

## 臨床微生物学の「礎」を築いた人々

— 気道関連の微生物研究に携わった研究者達の技術と思索 — 10

血液含有培地導入前後における肺炎球菌とレンサ球菌  
(その2)

帝京大学名誉教授  
このまさとし  
紺野昌俊  
Masatoshi KONNO

前号では変幻自在とも言える肺炎球菌について、1905年頃までに取り組みられてきた研究について記してきました。しかし、血清学的な特異性や胆汁溶解性あるいは解離現象等の研究についてはその糸口についたにしか過ぎず、それに加えて Rockefeller 医学研究所からの研究者による論文が多くなってきたとも記しました。本号では1905年以降の研究の動向について記します。

1905年、Collins<sup>1)</sup>は肺炎球菌の抗血清を段階的に希釈して、イヌリン分解能陽性のレンサ球菌を含む70株について定量的な凝集反応を実施し、その強弱はレンサ球菌による吸収試験によっても変化がないことから、イヌリン分解能陽性のレンサ球菌は肺炎球菌に分類すべきで、特に粘調な特異的集落を形成するレンサ球菌は総て肺炎球菌の抗血清によって強く凝集すると報告しております。これが肺炎球菌には血清学的に異なるいくつかの菌種があることと同時に、当時のレンサ球菌と同定された菌種には肺炎球菌が混在していることを示す最初とも言える報告です(註1)。

Levy<sup>2)</sup>もまた、1907年に特異的なムコイド型の集落を形成する *Streptococcus mucosus* は胆汁溶解能を有することから、肺炎球菌に加えらるべきであると報告しております。

1910年、Ungermann<sup>3)</sup>は肺炎患者の喀痰をマウス

の腹腔内に注射し、さらに数時間後に免疫血清を注射し、その一時間後に腹腔内浸出液の塗抹検鏡を行い、白血球の肺炎球菌貪食像を観察する方法を考えました。肺炎球菌は莢膜を有するために貪食され難いのですが、免疫血清と一致した際には貪食像が観察されるというものでした(註2)。

同年、Neufeld & Haendel<sup>4)</sup>は Ungerman<sup>3)</sup>の変法を考え、肺炎球菌をマウスの腹腔内に肺炎球菌抗血清と同時に注射し、救命し得た際の菌株を典型的な肺炎球菌“typisch”、救命し得なかった菌株を異型“atypisch”と群別しました。この実験法は、その後動物による protection test (防御試験)として、肺炎球菌の血清学的分類に活用されることになりました。

1911年には注目すべき三つの論文があります。一つは Bürgers<sup>5)</sup>による肺炎球菌には自己融解 (Autolysis) が見られるという報告です。この自己融解は60℃に加熱すると観察されなくなるというもので、その後自己融解と胆汁溶解との関係が問題とされることになりました(註3)。二つ目は Lamar<sup>6)</sup>がオレイン酸や石鹼が免疫血清添加培地中における肺炎球菌の発育を抑制し、溶菌に至らしめるとする報告です。その理由としてオレイン酸や石鹼が細菌表面の脂質を溶解して、免疫血清の菌体への透過性を高めるという説を立てております。三つ目はオプトヒンが生体内でも殺菌力を示すことが Morgenroth &

註1: 特異的なムコイド型の集落を形成する双球菌は、1903年に Schottmüller によってレンサ球菌に分類されましたが(本シリーズ、血液含有培地導入前後における肺炎球菌とレンサ球菌(その1)参照)、すでに地域によっては *Streptococcus mucosus* ではなく、*Pneumococcus mucosus* とも呼ばれておりました

