

ペニシリオンに關する研究 第二報

細谷省吾
野村達次
添田百枝

傳染病研究所第一研究部

微生物相互間の拮抗現象は細菌學の搖籃時代から注目されて居たが、就中

フレイミング⁽¹⁾によつて發見された「ペニシリウム・ルブルム」に極似たカビの培養液中出现する「ペニシリオン」が十一年の歳月を経て「チェイン、フロリー⁽²⁾」等によりて細菌感染症の治療効果ある事が報告されるに至つて一躍大問題となつた。キイゼ⁽³⁾の綜説が「科學」に全譯されて居るから文献紹介の煩を避ける(戰爭中のために海外文献を自ら讀む事は出来なかつた。僅かに一七篇の文献抄録が委員會の幹事から配布されたが雜誌名さへも知らされなかつた)。細谷⁽⁴⁾は拮抗現象に就て夙に興味を有し、一九二七年「ピオチアチー」の粗結晶を得た事を記載し、僚友押鐘⁽⁵⁾は「ピオチアチー」の有効成分が單一物質でなくて多元性なる事を明らかにし細谷、利部、宮崎⁽⁶⁾は變形菌の陳舊培養から抗菌性の強い種々の劃分を分ち、又僚友永井⁽⁷⁾は葡萄球菌(以下葡萄菌と略記する)の所謂「アンチヴィールス」(ペスレドカ⁽⁸⁾)の中に含まれる抗

菌性を有する數劃分を區別した。偶々昭和十九年三月ペニシリオン研究委員會が結成され、理、農、醫、藥學の諸教授其他多數の學者が委員となり協同研究が行はれ、五月十六日、九月一日、十月九日、同三十日の委員會で非公開ではあるが、多數陪席者もあつて賑かに各委員から報告され、討議された。是等の發表はその都度記録されて居るが、私共の成績は常に先頭に立つて居た。かくて此研究に一段落がついたので委員各自の業績を公表する事になつたから吾研究室に於ける實驗を總括して十二月二十一日の傳研學術集談會に發表し、茲に之を記載する次第である。委員會とは別に黒屋教授等⁽⁹⁾は此問題に就て九月中旬東北醫學會で發表した。

實驗

五月十二日の委員會で吾々が述べたのは「東大農學部の委員が本邦各地から聚集したペニシリウム數十株のツアベック、ドツクス培地⁽¹⁰⁾」に於ける培養液の配布を受けたから葡萄菌に對する

抗菌性を調べたが僅かに二〇倍稀釋液迄完全發育阻止したもの二株、一〇倍までのものが數株あつたに過ぎなかつた事である。

試験管内抗菌作用の檢定法は菌蓋を濾別した可檢培養液を滅菌中性ピジョンで一〇倍にうすめ煮沸水中で十分間加熱滅菌する。別に數本の滅菌試験管に中性ピジョン五cc宛を分注し上記の一〇倍稀釋培養液を型の如く無菌的に倍數稀釋し二〇、四〇、八〇、一六〇、三二〇倍稀釋液をつくる。黄色葡萄菌寺島株(數年前細谷、林⁽¹¹⁾)が麥粒腫から分離した強力毒素產生菌株である)の二十四時間寒天斜面培養菌苔の「ブイヨン浮游液」(Tjebbes)を一白金耳宛接種し三七度二十四時間目に觀察し完全發育阻止(試験管は全く透明)を示す最大稀釋數を以て抗菌價と定める。葡萄菌の菌株によつてペニシリオンに對する抵抗性に強弱があること、寺島株が他の數株よりも抵抗が強い事は梅澤(濱)委員によつて見出された。九月一日の委員會で吾々は次の諸項を述べた。

(一)前培養 培養液中にペニシリウムの生成を確實ならしめるには前培養が重要である事に著眼し、滅菌小三角コルベンに賽の目状に細切した馬鈴薯片多數を容れ、二二〇度二十分高壓滅菌した後接種し二二―二六度に約六日間培養し充分發育させてから一個宛を

培養壘中の培養液に加へて培養する事にした。

(二)容器と培養液量 培養液の表面積と液量との比が問題らしいので液面を廣くするために内容一・五立のデフテリア毒素用コルベンに培養液(麥芽水飴一〇%、カルノペプトン一%、酸性磷酸カリウム〇・一%、水道水、五・五)二〇cc、内容一立の三角コルベンに培養液一〇cc、或は内容一〇ccの三角コルベンに培養液二〇ccを分注し二二〇度十分滅菌した。

