al<sup>5-10)</sup> は人血清の殺「ト」作用は間接的なものであり、生体の防衛機構の関与のもとで成立つと考えた。即ち、人血清中には「ト」殺滅素 Trypanocidie なるものは存在せず、その前段階の Trypanocidogene Substanz として存在し、生体内で細網内皮系により賦活され初めて本効果を現わすと説明した。かかる“indirekt”説に反し York et al<sup>22)</sup>、Zimmermann<sup>14)</sup>、Culberstone<sup>24)</sup>等は in vitro にて直接的な「ト」殺滅素の存在を認め生体内の現象をも説明せんとした。これらの in vitro の実験は「ト」が辛うじて21~24時間生存し得る如き不適な条件のもとで行われたものに過ぎない。一方著者は第1報において「ト」の孵化鶏卵内(in ovo)培養法の基礎的実験を行い「ト」の in vitro 実験が殆んど困難な今日において、これに代るものとして、in ovo の実験を追加検討する要あるを強調した。本報においては人血清の殺「ト」作用に関する問題をとり上げ、in ovo の実験を新たに追加し、些か知見を補遺せんと試み、ここに実験成績を報告する次第である。

第2章 実験材料及び実験方法

当教室保存の「ト・ガ」及び「ト・エバンシー」(「ト・エ」と略記)株を用いた。その菌力、菌液作製法、マウス接種法、孵化鶏卵内実験法、観察法、菌数記載

法等は前報に準じた。

人血清は著者自身の新鮮活性血清を用いた。その他の事項は、実験の都度略記する。

第3章 実験成績

第1節 in vivo の実験成績

1. 「ト・ガ」接種後第3日 マウスにおける人血清の殺「ト」作用

第1表に示す如く「ト・ガ」接種後第3日(極期)のマウス血液中には多数の「ト」が増殖し、4日目マ

ウスは必ず死亡する。しかるに人血清注射群では殆んど注射後第1日で血中より「ト」は消失し、大多数の動物は死を免がれる。この際血清の注射量により経過に明らかな差異が見られ、0.1cc 以下では一旦血中より完全に消失した「ト」が注射後第6~7日目に再び

第1表 「ト・ガ」接種後第3日マウスにおける人血清の殺「ト」作用

人血清注射部位： マウス腹腔内  
 検査材料： マウス尾端血液  
 分数式： 「ト」の数/視野数

マウス No.	人血清量	人 血 清 注 射 後 の 経 過															
		直前	12時間後	1日	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 (対照)	0cc	$\frac{20}{1}$		死													
2 (〃)	0	$\frac{18}{1}$		死													
3 (〃)	0	$\frac{10}{1}$		死													
4	0.025	$\frac{10}{1}$	$\frac{2}{1}$	-	-	-	-	少	$\frac{3}{1}$	$\frac{7}{1}$	∞	死					
5	〃	$\frac{20}{1}$		$\frac{5}{1}$	-	-	-	-	$\frac{4}{1}$	$\frac{20}{1}$	死						
6	0.05	$\frac{6}{1}$	$\frac{7}{1}$	-	-	-	-	-	少	$\frac{2}{1}$	$\frac{30}{1}$	死					
7	〃	$\frac{12}{1}$	-	-	-	-	-	-	少	$\frac{3}{1}$	$\frac{20}{1}$	死					
8	0.1	$\frac{3}{1}$	-	-	-	-	-	-	-	$\frac{2}{1}$	$\frac{10}{1}$	∞	死				
9	〃	$\frac{10}{1}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓ 四 週 間 生 存 ↑
10	〃	$\frac{20}{1}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11	0.15	$\frac{13}{1}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12	〃	$\frac{9}{1}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	0.2	$\frac{15}{1}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