註2: 本シリーズ“臨床微生物学の礎を築いた人々”前号の図1をも参照してください

註3: 細菌の自己融解については1891年に酵母菌で認められることが Salkowski によって記述されています。その際、培地中には可溶性の窒素成分が増加すると報告しております。同年、Fermi は細菌が保有するトリプシンが細菌の蛋白を分解すると報告しております。1903年に Canradi はチフス菌や赤痢菌は内毒素によって自己融解すると報告しております。同年、当時ドイツに留学していた志賀も Neisser と共に同様な報告をしております。また、1907年には Flexner や Wollstein によって髄膜炎菌や淋菌は冷蔵庫の中でも自己融解すると報告されています。それらの論文を記しておきます。Salkowski E. Ueber Autodigestion der Organe. Ztschr klin Med. 17, Suppl 77, 1891. Fermi Cl. Weitere Untersuchungen über die tryptischen Enzyme der Mikroorganismen. Centralbl Bakt. 13 : 401, 1891. Canradi E. Ueber lösliche durch aseptische Autolyse erhaltene Giftstoffe von Ruhr- und Trphusbazillen. Dtsch Med Wochnschr. 29 : 26-28, 1903. Neisser N, Shiga K. Ueber freie Receptoren von Typhus- und Dysenteriebazillen und ueber die Dysenterietoxin. Dtsch Med Wochnschr. 29 : 61-62, 1903. Flexner S. Contributions to the biology of *Diplococcus intracellularis*. J Exp Med. 9 : 105-141, 1907. Wollstein M. Biological relationships of *Diplococcus intracellularis* and Gonococcus. J Exp Med. 9 : 588-605, 1907.

In table I is shown the relative frequency of occurrence of organisms of the different types during the year 1912-13.

TABLE I.

	No.	Per cent.
Group I .....	35	47
Group II .....	13	18
Group III ( <i>mucosus</i> ) .....	10	13
Group IV (heterogeneous) .....	16	22
Total typical .....	58	78
Total heterogeneous .....	16	22
Total .....	74	

Table II shows a like classification of the strains obtained during 1913-14.

TABLE II.

	No.	Per cent.
Group I .....	21	30
Group II .....	28	39
Group III ( <i>mucosus</i> ) .....	6	8
Group IV (heterogeneous) .....	16	23
Total typical .....	55	77
Total heterogeneous .....	16	23
Total .....	71	

図 1

Dochez & Avery (文献 9) に記載されている、New York 市で 1912 年から 1914 年の間に大葉性肺炎の患者から分離された肺炎球菌の血清型を Dochez & Gillespie の方法に従って分類した年次の評価の表で興味深い。年次的には各グループ間にかなりの変動が見られているが、彼らは Group I と II の合計での比率が共に約 70% で一定していると記載している。しかし、抗菌薬が多く使用されている現在の臨床検査における肺炎球菌の検出状況からは、Group I と II の合計比率は必ずしも一定とは言い難く、当時の Group II に含まれる肺炎球菌にも大きな変動が見られていることに留意すべきであろう。

Levy<sup>7)</sup> によって報告されたことです。つまり、オプトヒンは肺炎球菌の鑑別のみならず、治療薬としても活用されることを示唆することになりました。

1913 年、Dochez & Gillespie<sup>8)</sup> は Neufeld ら<sup>4)</sup> の protection test を活用して、肺炎球菌を I、II および III という 3 つのグループ (全検査菌株の約 80%) と、その何れにも属さない異種混合のグループ (全検査菌株の約 20%) に分けました。そしてグループ III (group III) に属する菌は総て *Streptococcus mucosus* と言われるムコイド型の菌でありました。残りの異種混合の菌はグループ IV (group IV) あるいは Heterogeneous group と称することにしました。この際、Neufeld<sup>4)</sup> の群別による“typisch”の菌はグループ I (group I) に該当し、“atypisch”株に属する Franz 株はグループ II (group II) に該当すると記しております。

この Dochez ら<sup>8)</sup> の論文には、それを支援するいくつかの論文が Rockefeller 医学研究所より出されています。その一つは 1915 年に Dochez & Avery<sup>9)</sup> の連名で、New York 市で分離された肺炎球菌を上記 Dochez らの分類法<sup>8)</sup> を活用して年次的に調べた成績です (図 1)。彼らは group I と II の検出率に年次的な変動があることを認めています。その合計比は 70% 台と定常的であること、それに加えて、毒性の強さは group III、II、I および IV の順であるとしております。

二つ目は 1914 年に Cole<sup>10)</sup> によって、大葉性肺炎に対する血清学的療法が group IV を除く三つのグループにおいて可能であることが強調されていることです。それまでも肺炎球菌感染症に対する抗血清療法はすでに検討されていましたが、成功はしていませんでした。しかし、当時は Rockefeller 医学