(三)使用菌株 吾人の一人が神奈川県大磯町の自宅で糊に生へたペニシリウムを純粹培養とした(株及び「」)。

(四)培養温度 大暑中の室温(三〇度内外)と水室の前室(二二―二六度)とに培養したが、後者に於ける抗菌性は前者に於けるよりも強い事を経験した。

第一表 培養温度と抗菌性

培養日	温度	抗 菌 價					
		10×	20×	40×	80×	160×	240×
7日	22-26°C	-	-	-	-	-	/
	約 30°C	-	-	-	卅	卅	/
8日	22-26°C	-	-	-	-	-	-
	約 30°C	-	-	-	-	卅	卅
10日	22-26°C	-	-	-	-	-	卅

TN₂株
容器: 内容 100cc 三角コルベン
液量: 20cc

(五)精製行程中の一割分を用ひマウスに於けるI型肺炎双球菌(以下肺炎菌と略記)感染防禦性ある事などを報告した。

十月九日の委員会で吾々が報告したのは培養濾液のマウス、家兎、人體に對する毒性の有無、或は強弱と生體內抗菌性(I型肺炎菌感染防禦試験、感染治療試験)とに就てであつた。即ち

(一)培養濾液の毒性 岩田研究所Z_{0.50}株の八日培養(壓搾酵母を二〇倍重量の水を以て一時間煮沸浸出した浸液と一%葡萄糖とから構成された培養液に於ける七日目の培養濾液を中和し一〇〇度十分加熱したもの)の抗菌價は一六〇倍だつた。濾液を約八五の Maus の腹腔内に夫々一〇、〇五、〇二五、〇一〇を注射したが、孰れも異常を認めない。同じ培養濾液を家兎(一・八kg)の靜脈内に一〇〇cc注射し絶えず觀察したが食欲常に旺盛であり下痢も起らず、何等の神経症狀も認められず、體重の減少も來さない。此培養濾液を中和し一〇〇度十分加熱滅菌して人體に注射(協同研究者鹽田時夫氏擔當)したのが委員會に於ける最初の人體接種である。次に同株の八日培養(酵母自家融解液、一%葡萄糖培地)濾液(六日培養の抗菌價三二〇倍)を幼弱マウス腹腔内に一〇、〇五cc、家兎(一・八kg)靜脈内に一〇〇ccを注射したが全然異常を認めず、家兎の體重は

減少しなかつた。

(二)生体内抗菌試験 菌力強大な肺炎菌I型に對する感染防禦試験と治療試験とを行つた。前者は生菌をマウス腹腔内に注射してから間もなくペニシリン培養濾液又は製劑を腹腔内に注射して觀察する實驗であり、後者は菌を接種してから二時間乃至五時間を経過した後、即ち菌が増殖し感染を起してから培養濾液製劑を注射しマウスの生死或は健康状態を觀察する實驗である。

實驗(一) Z_{0.50}株の六日培養(酵母自家融解液に葡萄糖を二%に加へた培地)濾液(抗菌價一六〇倍)による感染防禦試験、肺炎菌二十四時間ブイオン培養の生理的食鹽水による10⁶、10⁵、10⁴、10³、10²希釋液〇・二cc宛を三匹宛の幼弱マウス(約八五)腹腔内に注射し、一匹宛のマウス群を對照用として其ま觀察し、他の二匹宛の群には菌接種後數分以内にペニシリン培養濾液〇・五cc、三時間後に〇・五ccを腹腔内に注射した。對照マウスは〇・2cc×10⁷迄斃れたが、培養液の二回注射を受けたものは〇・2cc×10⁵のマウスが斃れただけで、残り全部は生存を續けた。即ちこの條件に於て培養濾液は肺炎菌の最少致死量の一〇〇倍に相當する菌の感染を阻止したのである。

實驗(二) 同一條件の肺炎菌液〇・2cc×10⁹、〇・2cc×10⁸を各稀釋液毎に三匹宛のマウス腹腔内に接種し、一匹宛の群を對照用として菌力決定に充て、他の二匹宛の群に實驗(一)と同一培養濾液〇・五cc宛を菌接種後數分以内、三時間後及び四時間後の三回に亘つて腹腔内に注射した。對照群は〇・2×10⁷の生菌注射をうけたマウス

