

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 — 13

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5)

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

前号ではSchottmüllerが1903年に血液寒天培地を用いてレンサ球菌を *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans* および *Streptococcus mucosus* の3群に分類した以前におけるブドウ球菌とレンサ球菌発見とその病原性に関わる論議について記すと共に、当時の丹毒による激しい病院内感染とそれに続発する強烈な敗血症性咽頭炎 (septic sore throat) の発生、更には産褥熱においても同様な病院内感染の問題があったことを述べてきました。言わば、本題の副題を「気道関連の微生物…」としながら、化膿性疾患に関連する細菌の記述をしたこととなります。しかし、レンサ球菌は急性扁桃炎や猩紅熱、あるいはそれに続発する腎炎や関節炎、更にはリウマチや感染性心内膜炎等の多彩な疾患と関連する細菌群です。そのことが肺炎球菌が示す病原性と異なるところであります。しかし、ここまで記述してきたレンサ球菌とは総て溶血性に関わる問題が定かでない時代のものであります。

当時の疫学の大家 Hirsh は丹毒や産褥熱による病院感染を克明に記しておりますが (前号参照)、その2年前 (1883年) に発行された猩紅熱の疫学¹⁾では丹毒や産褥熱との関連を記してはしません。ただし「毎年散発的に見られる猩紅熱での死亡率5%程度であるが、1600年の後半頃から10年から30年の

周期で地域的に猩紅熱の大流行が見られており、その際の死亡率は20%に達する」と記しています。また、その流行は秋にやや多いが季節的な特異性は少なく、感染力はヒトからヒトへの他に、患者のリネンや備品からの感染もあり、更にはミルクからの感染もあると記していることが注目されます。そして、その病原体はvirusに違いないと記していることも印象的です (註1および註2)。

Hirsh と同年代に発表された猩紅熱に関わる諸家の論文²⁻⁵⁾においても、外科的手術が施された患者や産褥熱患者において、その経過の途上で猩紅熱様皮膚発疹や発熱等が見られると報ぜられていることも注目されます。しかし、そこでも腎炎との関係は論ぜられておりません。猩紅熱と腎炎や関節炎あるいはリウマチとの関係が始めて論ぜられたのは Sennert (1627年) によってである (註3) と多くの成書には記されております。しかし、不思議なことにそれ以降において猩紅熱と腎炎との関係が記述されたのは140年後の1762年のことで、ウイーンで流行した猩紅熱の際に回復期に全身の浮腫と暗赤色の尿と乏尿が見られた症例があるとした書が von Plenciz⁶⁾ によって書かれております。その他に1801年になってからのことですが、Burserius⁷⁾ が書いた医学書に、1717年にフィレンツェで流行した猩

註1: 当時の学術誌には“virus”という用語が多く用いられていますが、特に濾過性病原体を意識して用いられたのではなく、原語ラテン語の“病原体”という意味で用いられていたこととなります。

註2: 猩紅熱については古代より麻疹や痘疹などの発疹性疾患と混同されていたようで、独立した疾患 (rossalia あるいは rosania) として記述されたのは、1533年にイタリアの医師 Ingrassias によってで、“De Tumoribus praeter Naturam”に記載されているとするのが一般的な見解です。また“scarlatina”という用語は中世紀にイタリア人 Haeser によって用いられたという説もありますが、医学書に最初に導入したのは1675年頃に Sydenham によってであると言われております。Sydenham は当時では最も信頼されていたイギリスの医師で、その著書“Methodus curandi febres, propriis observationibus superstructura”は医療のバイブルとして広く読まれておりましたが、当初に発行された1683年の同書には猩紅熱についての記述はなく、1683年発行の改訂版で初めて記載されていますが、「猩紅熱は夏の終わりに多く見られ、家族内感染、特に幼児での罹患率が高いが、症状は中程度で、発疹と落屑が見られるが、自然に寛解する」と書かれていて、当時の腎炎を含む重症例についての記載はありませんでした。そのことが第一次世界大戦前後に英国でみられた重症猩紅熱の流行の際に批判の対象になったこともあります。また、“scarlet fever”という用語を医学書に最初に使用したのも Sydenham で、1683年であると言われております。

註3: 猩紅熱と腎炎との関係を始めて記述したのは Sennert (1627年) と言われておりますが、一説によりますと1625年にポーランドで流行した猩紅熱の診療に当たっていた Sennert の義理の息子である Doering が Sennert に教えを請うた論議の中からヒントを得て記述したもので、実際は1625年という説もあります。