研究所で作成された髄膜炎菌抗血清が髄膜炎菌性髄膜炎に対して極めて有効であることが、Flexner<sup>11)</sup>によって大々的に報告されたという社会的背景もありました(註4)。抗血清療法については項を改めて記すことにします。

三つ目に1915年にAvery<sup>12)</sup>が単独名で出した論文があります。Averyは上記したDochezとの共同研究<sup>9)</sup>において、group IIに属する菌の凝集反応に遅延が見られる菌株があることに気付き、それらの遅延菌株10株の抗血清を作成して交差試験を行い、それらの菌をIIA、IIBおよびIIXというsubgroupに分けました。また、Averyはこの論文においてDochezら<sup>8)</sup>によってgroupと呼ばれた肺炎球菌の血清学的分類をTypeと称することにしております。そして、この報告は肺炎球菌は血清学的にさらなる多様性があることを暗示することになりました。

Dochezら<sup>8)</sup>の論文が発表された1913年には、肺炎球菌の血清学的分類について、もう一つのユニークな論文が南アフリカのLister<sup>13)</sup>によって出されています。Listerは金山で働く労働者が肺炎に罹患した際に分離された肺炎球菌の試験管内実験においてオプソニン効果に乏しいことに気付き、20例の肺炎患者から分離した肺炎球菌を用いて、crisis(大葉性肺炎の融解期)を経た14例の血液との間におけるオプソニン効果と凝集反応を調べ、その相違からA、B、CおよびDという4つのグループに分けております。そして、Dochezら<sup>8)</sup>の標準株の分与を受けて、それらとの比較検討を行っております。結果はLister<sup>14)</sup>の報告によれば、AとCはDochezらのTypeのいずれにも属さず、BはType II、CはType Iに該当し、新たに見出したEの菌はType IIIに該当するとしております(註5)。

前記したDochez & Avery<sup>10)</sup>の論文でもListerの論文<sup>13)</sup>に触れ、肺炎球菌には地域や人種によって病原性の強い共通する血清型と共通しない血清型があ

るようで、それぞれの地域に住む人々の口腔に生息する肺炎球菌と病原性との関連を調べる必要があると記述していることが今日においても注目されることです。

1914年は第一次世界大戦が始まった年です。1918年の終戦までの間における肺炎球菌に関わる論文は収集しただけでも33篇ありますが、そのほとんどがRockefeller医学研究所に所属する研究者によるもので、多くは培地の改良や莢膜の有無、あるいは胆汁溶解性や消毒に必要な殺菌性物質の検討などに対する追試や変法に関わる論文で、戦争の影響が色濃くかぶさっているようです。ことに戦争末期にはSpanish fluの流行に伴い、肺炎球菌感染症の迅速診断に関わる論文が見られるのが特徴です。

例えば、Avery<sup>15)</sup>は糖を加えた液体培地中で喀痰を5時間培養後、抗血清を加えて凝集の有無を確かめる迅速診断法を考案しております。しかし、この方法では検出不能な症例があることがBeckler<sup>16)</sup>らによって指摘されているのは、血清型を考慮すれば当然のことでありました。それに替わってDochez & Avery<sup>17)</sup>らは肺炎球菌の尿中抗原を抗血清を用いて迅速に検出する方法をも考案しておりますが、この精度もType IIIでは強陽性、Type Iでは弱陽性、Type IIではバラツキが見られるという結果でした。

第一次世界大戦後の肺炎球菌の血清学的研究は、1918年にNicolleら<sup>18)</sup>がDochezら<sup>8)</sup>の血清学的分類法はフランスで分離された菌には適合しないと報告した頃より再稼動し始めたというべきでしょう。それは前記Lister<sup>13, 14)</sup>の発表と同様に、肺炎球菌の血清型にはそれぞれの地域に独自性があることを意味してございました。

肺炎球菌の自己融解あるいは胆汁溶解性に関する本格的な研究もまた第一次大戦以降に始まったと言ふべきかもしれません。1919年、Lord & Nye<sup>19)</sup>は肺炎球菌の自己融解はpHが4.0～8.0の間で見られる