迄全部斃れたが、培養濾液三回注射群は全部耐過した。故に此條件に於て培養濾液三回注射は肺炎菌最少致死量の一萬倍以上による感染を防禦したのである。

(三)前實驗と同一培養濾液を由六・五として一〇〇度十分加熱滅菌しても菌に對する抗菌性の減弱を來さない事を吾々が證明したので、之を數名の健康者の皮下に注射した(鹽田氏擔當)が、常に疼痛を訴へた。又之を靜脈内に注射すると往々惡寒戰慄と高熱を發するが、脈搏は増加しないし、危険な症狀を起す事はなかつた。

(四)次に皮下蜂窩織炎、急性淋巴腺炎の患者に治療的效果ある事を報告した。

十月三十日の委員会で吾々は主として種々なる培養液を用ひた場合の抗菌價、マウスを用ひて第I型肺炎菌感染の治療試験と臨床實驗とを報告した。

培養基I 乾燥酵母の九〇%アルコール抽出液を濃縮乾燥した粉末を〇・五%の割合にツアベックトックス培地に加へて作る。

培養基II 東洋酵母株式會社の壓搾酵母に一〇倍重量の水を加へトルオールを重層し時々攪拌し乍ら三七度數日間放置し煮沸後速心し上清を濾過して自家融解液に葡萄糖を一%に加へたもの。

培養基III 酵母水浸液(壓搾酵母に一〇倍量の水を加へ一時間煮沸浸出)とツアベックトックス培地とを等量宛加へたもの。

培養基IV 利部、横森、大河原の破傷風毒素用培地に葡萄糖を一%に加へたもの。

ルウ(Roux)の培養液に培養液二〇〇cc又は破傷風毒素用ルベンに培養液四〇〇cc

充分注し、培養温度二二・二六度、培養日數六・一〇日、起點PH六・四、終末PH七・六・一・四。

上記の諸培地を用ひこの二十日間に於ける培養濾液の最高抗菌價は岩田研Z_{0.50}株三二〇倍以上、小南氏のZ_{0.176}株六四〇倍、小南氏Z_{0.233}株三二〇倍(C₁N₁株は培養しなかつた)。

マウスに於ける肺炎菌治療試験

實驗(III) (一)培養基IにZ_{0.50}株を接種した七日培養濾液は抗菌價が一六〇倍だつたが、翌日次のマウス實驗と同時に抗菌價を再檢した場合二〇倍に減弱した。

(二)之を中和し一〇〇度十分加熱滅菌した。

實驗(IV) 培地IIに於けるZ_{0.50}の十日培養(抗菌價二六〇倍)濾液をPH六・八としてから約四度の冷蔵庫に六日間貯藏したもの及びPH六・八で一〇〇度十分加熱したもの(孰れも抗菌價一六〇倍)を治療劑にした。

(一)菌接種後三時間目に非加熱培養濾液を一cc、五時間目に〇・五ccを注射したが肺炎菌最少致死量(〇・2cc×10⁶)百萬倍注射マウスは生存、十萬倍、一萬倍注射マウスは對照マウスよりも死期はかなり延長したが遂に死亡した。(四百頁續)

ペニシリンに關する研究 第二報 II (二)

細谷省吾
野村達次
添田百枝

傳染病研究所第一研究部

ペニシリン精製法

キイゼの綜説に紹介されたアブラハム等(1)の精製法は培養濾液に磷酸を加へてpH2.0とし、エーテル又は醋酸アミールを以て低温に於て速かに抽出し、エーテル溶液をpH6.7の磷酸鹽水溶液で處理し有効成分を水に轉溶させて居る。

吾々は培養濾液を硫酸で弱酸性とし、活性炭を10%の割合に加へ攪拌器を用ひて十五分間攪拌し、吸引濾過すると濾液は淡黄色乃至無色となり抗菌性は全く、或は殆ど全く證明されないから、有効成分の全部或は殆ど全部は活性炭の吸着された事が想像される。次に此活性炭を直ちにアセトン、メタノール或はエタノールの様な水に可溶の有機溶媒に投じ、振盪又は攪拌する時は有効成分の大部分は溶出される。すばやく吸引濾過すると橙赤色透明の濾液が得られる。

アセトン(メタノール又はエタノール)溶液を直ちに減壓低温濃縮して有機溶媒を溜去すると少量の水溶液が残る(イ割分)。

或はアブラハム等(1)の方法を聊か改良しイ割分を硫酸でpH3.5としエ

チルアセタートと共に分液漏斗で振盪すると有効成分は後者に轉溶するから、此溶液を分取しpH7.5の磷酸緩衝液と共に振盪して水に轉溶させる事によつて有効成分のナトリウム鹽の水溶液が得られる(ロ割分)。收量は80%内外である。