血中に現われ、以後対照と同じ経過でマウスを死亡させる。0.15cc 以上ではマウスは完全に治癒した。

即ちマウス体内では人血清は明らかに殺「ト・ガ」作用を現わすが、その完全を期する場合には或る量以上を要する。

2. 「ト・エ」接種後第3日マウスにおける人血清の殺「ト」作用

第2表に示す如く対照マウスはすべて第4~5日目

に死亡するが人血清の注射により血中より「ト」は消失し、多くは第1次発作の死を免がれる。しかし「ト・ガ」実験群と異なる点は、「ト・ガ」感染マウスを完全に救い得た血清量、或いはそれ以上でも「ト・エ」では完全治癒は見られず、再発によりマウスは死亡しており、0.025cc では全く効果がなかつた。即ち人血清はマウス体内では「ト・エ」に対しても殺「ト」作用を有するが、その効果は「ト・ガ」に比して低い。

第2表 「ト・エ」接種後第3日マウスにおける人血清の殺「ト」作用

マウス No.	人血清量	人血清注射後の経過												
		直前	1日	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0.25cc	$\frac{10}{1}$	$\frac{20}{1}$	死										
2	0.05	$\frac{20}{1}$	$\frac{10}{1}$	-	-	-	-	少	$\frac{7}{1}$	$\infty$	死			
3	0.1	$\frac{8}{1}$	-	-	-	-	-	-	$\frac{2}{1}$	$\frac{12}{1}$	$\infty$	死		
4	"	$\frac{13}{1}$	-	-	-	-	少	$\frac{2}{1}$	$\frac{15}{1}$	$\infty$	死			
5	0.2	$\infty$	$\frac{13}{1}$	-	-	-	-	少	$\frac{3}{1}$	$\frac{25}{1}$	死			
6	"	$\frac{7}{1}$	-	-	-	-	-	少	$\frac{10}{1}$	$\infty$	死			
7	0.3	$\frac{15}{1}$	-	-	-	-	-	少	$\frac{2}{1}$	$\frac{20}{1}$	死			
8	0.4	$\frac{8}{1}$	-	-	-	-	-	-	-	少	$\frac{1}{1}$	$\frac{19}{1}$	$\infty$	死
9 (対照)		$\frac{10}{1}$	$\infty$	死										
10 (")		$\frac{25}{1}$	死											

第2節 in vitro の実験成績

1. 培養液についての予備実験

York et al<sup>21)</sup> は in vitro にて病原性「ト」を 37°, 24時間、その生存数に余り変化なく保つことに成功し、人血清の直接的な殺「ト」作用を in vitro で証明している。その後 Zimmermann<sup>22)</sup>, Culberstone<sup>23)</sup> も同様の実験を行い York の成績を確認した。氏等の用いた培地は量的には多少の差があるが、0.2% ブドウ糖加リンゲル液に羊血清を加えたものを用いた。Culberstone は家兎血清をも併せて用いている。

著者の行った予備実験では、「ト・ガ」を用いリン

ゲル液、タイロード液、ブイオンに各々 0.2% にブドウ糖を添加したもの、及び添加しないもの、更にその各々に牛、羊、家兎、海狼血清を添加したもの等を比較して見た。

急速に弱まり行く「ト・ガ」に対して、僅々24時間の内に、比較的煩雑な観察法を用い、すべて同一条件のもとに厳密な比較は期し難く、時には成績が相反する場合もあつたが、数群の成績を総合して見るに、

(i) 動物血清を添加することにより、初めて好結果が得られ、非添加群との間に著しい差異が見られた。添加血清では羊、家兎が最も優れ、両者の間には有意

の差は見られなかつた。

(ii) 血清を添加しない場合には「ト」の生存時間は著しく短縮されるが、その内でもブイオンが最も優れていた。

(iii) ブドウ糖の添加はブイオンでは著明な差は見られなかつたが、リンゲル液では「ト」の生存時間を延長させた。

以上の結果から著者は血清ブドウ糖ブイオン（家兔不活化血清1容 + 0.2%ブドウ糖ブイオン1容）を培養液として用い、「ト」液、人血清の稀釈はすべて血清ブドウ糖ブイオンで行うことにした。