註4: 肺炎球菌感染症に対する抗血清療法は1897年頃より行われておりますが、莢膜血清型不明のままの抗血清を使用していたのですから成功していません。1910年のNeufeldらの免疫血清による感染防御効果は抗血清療法に新たな理念を植えつけることになりました。しかし、実際は肺炎球菌のマウスに対する毒性が強くて予備実験は成功せず、ヒトでの効果は望み薄と言われていた時代です。Coleの論文はさらなる肺炎球菌の特異抗体を作成する刺激剤となりました。その背景には1913年にRockefeller医学研究所で作成された髄膜炎菌抗血清(当時Flexner's serumと言われていました)が約1300名の欧米諸国の髄膜炎菌性髄膜炎の患者に提供され、死亡率を30%にまで低下させたという劇的な報告がFlexnerによって出されたという経緯がありました。そのことについては抗血清療法として別に記したいと考えております。

註5: Listerは英国生まれの人ですが、1907年に船医として南アフリカを訪れた際に、そのまま下船して開業医となった経歴の持ち主です。当時の南アフリカでは金山で働く労働者に肺炎で死亡するものが多く、そのため英国から派遣されたSir Wrightの調査を助けることになり、その間に行われた研究です。

が、酸性の側で活発で pH が 5.1 である際には 5 時間で死滅すると発表しております。さらに 1920 年に Avery & Cullen<sup>20)</sup> は肺炎球菌の自己融解は細胞内の形質 (酵素) に由来するが、その活性化には培養温度が関係すると報告しております。

1921 年、Avery ら<sup>21)</sup> は “influenzabacillus” の発育には X・V 因子が必要と発表しておりますが、肺炎球菌の持続生存にも欠かすことができないと同論文で述べております。同年、肺炎球菌の保存には冷凍凍結乾燥法が最適という、現在の細菌保存法にも通ずる手法が Swift<sup>22)</sup> によって報告されました。

肺炎球菌の血清学的分類は 1925 年頃までの間に多くの発表がなされています。1919 年、Nicolle ら<sup>23)</sup> は前回の発表<sup>18)</sup> に続いて group IV に属する肺炎球菌には多様性があると発表しておりますし、同年 Stillman<sup>24)</sup> は Type II に属する肺炎球菌は血清学的に 12 のグループに分けられると発表しております。また、同年 Clough<sup>25)</sup> は吸収試験によって典型的な Type I あるいは type II と断定できない菌があると発表しております。

1921 年、Armstorong<sup>26)</sup> もまた英国で分離された group IV に属する菌には多様性があり、それを Type IV とするには難点があると述べております。Griffith<sup>27, 28)</sup> もまた Rockefeller 医学研究所から分与された肺炎球菌の標準株を用いて英国で分離された 77 株の肺炎球菌について血清学的検討を加えて、その結果を同年と翌年に分けて発表しておりますが、結論としては group IV に属する菌は 12 の新たなグループと 28 の何れにも属さない菌株に分けられると報告しております。米国の Cooper ら<sup>29)</sup> もまた 1921 年に Spanish flu あるいは類似の気道感染症患者から分離した group IV に属する 53 の菌株について交差凝集反応と吸収試験を実施し、6 つの小集団と 13 の何れにも属さない菌株に分けられると発表しております。

1922 年、米国の Gordon<sup>30)</sup> もまた Spanish flu 流行

時の肺炎患者から分離した group IV に属する 15 株の肺炎球菌について交差凝集試験と吸収試験を行い、3 つの subgroup と 8 つの何れにも属さない菌に分類されると報告しております。同年、Yoshioka<sup>31)</sup> は留学していた Robert Koch 感染症研究所において Dochez ら<sup>8)</sup> の標準株と Neufeld ら<sup>4)</sup> が当初に分類した標準株を用いて、ドイツで分離された菌株の検討を行っておりますが、米国での分類と合致しないものが多いと報告しております。ただ、合致しない原因に肺炎球菌の培養中における変異が関与している可能性を論じていることが注目されます (註 6)。

本邦でも東北大学の Takami<sup>32)</sup> が本邦で分離された 28 株の肺炎球菌について血清学的分類の検討を行って 1925 年に発表しております。結論としては血清学的に分類できなかったというもので、その原因は Yoshioka<sup>31)</sup> の報告と類似して、肺炎球菌増殖のための培地あるいは継代培養中における変異が関与している可能性があるというものでした (註 7)。