此精製法の前半即ち活性炭に吸着させ、アドゾルバートから抗菌性成分をアセトン熱浸によつて溶出する事は吾々によつて、N株の培養液に就て五月十六日の委員会で報告され記録された。當日他の委員で精製に就て發言した者は一人もなかつた。九月一日の委員会で吾々は上記精製法の後半を報告した。N株培養濾液のpH3.5に於ける活性炭アドゾルバートをアセトンで熱浸した溶液からアセトンを溜去した残りの水溶液をクロロホルムと共に振盪して有効成分を後者に轉溶させ、次で之をpH6.6のクラーイクの磷酸緩衝液と振盪して水に轉溶させた。同じ日に有効成分を酸性でエーテル、又はクロロホルムにとるよりは醋酸エーテルの方がより有効である事も報告記載した。又住木委員はN株の培養液に1%に活性炭を加へて吸着しアセ

トンで溶出する事を報告し、吾々の前回の發表を肯定した(九月一日委員會議録二五頁)。

十月三十日の委員会で吾々は岩田研N株培養液に就て上述した様に活性炭吸着、アセトン溶出、アセトン溜去、エーテルアセタート轉溶、磷酸緩衝液轉溶の順序で處理し、イ、ロの兩割分を得てマウスに於ける肺炎菌感染防禦試験、治療試験及び臨床實驗等を發表した。同日梅澤(濱)委員はN株及びN.176の培養液を活性炭吸着、アセトン溶出法の成績を發表した。

吾々の精製法の前半は細谷等(2)の「病原細菌發育促進物質を魚肉エキス、人尿等から分離する方法」の一部であり、又藤友柘木(3)が肉浸液から大原箕田赤痢菌を變異させる有効成分を分離した際にも應用したなど、吾研究室常用の精製濃縮法の一つである。最近棟方委員(4)はペニシリウムの培養液から苦味物質を分離するのに醋酸性(pH3.7)で活性炭に吸着させ炭末を全く乾燥させてからソックスレ装置を用ひてエーテルで抽出する方法を報告したが、ペニシリン抽出を目的とした場合は酸性で乾燥する事は減弱を來たすのみならず、乾燥したアドゾルバートから有効成分をエーテルで溶出する事は困難である。

性炭吸着、アセトン溶出によつて抗菌物質を精製濃縮する方法は吾々の考案したものとして解釋しても間違ひではないと信じて居る。殊に有効成分が活性炭に吸着すると云ふ問題を繞つて委員会で盛んに討議された事を顧みれば吾々の主張の妥當なる事が解ると思ふ。

次に吾々はロ割分を減壓低温で濃縮し殆ど乾燥した後、純アルコールで抽出し可溶性に醋酸バリウム、鹽化バリウム飽和水溶液を滴加して行くとバリウム鹽と思はれる黄色微細の結晶が析出する。このものは水に易溶で試験管内抗菌價は五〇萬倍稀釋液迄(それ以上の稀釋液に就ては實驗しなかつた)。

葡萄球菌株の發育を完全に阻止した。又文獻(幹事から配布された、著者名、雜誌名共に不明)に従つて、ロ割分を酸性でクロロホルムに轉溶させクロロホルム溶液に等量のペンツォールを加へた後、乾燥アンモニア瓦斯を通過し暫らく靜置すると黄色の美しいアムモニウム鹽と思はれる結晶が析出する。水に易溶、抗菌性は三〇萬倍稀釋液迄(それ以上の稀釋液はつくらなかつた)完全に葡萄球菌の發育を阻止した。

精製行程中の二割分の肺炎菌感染治療試験

實驗(六) 岩田研N株の培地IIに於ける十日培養濾液(抗菌試驗の培養に細菌が發育し、爲め抗菌價不明)から得られたイ割分M.10倍稀釋液を肺炎菌I型腹腔

内注射後三時間目に〇・五CC、五時間目に一CCを腹腔内に注射した。M。注射を受けたマウスは最少致死量(二十四時間ブイオン培養 0.2cc×10³)の一萬倍迄健存した。此劃分の治療効果が相當強し事が證明されたから、之を鹽田氏と共に臨床に應用した。