紅熱において、全身の浮腫と暗赤色の尿が認められた症例があり、それらは「猩紅熱の二次感染か猩紅熱の別の病期」にあたと記載されております。また、1806年に Wells⁸⁾ が猩紅熱後に見られる尿には血清が含まれており、暗赤色を呈するのは多分に血液であろうと記している書がありますが、いずれにしても1800年以前において猩紅熱と腎炎との関係を記した書は少ないと言わねばならないようです。

1827年に至って、英国の Bright⁹⁾ によって腎炎には急性と慢性の疾患があるが、共通の症状として浮腫の出現と尿中に血清アルブミンが出現し、高血圧

を伴うとする手書きの病理組織図が挿入された大論文が発表されました(写真1)。世に Bright's Disease と言われる一連の腎臓疾患です。この論文はたちまちのうちに激しい論争に巻き込まれました(註4)。その最大の理由は、当時においても剖検上に見られる腎臓の病理学所見は極めて多彩であったことによるものでした。そして、これらの論争の中では猩紅熱に伴う腎炎が何度も引き合いに出されているのですが、肝心の両者の間にレンサ球菌が介在していることが論ぜられたのは1905年以降のことです。猩紅熱の起炎菌はレンサ球菌であることを最初に

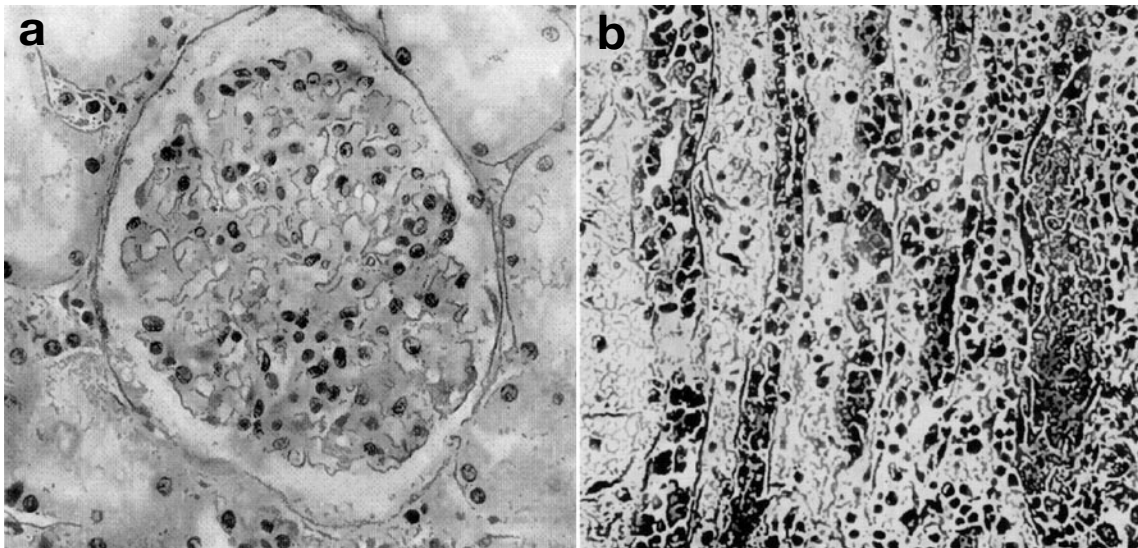


写真1

Brightが示した腎の病理所見像は手書きであることから、ここでは1909年にNew York市立病院の病理部門の指導者である Oertel が Bright's diseases について行った講演(文献10)の中から適当と思われた顕微鏡像2点を掲載した。ただし、これらの像の染色法には説明が付けられていない。また、aは倍率も示されていない。恐らく、講演の資料であることによるものと思われるが、像は Hematoxylin eosin 染色の像ではない。同書では Bright の学説に批判を加えながら、腎実質の崩壊と間質との空白部位を埋める物質の解明について、Sudan III、Scharlach、Nile blue あるいは osmic acid 等の効用についても解説をしていることから、ここでは細胞の輪郭や繊維素が鮮明に染色されるアニリン染色が応用されたものと思われる。細胞の核のみが濃く染まり、赤血球はほとんど識別できない像である。a) は猩紅熱による腎炎の初期の多く見られる像と記しているが、標本そのものは中耳炎に伴った敗血症で死亡した腎炎の像とも記している。このことから、この像は肺炎球菌による敗血症患者のものかもしれない。像そのものについては、糸球体内皮と上皮の細胞は膨化し、糸球体嚢と間質組織間には漿液性の滲出液が浸出し、糸球体そのものも混濁腫脹や漿液状の浸出に伴う充血が見られると説明している。また、b) は倍率×225、尿細管の像で、4本の尿細管のうち一つには白血球の滲出液、他の一つには上皮細胞の壊死、残りの二つには hyaline 様の物質によって栓塞されていると説明している。