## 2. in vitro における人血清の殺「ト・ガ」作用

### (i) 材料及び方法

「ト・ガ」液は「ト・ガ」感染3日目マウスの血液を前記の液で2倍に稀釈したものをを用いた。

人血清を加えないものを対照とし、人血清は種々の

割合の稀釈になる如く加えた。各々の量は次の如く一定した。

$$\left. \begin{array}{l} \text{血清ブドウ糖ブイオン} \\ \text{人血清 (x 倍)} \end{array} \right\} 0.8\text{cc} + \text{菌液 } 0.2\text{cc} = 1\text{cc}$$

35° に保存し、定時的に一部をとり暗視野法で「ト」の数、形態、運動を観察した。

### (ii) 実験成績

第3表に示す如く、人血清を加えない対照試験管においては24時間後でも「ト」の相当数が生存しているが、人血清を加えた群では、人血清の量に比例して早急に「ト」は消失して行く。即ち人血清は in vitro においても、直接的な殺「ト」作用を有する。しかし本実験も先人の in vitro 実験と同様に「ト」にとつては不備なる環境のもとに行われた実験にすぎず、マウス体内における如き、旺盛なる増殖過程の「ト」に対する人血清の効果は in vitro では驗することが不可能

第3表 試験管内における人血清の殺「ト」作用

$$\text{各管最初の「ト」数} : \frac{3-4}{1}$$

△ : 変形、不動の「ト」少数

試験管 No.	血清稀釈 時 間	3 時間	5	8	12	16	20	24
		1	2 倍	$\frac{1}{11}$	△	—		
2	5	$\frac{1}{7}$	△	—				
3	10	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{9}$	△	—			
4	100	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{8}$	△	—			
5	1000	$\frac{2}{1}$	$\frac{1-2}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{17}$	△	—	
6	対 照	$\frac{3}{1}$	$\frac{4}{1}$	$\frac{3}{1}$	$\frac{2-3}{1}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{8}$

であつた。

## 第3節 孵化鶏卵内 in ovo における

### 人血清の殺「ト・ガ」作用

#### 1. 材料及び方法

in ovo 実験法はすべて第1報記載に準ずるが、人血清の注入部位はすべて漿尿膜上に行つた。その理由は、当教室池野<sup>25)</sup>は既に孵化卵を応用した化学療法について系統的な研究を行い、諸種薬剤において漿尿膜上投与法がその吸収率が最も高く充分目的に副い得

ることを実証している。

人血清の注入量は0.25~0.5ccを用いた。その理由は、in vivo 実験では体重12gr内外のマウスにおいて人血清0.025ccで既に殺「ト・ガ」作用を見ており、in ovo 実験では卵重50gr内外の卵に対し、マウスにおける有効量の10~20倍の0.25~0.5ccで決して少なきに失することないと考えたからである。

#### 2. 実験成績

第4表に示す如く、対照卵では「ト・ガ」は接種後

第3日に卵血中に出現し次第に増殖し、第5~6日に卵を死亡させる。本実験はこのようなして「ト・ガ」が血中に出現し感染発症した卵に対して人血清を注入

した成績であるが、マウス体内における如き著しい殺「ト」作用は全く見られず対照と同じ経過で卵は死亡した。

第4表 孵化鶏卵内における人血清の殺「ト」作用

実験 A : 「ト・ガ」  $\frac{3}{1}$ , 0.05cc 漿尿膜上接種  
 実験 B : 「ト・ガ」  $\frac{5}{1}$ , 0.05cc "  
 血 0.5 : 人血清 0.5cc 漿尿膜上注入