實驗(七) 岩田研ニ〇〇株の増地ニ於ける六日培養の内任意に六個の培養壺をとつて別々に抗菌性をしらべたが、三二〇倍以上のもの、一六〇倍を示したものが三個宛あつた。そこで總べてを合併した二立餘の培養濾液を上記の方法で處理し、得られたイ劃分に就て治療試驗を行つた。即ち生菌を幼弱マウス腹腔内に注射した後實に五時間を經過してからイ劃分の百倍稀釋液一CC、六時間目に〇・五CCを腹腔内に注射した。對照群即ち治療處置を受けないマウスは總べて六時間目頃から異常を示し感染發病が認められたが、治療劑を注射されたマウスはよく最少致死量(0.2cc×10³)の一萬倍とさふやうな大量の生菌注射を耐過し生存を續けたのであるから治療効果の強大なる事に一驚せざるを得ない。此種の實驗を更に二回繰り返したが孰れも治療効果は顯著であつた。

實驗(八) 眼瞼結膜からの肺炎菌感染、葡萄菌感染に對する感染防禦試驗 三頭の家兎の兩眼瞼結膜を滅菌青梅毒で軽くすつた後、一側に肺炎菌一型の二十四時間ブイオン培養を滅菌青梅毒につけて再び結膜を軽く塗擦した。他側は葡萄菌寺島株ブイオン培養を以て同様に處理した。その内一頭は其まゝ對照として觀察し、他の二頭に菌接種後數分以内に一眼のみに(一)劃分を點眼し、又三十分以内に同劃分一CCを皮下に注射し、更に二時間後に一CC皮下に注射した。

成績 對照家兎の肺炎菌接種側の眼瞼は瓜狀隆起を示し、上眼瞼結膜強度に腫脹潮紅し、穹隆部に多量分泌物貯留し、其性状は膿様を呈して居た。他眼即ち葡萄菌を塗擦された側の眼瞼の腫脹は僅微であつたが、上眼瞼結膜と穹隆部は著明に潮紅し、粘液性の分泌物を伴つて居た。翌日は兩眼共前日よりは輕快したが、菌接種後四日目の朝死んで居た。心血から肺炎菌が培養證明された。

(イ)劃分の處理を受けた二頭は孰れも兩眼に全然異常を來す事なく七日間の觀察期間を經過した。要するに一回の實驗には過ぎないが、治療劑の皮下注射は眼結膜からの肺炎菌及び葡萄菌感染に對して防禦性ある事が證明された。然し皮下注射だけで充分感染防禦性を發揮したのでベニシリンの點眼による効果を知るに至らなかつた(此實驗には眼科専門の長谷川俊明氏の援助を受けた)。

實驗(九) チフテリア菌に對する感染防禦試驗 菌力強大なチフテリア菌グラウイヌ型(元吉隆)のレフレル培養基二十四時間培養の兩浮遊液をつくり、海狼(約二五〇瓦)三頭の大腹内側皮下に夫々菌量〇・一、〇・〇五、〇・〇一mgを注射して對照實驗(最少致死量決定)に充てた。又本試驗として略ぼ同大の海狼二頭に夫々〇・一mgと〇・〇五mgの菌を同様に注射し三十分以内にイ劃分一CC、更に二時間後に一CCを皮下注射した。

對照群は三日以内に全部死亡し、剖見上定型的チフテリア中毒死であつた。從つて最少致死量は〇・〇一mgより小なる事を示した。一方治療劑の注射をうけた海狼の内〇・〇五mgの菌量を接種されたものは耐過したが、〇・一mg即ち最少致死量の一〇倍以上を接種されたものは五日目後股に定型的弛緩性麻痺を起し、六日目に死亡した。使用動物數が過少の憾みはあるが、イ劃分がチフテリア感染防禦性を有する事が窺はれるのである。

(附) ベニシリンの腺疫連鎖球菌及び豚丹毒菌に對する抗菌性、菌力強大な腺疫菌(小林六造氏の分類による

I型溶血性連鎖球菌)及び豚丹毒菌(獸疫調査所の菌株)に對してベニシリ製劑口劃分の試験管内抗菌性を葡萄菌寺島株を對照としてしらべたが、豚丹毒菌は寺島株と同一稀釋度迄完全に發育を阻止され、腺疫菌は寺島株を完全阻止する最大稀釋度よりも尠くとも七・五倍高い稀釋液迄完全に阻止された事を二回繰り返へした實驗によつて確證された。マウスに於ける腺疫菌感染防禦實驗は一回の實驗ではあるが、製劑がこの菌に對して強シ生體內抗菌性ある事が證明された。故にベニシリンは腺疫の豫防、治療上有望であり、又豚丹毒のやうな獸疫の豫防治療も一應試む可きものであらう(この實驗は清岡氏の助力を仰いだ)。