註4: 水腫に関連した萎縮腎について最初に記述したのは病理解剖学の創立者 Morgani (1767年) で、水腫の尿中に血清アルブミンが存在することを見出したのは Cotugno (1770年) とも言われております。Bright は腎臓病の病変が部分的である急性期と、びまん性に及ぶ中間期と、萎縮腎という末期に分類しておりますが、多くの論議は腎の病理学的変性はもっと多彩であることから始まっております。新たな分類法が Christison (Edinburgh Med Surg Jour. 32: 262, 1829.)、Henle (Ztschr rationelle Med. 1: 67, 220, 1841.)、Virchow (Virchows arch path Anat. iv: 261, 1852.)、Rosenstein (Die Pathologie und Therapie der Nierenkrankheiten. Berlin, Hirschwald. pp35-40, 1863.)、Weigert (Volkmann's Sammlung klinische Vorträge. 162, 163, 1879.)、Lohlein (Arb Path Inst Leipzig, Hirzel, Leipzig. 1-98, 1907.) など、今までの本書において記述されてきた人々の多くがこの論議に参加しています。しかしながら、これらの論議は本シリーズの本題であるレンサ球菌とは必ずしも直結した論議ではないこともあって、本文に記載することは割愛しました。

発表したのは Klein¹¹⁾ (1887年) とされています。彼は 1885 年から翌年にかけてロンドンのある地域に限定して猩紅熱が発生したことから地方自治体の依頼を受け、その地域に牛乳を販売している農場の牛の乳房と乳首の潰瘍から菌 (micrococcus) を分離し、その菌を仔牛に接種すると発症することを確かめたと報告しております。また、猩紅熱で死亡したヒトの心血から分離した micrococcus を仔牛に接種すると発症することを確かめ、両者の菌の性状は一致するとも報告しております。そして Klein はこの菌を *Micrococcus Scarlatinae*、後に *Streptococcus Scarlatinae* と称することにしております (註 5)。

Klein の報告より多少後になりますが、猩紅熱とレンサ球菌との関係を論じた論文は、その他にもいくつかあります。Pearce¹²⁾ (1899年) は猩紅熱 23 例の剖検例を検討し、咽頭の炎症部位から検出される細菌は化膿レンサ球菌の頻度が最も高く、次いで黄色ブドウ球菌、肺炎双球菌の順であると述べております。また、Baginsky & Sommerfeld¹³⁾ (1900年) は猩紅熱 62 例の咽頭培養を実施し、すべての症例からレンサ球菌が検出され、42 例の剖検例の血液や骨髄からもレンサ球菌が検出されたことから、レンサ球菌が猩紅熱の起炎菌であると断言しております。一方、米国の Class¹⁴⁾ は 300 例の猩紅熱患者の咽頭細菌を調べ、レンサ球菌が有意に多く見られることから、これらの菌を *Diplococcus scarlatinae* と称することを提案しております。しかし、これらの論文には問題も含まれておりました (註 6)。何故なら、これらの論文で論じているレンサ球菌の出所の多くは、咽頭からであったからです。口腔内常在レンサ球菌や肺炎球菌も含まれていた可能性は否定できません。

いずれにしても、病原性のあるレンサ球菌は *S. pyogenes*、*S. erysipelatos*、*D. scarlatinae* あるいは *S. scarlatinae* という菌種が並列することになりました。

当時、レンサ球菌が猩紅熱の起炎菌であることがほぼ明瞭になりながら、尚且つ起炎菌と断定できなかった最大の理由は、Behring と Kitasato によってジフテリアの抗血清が開発されて以来 (註 7)、菌の病原性を確証するには抗血清による同定が必要でありました。しかし、レンサ球菌においては、それが必ずしも一致しなかったところにあったというべきでしょう。

1884 年に Rosenbach によって *S. pyogenes* が確定されて以来、レンサ球菌の分類と病原性並びに発症防止に関わる研究も当然行われておりました。1888 年には Sand & Jensen¹⁵⁾ によって仔馬の疫病である腺疫より *Streptococcus equi* が分離され、再現実験にも成功しております。1891 年には Lingelsheim¹⁶⁾ が 8 個以上連鎖しているレンサ球菌を *Streptococcus longus*、それ以下のレンサ球菌を *Streptococcus brevis* と称することを提案しております。もちろん、血液寒天培地は使用されておませんでした。