	卵 No.	孵卵日数	「ト・ガ」 接 種 後 の 経 過				
			第3日	4	5	6	7
実 験 A	25	10日卵	$\frac{1}{24}$	$\frac{3}{1}$ 血 0.5	$\frac{18}{1}$	死	
	26	"	$\frac{1}{20}$	$\frac{6}{1}$ 血 0.3	$\frac{22}{1}$	死	
	27	"	—	$\frac{1}{1}$	$\frac{10}{1}$ 血 0.3	$\frac{30}{1}$	死
	28	"	$\frac{1}{18}$	$\frac{6}{1}$	$\frac{20}{1}$ 血 0.25	死	
	29 対 照	"	$\frac{1}{22}$	$\frac{3}{1}$	$\frac{15}{1}$	死	
実 験 B	33	15日卵	$\frac{1}{2}$ 血 0.25	$\frac{15}{1}$	死		
	34	"	$\frac{1}{2}$ 血 0.5	$\frac{17}{1}$	死		
	35 対 照	"	$\frac{1}{1}$	$\frac{18}{1}$	死		
	38	12日卵	$\frac{2}{1}$ 血 0.25	$\frac{17}{1}$	死		
	39	"	$\frac{1}{1}$ 血 0.5	$\frac{8}{1}$	$\frac{30}{1}$	死	
40 対 照	"	$\frac{1}{1}$	$\frac{17}{1}$	死			

しかるに第5表に示す如く「ト・ガ」接種後3~6時間に人血清を投与すれば、その感染発症は完全に予防し得た。「ト・ガ」接種後第1日目投与では予防効果はなく、僅かに感染経過を延長したに過ぎない。「ト・ガ」接種後第2日では全く対照と変わらず効果は見られなかつた。

更に第6表に示す如く接種「ト・ガ」と投与人血清との間の直接的な影響を避けて、部位を異にして同時に注入した場合でも、人血清は完全に「ト・ガ」感染発症を予防し得た。

即ち in ovo 実験では、人血清は、「ト・ガ」が接種された極めて早期においてのみ、殺「ト」効果を現

第5表 孵化鶏卵内における人血清の殺「ト」作用  
9日卵使用

「ト・ガ」： $\frac{5}{1}$ , 0.05cc 漿尿膜上接種,  
人血清：同部位注入

卵 No.	接種日	「ト・ガ」接種後の経過												
		第1日	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	3時間後 血 0.5cc			—		—				—		—		— フ化
2	〃 血 0.3cc			—	—		—		—		—	死		
3	6時間後 血 0.5cc			—		—				—		—		— フ化
4	〃 血 0.3cc			—	—		—		—	死				
5		血 0.5		$\frac{2}{全}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{4}{1}$	$\frac{20}{1}$	死						
6		血 0.3		$\frac{1}{全}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{5}{1}$	$\frac{35}{1}$	死						
7		血 0.5		$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{15}{1}$	死							
8		血 0.3		$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{14}{1}$	死							
9 (対照)				$\frac{1}{5}$	$\frac{3}{1}$	$\frac{25}{1}$	死							
10 (〃)				$\frac{1}{3}$	$\frac{4}{1}$	$\frac{30}{1}$	死							

第6表 孵化鶏卵内における人血清の殺「ト」作用  
9日卵使用

「ト・ガ」： $\frac{5}{1}$ , 0.05cc 尿膜腔接種  
人血清：漿尿膜上同時注入

卵 No.	人血清量	「ト・ガ」接種後の経過											
		第3日	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
11	0.2cc			—		—		—		—			— フ化
12	0.3cc			—	—		—	死					
13 対照		—	—	$\frac{1}{5}$	$\frac{8}{1}$	$\frac{22}{1}$	死						
14 対照		—	—	$\frac{1}{5}$	$\frac{3}{1}$	$\frac{20}{1}$	死						

わし、卵の感染発症を予防し得るが、マウスにおける 程の顕著な治療効果は見られなかつた。

#### 第4章 総括及び考按

本報は人血清の殺「ト」作用について「ト・ガ」及び「ト・エ」を用い、*in vivo*, *in vitro* の実験に新たに *in ovo* の実験を加えて比較検討した成績である。

1. 人血清は「ト・ガ」, 「ト・エ」感染極期のマウス体内で殺「ト」作用を現わしマウスを治癒させ得るが、完全治療には一定量以上を要し、それ以下では再発を見るか、全く無効であつた。マウス体内における人血清の殺「ト」作用は「ト・ガ」に対してより強い効果を現わし、「ト・ガ」, 「ト・エ」の間には人血清に対する感性の差異が見られた。Laveran & Mesnil