当時は 1923 年に Griffith<sup>33)</sup> によって肺炎球菌には S 型と R 型という変異株が見られることが報告されたという社会的背景もありました。多くの研究者の関心は血清型の分類から肺炎球菌の変異に移っていきました。言うなれば、肺炎球菌の培地上に見られるコロニーの解離と血清学的変異が混然として論ぜられた時代であります。Yoshioka<sup>31)</sup> や Takami<sup>32)</sup> の論文は、自ら行った実験結果が既存のデータと合致しない時の対応として、結論を菌の変異に委ねようとする点がうかがわれ、如何にも日本的な感覚が感ぜられるものでした。

紙面の都合上、Griffith<sup>33)</sup> による肺炎球菌の S 型と R 型の発表以降の解離や形質転換についての研究は次号で記すことにしますが、血清学的分類については、1927 年には Robinson<sup>34)</sup>、1928 年には Sugg ら<sup>35)</sup> によっても type の異なる菌株があることが報告されています。Cooper ら<sup>36)</sup> は 1929 年にそれらの一部の菌株をも含めて、改めて 120 株の肺炎球菌につい

註 6: Yoshioka は現東京女子医科大学の設置者である吉岡弥生の夫、荒太の末弟で、大阪府立高等医学学校卒業後、大阪医科大学の教授をも務めておられた方ですが、1920 年に東京女子医科大学が文部省の認可を受けた際に同学校の教授に就任、その後ドイツに留学しております。彼が発表した肺炎球菌の免疫学的変化に関わる論文の中では、下記の論文がその後の肺炎球菌の解離や変異に関わる諸家の研究において、よく引用されています。本邦の Takami もまた、その一人です。Yoshioka M. Untersuchungen über Pneumokokkenimmunität. II. Mitteilung. Veränderungen der Agglutination bei Pneumokokken des Typhus I, II und III und bei Streptokokken. Ztschr Hyg Infektionkr. 97 : 232-243, 1923.

註 7: Takami の論文において対象となった肺炎球菌にはイヌリン分解能や胆汁溶解能が欠損している株が見られており、残念ながら Yoshioka の論文と同列で論ずることはできないようです (文献 31 参照)

TABLE III  
*Grouping of Strains of Pneumococci of So Called Group IV from Normal Individuals,  
 from Respiratory Cases Other than Pneumonia and from Pneumococcus  
 Meningitis*

Types	From normal individuals	From respiratory cases other than pneumonia	From pneumococcus meningitis
IV	2	1	1
V	4	1	0
VI a	9	4	0
VI b	0	1	1
VII	1	1	2
VIII	5	1	2
IX	1	1	0
X	1	0	1
XI	3	1	1
XII	0	0	2
XIII	2	2	0
XIV	0	1	1
XV	1	1	0
XVI	1	2	0
XVII	1	0	0
XVIII	2	1	4
XIX	8	4	0
XX	0	3	2
XXI	0	3	1
XXII	0	0	0
XXIII	1	3	1
XXIV	1	3	1
XXV	0	1	0
XXVII	1	2	1
XXVIII	0	0	0
XXIX	0	1	0
XXX	0	1	0
XXXI	0	1	0
XXXII	0	0	0

Type IV—Pn. 10, Griffith (2); Group IV B, Robinson (3).  
 Type V—Sub. II A, Avery (4); Group IV E, Robinson (3).  
 Type VI—Sub. II B, Avery (4).  
 Type VIII—Group IV A, Robinson (3); Atypical III, Sugg, Gaspari, Fleming  
 and Neill (5).  
 Type XV—Pn. 98, Griffith (2).  
 Type XXI—Pn. 160, Griffith (2).  
 Type XXII—Pn. 41, Griffith (2).

図 2

Dochez & Gillespie (文献 8) によって group IV とされた菌株を、抗血清を用いた凝集反応と吸収試験により IV から XXXII の 29 の型に分類した表で、Cooper らの論文 (文献 36) の 10 頁目に記載されている。それぞれの菌の由来が正常人から肺炎を除く呼吸器感染症と肺炎球菌性髄膜炎であることが示されていることが興味深い。ことに、この表では正常人や呼吸器感染症から分離された肺炎球菌に VI a や XIX がやや多く見られているが、それらの菌型は現状では更に検出頻度は高まっており、その理由もまた研究に値するであろう。なお、表の下方欄外に記す Type IV から Type XXII に至る 7 つの血清型は、同論文の 2 頁から 3 頁にかけて記されているもので、諸家によって Dochez らの Group に該当しないとされた菌株が Cooper らの分類型と合致している菌株であることを示したものである。( ) の中に示されている数字は Cooper の論文に記載されている引用文献の No. で、本書では Griffith (2) は文献 28、Robinson (3) は文献 34、Avery (4) は文献 12、Sugg, et al (5) は文献 35 が該当する。