また、その片側では前号でも触れましたが、Fehleisen が丹毒から分離した *S. erysipelatos* を悪性腫瘍の患者に接種して腫瘍の縮小を試みたことを受けて、米国では Coley¹⁷⁾ が 10 例の悪性腫瘍に接種したという報告が 1893 年に出されています。結果は失敗に終わっていますが、腫瘍の縮小とは別に同一患者に 3 回にわたって丹毒の分泌物を接種して 3 回とも丹毒を発症していると記載されており、丹毒では免疫が成立しない可能性が示唆されたことにも繋がりました (前号註 15 参照)。

それでも 1895 年に Marmorek¹⁸⁾ は馬でレンサ球菌の抗血清の大量生産を試みております。しかし、単一菌の抗血清では成功せず、多価血清が必要とされていることが重要です。また、レンサ球菌は馬に対する感受性が最も強いと記していることも注目されます。1896 年には Lehmann & Neumann¹⁹⁾ が牛の乳房炎からは *Streptococcus agalactiae* が検出され

註 5: Klein はクロアチア人でウィーンでの医学研究途上で英国に派遣された研究者です。そのことあるのですが、発表の多くは地方自治体の依頼による報告で、*Micrococcus Scarlatinae* というオリジナルの菌名を *Streptococcus Scarlatinae* に変更した記述もレポートのままで終わっています (文献 11)。ただし、この頃から市販のミルクによる猩紅熱の流行は見られていたという重要な記述です。

註 6: Class が *Diplococcus Scarlatina* と命名したことについては、直ぐに多くの異論が出されました。それに対し Class は猩紅熱患者の咽頭と血液に見出された菌は検鏡では双球菌であったので、*D. Scarlatinae* としたが、寒天培地上で成長した菌が連鎖状になっていた像とは異なっていたと弁明を “The etiology of scarlet fever. Lancet. 156 ; 927-931, 1900.” でしております。恐らく肺炎球菌が混合していたと思われる。

註 7: 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-6 - Richard Pfeiffer と Shibusaburo Kitasato (その 1). Modern Media. 57 : 343-348, 2011. を参照してください。

るとする書を出版しております(註8)。

レンサ球菌に家兎の赤血球を溶かす物質があると最初に報告したのは1897年 Bordet²⁰⁾ によつてです。1901年 Besredka²¹⁾ はレンサ球菌のブイヨン培養濾液には、ヒトとヤギおよび羊の血液を溶血するが、鶯鳥や鶏の血液は溶血しないという現象が見られ、その培養濾液を家兎に頻回に注射すると、家兎は死亡直前に皮膚が深紅になると報告しております。1902年 Marmorek²²⁾ はレンサ球菌の溶血素の抽出に成功していますが、この報告で何よりも重要なことは、レンサ球菌には溶血素を産生する菌と産生しない菌があると記していることです。また、この溶血素はモルモットに対する毒性に乏しいとも記しております。

かくて、1903年に Schottmüller がヒトの血液を用いた寒天培地上に形成された集落の性状から、レンサ球菌を *S. pyogene*、*S. viridans* および *S. mucosus* の3群に分類した論文²³⁾ (1903年) を発表するに至るのですが、この中の *S. mucosus* は肺炎球菌の type 3 に該当することは既に述べたところです(前号参照)。Schottmüller の論文には、もう一つの注目すべきことが書かれています。それは *S. longu-seu-erysipelatos* は丹毒、蜂巣炎および敗血症と関連を有し、*S. viridans* は心内膜炎と関係を有すると記していることです。しかし、この Schottmüller の論文は1906年に Ruediger²⁴⁾ によつてクレームが付けられました。それは Schottmüller が *S. viridans* とした菌種には血液寒天培地上で示す緑色の集落に定常性が見られないというものでした。つまり、Schottmüller の言う *S. viridans* にはさまざまなレンサ球菌が含まれていることが示唆されたこととなります。当時は肺炎球菌の同定法も未だ定かでない時代です。そして、このことが後に肺炎球菌に起因する腎炎やリウマチなどといったさまざまな問題を引き起こすことになるのですが、そのことについては次号で述べることにします。