總括 (一) 黄色葡萄球菌、肺炎球菌に對して強シ抗菌性を有する所屬不明のベニシリンウムN₁株及びT₂株を分離し、抗菌性物質生成に關する培養條件を記載した。

(二) 岩田研究所のNo. 50株、小南氏のNo. 176及びNo. 233株等のベニシリンウムは孰れも葡萄球菌、肺炎球菌、チフテリア菌、腺疫溶血性連鎖球菌に對して強大な試験管内並びに生體內抗菌性を有するベニシリンを產生する。

(三) 手法が簡單で、收量の上、精製法を考案記載した。その行程中の二劃分は上記諸菌に對して生體內抗菌性大なる事を證明した。口劃分は皮下蜂窩織炎、急性淋巴腺炎等の患者の皮下に注射され嫌悪す可き副作用のない

事、治療効果ある事が立證された。ベニシリ研究委員會各位に敬意を捧げ、有効菌株を分與された岩田研究所、長尾研究所に謝意を表す。此研究を熱心に援助された安岡書記、吉澤喜久子、角田宏之輔氏等並に第一高等學校生徒三森、横山、田中、石田、齋藤の諸君に衷心感謝する。

岩田研究所のNo. 50株、小南氏のNo. 176及びNo. 233株等のベニシリンウムは孰れも葡萄球菌、肺炎球菌、チフテリア菌、腺疫溶血性連鎖球菌に對して強大な試験管内並びに生體內抗菌性を有するベニシリンを產生する。

手法が簡單で、收量の上、精製法を考案記載した。その行程中の二劃分は上記諸菌に對して生體內抗菌性大なる事を證明した。口劃分は皮下蜂窩織炎、急性淋巴腺炎等の患者の皮下に注射され嫌悪す可き副作用のない

事、治療効果ある事が立證された。

ベニシリ研究委員會各位に敬意を捧げ、有効菌株を分與された岩田研究所、長尾研究所に謝意を表す。此研究を熱心に援助された安岡書記、吉澤喜久子、角田宏之輔氏等並に第一高等學校生徒三森、横山、田中、石田、齋藤の諸君に衷心感謝する。

文獻

- (1) Fleming, A. *Brit. J. exp. path.* 10; 226 (1929)
- (2) Chain, E., Florey, H. W., Gardner, A. D., Heatley, N. G., Jennings, M. A., Orr-Ewing, I. and Sanders, A. G. *Lancet* 239; 226 (1940), (Kiese, M. *科學* 14卷 7號 昭和19年7月より引用)
- (3) Kiese, M. *科學* 14卷 7號 (昭和19年7月) Hosoya, S. *Compt. rend. Soc. biol.* 99; 771 (1928)
- (4) 押倉、*實驗醫學雜誌* 25卷 4號 383頁 (昭和16年)
- (5) 細谷、利部、宮崎、*東京醫學新誌* 308 3號 1366頁 (昭和13年)
- (6) 永井、*實驗醫學雜誌* 24卷 4號 461頁 (昭和15年)
- (7) Besredka, A. C. *r. Soc. Biol.* 89; 3 (1923)
- (8) 黒屋等、*日本醫學* 3397號 1021頁 (昭和19年)
- (9) Czapek's Nitrate Solution. A compilation of culture media, Williams & Wilkins co. (1930) P. 97
- (10) 細谷、林、*各種領域に於ける化膿性疾患の細菌學と免疫療法* 克誠堂書店 (昭和18年)
- (11) 利部、*雜誌* 大河原、第15回聯合微生物學會記録 374頁 (昭和16年)
- (12) Abraham, E. P., Chain, E., Fletcher, C. M., Florey, H. W., Gardner, A. D., Heatley, N. G. and Jennings, M. A. *Lancet* 241; 177 (1941); (Kieseの引用)
- (13) 細谷、*藥學*、*藥學*、小田、利部、*日本學術協會報告* 11卷 4號 224號 (昭和12年)
- (14) Proc. *Imper. Acad.* XII (1936) No. 3
- (15) 杉木、*實驗醫學雜誌* 26卷 5號 443頁 (昭和17年)
- (16) 藤方、*日本農藥化學會雜誌* 224號 (昭和18年)