て血清型分類を行い、さらにそれらの血清型を細分化して、総ての肺炎球菌を 32 の血清型に分類して発表<sup>37)</sup>したのは 1932 年のことでありました。

参考までにその表を示してこの号を終わりとします (図 2)。

文 献

- 1) Collins KR. The application of the reaction of agglutination to the pneumococcus. J Exp Med. 7; 420-429, 1905.
- 2) Levy E. Differentialdiagnostische Studien über Pneumo-

- kokken und Streptokokken. *Virchows Arch path Anat.* **187** : 327-346, 1907.
- 3) Unger mann E. Beitrag zur Kenntnis der Ursachen der Pneumokokkenimmunität, insbesondere zum Verhalten "serumfester" Pneumokokkenstämme. *Ztschr Immunitätsforsch exper Therap.* **5** : 269-279, 1910.
  - 4) Neufeld F, Haendel L. Weitere Untersuchungen über Pneumokokken-Heilsera. III. Mitteilung. Über Vorkommen und Bedeutung atypische Varietäten des Pneumokokkus. *Arb Gsndhtsamte.* **34** : 293-305, 1910.
  - 5) Bürgers J. Über auflösungserscheinungen an Bakterien. *Centralbl Bakt, Beilage abt 1, Ref* **50** : 125-127, 1911.
  - 6) Lamar RV. Chemo-immunological studies on localized infections. I. Action on the pneumococcus and experimental infections of combined sodium oleate and antipneumococcus serum. *J Exp Med.* **13** : 1-23, 1911. III. Some further observations upon the action of certain soaps on the pneumococcus and its experimental infections. *Ibid.* **14** : 256-264, 1911.
  - 7) Morgemroth J, Levy R. Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion. *Berl klin Wchnschr.* **48** : 1560-1561, 1911. *Ibid.* II. Mitteilung. **48** : 1979-1983.
  - 8) Dochez AR, Gillespie LJ. A biologic classification of pneumococci by mean of immunity reactions. *JAMA.* **61** : 727-732, 1913.
  - 9) Dochez AR & Avery OT. Varieties of pneumococcus and their relation to lobar pneumonia. *J Exp Med.* **22** : 114-132, 1915.
  - 10) Cole R. pneumococcus infection and lobar pneumonia. *Arch Int Med.* **14** : 56-93, 1914.
  - 11) Flexner S. The results of the serum treatment in thirteen hundred cases of epidemic meningitis. *J Exp. Med.* **17** : 553-576, 1913.
  - 12) Avery OT. A further study on the biologic classification of pneumococci. *J Exp Med.* **22** : 804-819, 1915.
  - 13) Lister FS. Specific serological reactions with pneumococci from different sources. *Pub South African Inst M Research.* **1** : 1-14, 1913.
  - 14) Lister FS. An experimental study of prophylactic inoculation against pneumococcal infection in the rabbit and in man. *African Inst M Research.* **1** : 231-287, 1916.
  - 15) Avery OT. Determination of types of pneumococcus in lobar pneumonia/A rapid culture method. *JAMA.* **70** : 17-19, 1918.
  - 16) Beckler EA, Marden K, Gillette HH. Pneumococcus type determination by Avery's method. *JAMA.* **70** : 836, 1918.
  - 17) Dochez AR, Avery OT. The elaboration of specific soluble substance by pneumococcus during growth. *J Exp Med.* **26** : 477-493, 1917.
  - 18) Nicolle M, Jouan C, et al. Note sur les bacteries inagglutinableness. *Compt rend Soc bio.* **81** : 839-841, 1918.
  - 19) Lord FT, Nye RN. The relation of the pneumococcus to hydrogen ion concentration, acid death-point, and dissolution of the organism. *J Exp Med.* **30** : 389-399, 1919.
  - 20) Avery OT, Cullen GE. Studies on the enzymes of pneumococcus. I. Proteolytic enzymes. *J Exp Med.* **32** : 547-569, 1920. II. Lipolytic enzymes : Esterase. *Ibid.* **32** : 571-582, 1920. III. Carbohydrate-splitting enzymes : invertase, amylase, and inulase. *Ibid.* **32** : 583-593, 1920. IV. Bacteriolytic enzyme. *Ibid.* **38** : 199-206, 1923.