<sup>2)</sup> は人血清は人間に非病原性の「ト」に対し効果を有し、人間に病原性を有する「ト・ガ」或いは「ト・ロデシエンゼ」に対しては無効であるとし、「ト」の人間に対する病原性は人血清の殺「ト」能力と関係ありと考へた。York も *in vitro* 実験において「ト・ロデシエンゼ」では本効果が見られたが、「ト・ガ」では全く見られなかつたと報じている。その他多くの欧米の報告にも「ト・ガ」に対し有効との記載には接していない。しかるに本邦において累代マウス或いは家兎を以て継種された「ト・ガ」を用いた実験では、著しい本作用が見られており、しかも著者の実験の如く本来人間に対して病原性を有する「ト・ガ」が、人間に対して非病原性の「ト・エ」に比してむしろ顕著な人血清に対する感性を示したことは興味ある事実である。本邦保存の「ト・ガ」は既に人間に対する病原性を失つてゐるものか、又長期に亘る継株により如何なる変異が起つたかは興味ある問題である。人血清の殺「ト」能力は黄疸、肝臓疾患等の如きある病的な身体条件のもとでは低下することが実証されており、人間の「ト」に対する抵抗性は血清の殺「ト」能力によつてのみ説明されるものかは、上記「ト」の変異の問題と併せて興味ある問題と考へられる。

2. 人血清は「ト・ガ」に対して *in vitro* においても殺「ト」作用を有した。Laveran & Mesnil は *in vitro* では「ト」の生存時間は人血清の有無に拘らず、2~3時間にすぎず、直接的な殺「ト」作用を確証し得なかつた。その後 Rosenthal は同様に *in vivo* と *in vitro* との矛盾を認め、本現象を次の如く説明した。即ち人血清中には本来「ト」殺滅素 Trypanocidie は存在せず、前段階たる Trypanocidogene Substanz として存在し、マウス体内に入り細網内皮系により賦活されて効果を現わすものと考えた。かか

る“indirekt”説に反し、York 等は「ト」を 37°, 24 時間、その生存数に余り変化なく *in vitro* に保つことに成功し、人血清の直接的な殺「ト」作用を *in vitro* で証明し、マウスにおける人血清の作用を簡単に説明せんとした。その後 Zimmermann, Culberstone 等も York の方法に準じて、*in vitro* でこの作用を確認している。著者の実験も含めて、従来の *in vitro* 実験ではすべて、「ト」にとつて不備な条件のもとで行われたもので、旺盛な増殖を示すマウス体内での「ト・ガ」に対する殺「ト」作用とは厳密な意味では比較し得ない不満がある。この意味においても著者は最も理想に近い孵化鶏卵内培養法を初めて応用し、再検討せんとしたのである。

3. *in ovo* では人血清は「ト・ガ」接種と同時に、或いは接種後極めて早期において投与された時のみ効果を有し、感染発症を予防し得るが、一旦血中に「ト・ガ」が出現してからは、人血清の相当量を投与しても、マウスにおける如き著しい治療効果は見られなかつた。この際人血清投与量が問題となるが、マウスにおける有効量の10~20倍を投与しても、なお且つ上記の如き成績を得たにすぎなかつた。又孵化鶏卵の人血清吸収率も問題となり得るが、池野<sup>29)</sup>の報告によれば、漿尿膜は種々の化学療法剤に対しても最も高い吸収率を示し、且つ充分目的に副い得ることが確証されており、人血清もかかる方法により充分吸収されているものと思つてよい。

「ト・ガ」は *in ovo* ではマウス体内と同じ経過で旺盛に増殖し、一方孵化鶏卵は生体としての認むべき防禦反応は示さないとされている。従つて、孵化卵とマウスとの間に著しい差異が見られたことは、マウス体内では人血清の直接的な殺「ト」作用に加えて、マウス独自の防禦機構が大きな位置を占めるものと思へられる。

本作用の機転に関しては、前述の如く Rosenthal 等は二次的に起つた生体内の防禦反応を重視して、人血清は直接的な「ト」殺滅素を有せず、生体内にて賦活され初めて効果を發揮するもので、人血清の「ト」に対する効果は間接的なものであるとした。一方 York は *in vitro* にもこの効果が見られた所から、生体内の本現象も、人血清の直接的な効果でもつて説明している。著者の実験成績によれば、上述の対立せる2説は共に一面の真理をとらえたものであるが、各々そ

れのみで全般を説明せんとしたことは不充分と考えられる。即ち著者の *in ovo* 実験を新たに追加した成績では人血清自体にも或る程度の直接的な殺「ト」効力を有するが、マウス体内では、生体に起つた特異的な

防禦機構が更に大きな役割を占めるものと考えられる。即ち著者は作用機転に関しては上記 2 説の折衷したものがより正しいものとする。

## 第 5 章 結

1) 人血清は、マウス体内で「ト・ガ」, 「ト・エ」に対して顕著な殺「ト」作用を有したが、「ト・ガ」に対してより強い効果を示した。本作用の強弱は人血清の注射量に比例した。

2) 不十分な保存液のもとであつたが、試験管内においても人血清は「ト・ガ」に対して本効果を現わした。

3) 人血清は「ト・ガ」に対し、孵化鶏卵内では、マ

## 論

ウス体内と異なり感染の極めて初期に投与した場合においてのみ効果を示した。

4) 人血清には直接的な殺「ト」能力の存在が確認されたが、マウス体内の著しい作用発現には、生体の防禦機構が更に大きな役割を占めるものと考えられる。

(熊筆するに臨み、終始、御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師谷教授に深く感謝致します。)

## 文

- 1) Laveran : C. r. Acad. Sci : 134 : 735 (1902).  
 2) Laveran & Mesnil : Ann. Inst. Past. 16 : 785 (1902).  
 3) Neumark & Pogorschelsky : Klin. Wschr., Nr. 36 1724 (1925).  
 4) Adams : Z. Immunf., 58 : 459 (1928).  
 5) Rosenthal : Klin. Wschr., Nr. 37 : 1657 (1924).  
 6) Rosenthal u. Freund : Z. Hyg., 97 : 127 (1923).  
 7) Rosenthal u. Kleemann : Berl. Klin. Wschr., Nr. 4 : 75 (1915).  
 8) Rosenthal u. Krüger : Berl. Klin. Wschr., Nr. 16 : 382 (1921).  
 9) Rosenthal u. Nossen : Berl. Klin. Wschr., Nr. 37 : 1093 (1921).  
 10) Rosenthal u. Spritzer : Z. Immunf., 40 : 529 (124).  
 11) Ehrlich : Beiträge zur expt. Path. u. Chemotherapie Leipzig, (1909).  
 12) Müch : Münch. Med. Wschr., 945 (1923).

## 献

- 13) Zeiss : Arch. Schiffs-u. Tropenhyg., 25 : 302 (1921).  
 14) Zimmermann : Zbl. Bakter., I, Orig, 120 : 422 (1931).  
 15) Ströder : Klin. Wschr., 208 (1940).  
 16) 齋藤 : 福岡医大誌, 20 : 850 (1927).  
 17) Inoki et al : Med. J. Osaka Univ., 3 : 375 (1952).  
 18) 手塚・岡田 : 日本衛生学雑誌, 7 : 22 (1952).  
 19) 相沢その他 : 日本衛生学雑誌, 9 : 258 (1955).  
 20) Göbel : Ann. Inst. Past. 21 : 882 (1907).  
 21) York et al : Ann. Trop. Med & Parasit., 23 : 501 (1929).  
 22) York et al : Ann. Trop. Med & Parasit., 24 : 115 (1930).  
 23) Culberstone & Strong : Am. J. Hyg., 21 : 1(1935).  
 24) Kleinschmidt : Z. Hyg., 131 : 42 (1950).  
 25) 池野 : 十全医誌. 56 : 732 (昭. 29).