  - 21) Thjotta T, Avery OT. Studies on bacterial nutrition. II. Growth accessory substances in the cultivation of hemophilic bacilli. *J Exp Med.* **34** : 97-114, 1921. Studies on bacterial nutrition. III. Plant tissue, as a source of growth accessory substances, in the cultivation of *Bacillus influenzae*. *Ibid.* **34** : 455-466, 1921.
  - 22) Swift HR. Preservation of stock cultures of bacteria by freezing and drying. *J Exp Med.* **33** : 69-75, 1921.
  - 23) Nicolle M, Debains E. Sur les races du pneumocoque, avec remarques générales sur les antigenes. *Bull Acad méd.* **81** : 845-845, 1919.
  - 24) Stillman EG. A study of atypical type II pneumococci. *J Exp Med.* **30** : 251-258, 1919.
  - 25) Clough MC. A study of pneumococci reacting with antipneumococcus sera of types I, II, and III, with an observation of a mutation of one of the strains. *J Exp Med.* **30** : 123-146, 1919.
  - 26) Armstrong RR. The serological characters of disease-producing pneumococci. *BMJ.* **1** : 259-263, 1921.
  - 27) Griffith F. Serological types of pneumococci in lobar pneumonia. A study of 100 cases. *Lancet.* **198** : 226-228, 1921.
  - 28) Griffith F. Types of pneumococci obtained from cases of lobar pneumonia. *Rep. Pub Health Med, Ministry of Health.* **13** : 20-45, 1922.
  - 29) Cooper GM, Mishulow L, Blanc NE. II. A study of the serological relationships of pneumococci from the upper respiratory tract with special reference to common colds and influenza conditions. *J Immunol.* **6** : 25-51, 1921.
  - 30) Gordon JE. The relationship of the pneumococcus to acute infections of the upper respiratory tract in man. *Influenza studies. J Infect Dis.* **29** : 436-461, 1921.
  - 31) Yoshioka M. Beiträge zur Pneumokokkenimmunität. I. Mitteilung. Über die Spezifität der Pneumokokkentypen und über die Grenzen dieser Spezifität. *Ztschr Hyg Infektionkr.* **96** : 520-526, 1922. Untersuchungen über Pneumokokkenimmunität. III. Mitteilung. Versuche über Schutzimpfung von Mäusen (Neerschweichen und Kaninchen). *Ibid.* **97** : 386-407, 1923.
  - 32) Takami T. Über die Variationen der Pneumokokken. *Tohoku J Exp Med.* **6** : 41-64, 1925. Über ein neues Verfahren, gut wirkende Pneumokokkenserum herzustellen. *Ibid.* **6** : 65-71, 1925. Über agglutinatorische Veränderungen der Pneumokokken im Tierkörper. *Ibid.* **6** : 248-259,

- 1925.
- 33) Griffith F. The influence of immune serum on the biological properties of pneumococcus. Rep Pub Health Med, Ministry of Health. **18** : 1-13, 1923.
- 34) Robinson GH. The immunologic relations of Type IV pneumococci obtained during an epidemic. J Infect Dis. **41** : 417-422, 1927.
- 35) Sugg JY, Gaspari EI, Fleming WL, et al. Studies on immunological relationships among the pneumococci. I. A virulent strain of pneumococcus which is immunologically related to, but not identical with typical strains of Type III pneumococci. J Exp Med. **47** : 917-931, 1928.
- 36) Cooper G, Edwards M, Rosenstein C. The separation of types among the pneumococci hitherto called group IV and the development of therapeutic antiserums for these types. J Exp Med. **49** : 461-474, 1929.
- 37) Cooper G, Rosenstein C, Walter A, et al. The further separation of types among the pneumococci hitherto called group IV and the development of therapeutic antiserums for these types. J Exp Med. **55** : 531-554, 1931.