レンサ球菌の鑑別については、もう一つの注目すべき検討が1905年から1906年にかけて行われています。当時腸チフスでは炭水化物の発酵^{25~27)} (註9)の有無によつて菌の病原性を鑑別しようとする研究が進んでおりました。Gordon²⁸⁾ はそれらの研究をレンサ球菌の鑑別に応用することを考え、35の有機化合物について検討し、最終的には二糖類として lactose と saccharose、三糖類として raffinose、多糖類として inulin、配糖体として salicin と coniferin、糖アルコールとして mannite という7つの炭水化物の発酵状況をヒト唾液由来のレンサ球菌300株と大気中から得られた101株のレンサ球菌について調べました。また Gordon の同僚 Houston (註10) は同じくヒト糞便由来のレンサ球菌300株と牛のミルクと糞便由来の172株のレンサ球菌について調べました。

それに加えて、Andrewes & Horder²⁹⁾ は上述した菌株を含む1200株を用いて上記炭水化物の発酵パターンからレンサ球菌の菌種を7つに分類しました。

- a. *Streptococcus equinus* : 非病原性、草食動物の糞便に共通、saccharose、salicin を発酵
- b. *Streptococcus mitis* : ヒトの唾液と糞便に共通、lactose、saccharose、salicin を発酵
- c. *Streptococcus pyogenes* : 溶血性、病原性、lactose、saccharose、salicin を発酵、ミルクを酸性化する
- d. *Streptococcus salivarius* : 非病原性、ヒトの口腔に共通、ミルクを凝結、中性赤を還元、lactose、saccharose、raffinose を発酵
- e. *Streptococcus angiosus* : 溶血性、病原性、猩紅熱と悪性咽頭炎に共通、ミルクを凝結、中性赤を還元、lactose、saccharose、raffinose を発酵
- f. *Streptococcus faecalis* : ヒトの腸に共通、ミルクを凝結、中性赤を還元、lactose、saccharose、salicin、mannite を発酵
- g. *Pneumococcus* : ミルクを凝結、ただし中性赤を還元しない、lactose、saccharose、raffinose、

註8: *Streptococcus agalactiae* を最初に見出したのは Nocard & Mollereau で、その際の菌名は“*Streptooccus de la mammite*”で“*Sur une mammite contagieuse des vaches laitières. Ann l'Inst Pasteur. 1 : 109-126, 1887*”に記載されているとする文献もあります。ここでは1980年のIJSEMでの決定に従いました。

註9: 種々の炭水化物に対する発酵試験を系統的に検討したのはフランスの Péré (1892年)(文献25)ですが、腸チフス菌については1901年イギリスの Harden ら (1901年)(文献26) やチェコの Duchacek (1901年)(文献27) らによつて検討されています。

註10: Gordon と Houston の詳しい報告は、Rep Med Off Local Gov't Bd, Great Britain. 1902-3 ; 32 : 421, ibid. 1903-4 ; 388, 472 等に記載されていますが、いずれも地方自治体の記録ですので、ここでは参考文献28のみを記載しました。

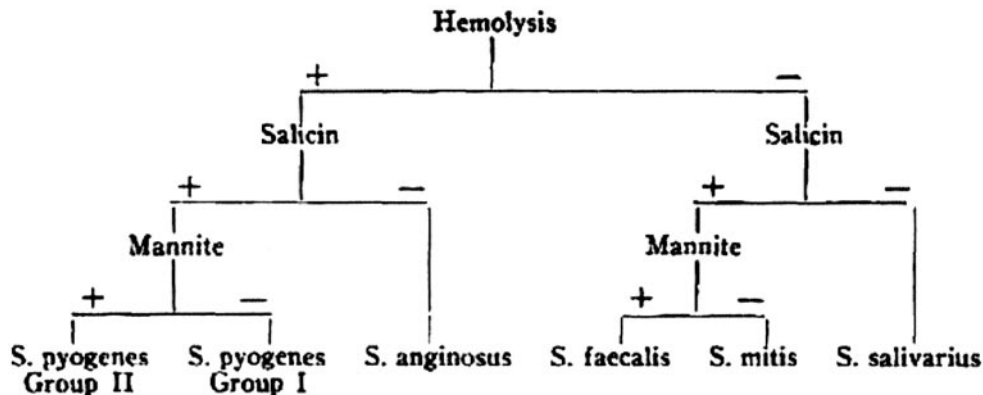


図 1

この図は1916年にHenrici(文献33)がAndrews & Horderらの分類法に従って、その再実験を行った際の論文に記載されている分岐図である。ただ、Andrews & Horderら分類法と異なっている点は、先ずレンサ球菌を溶血の有無によって大別していることにある。この分岐図を見るとレンサ球菌の分類は極めてスムーズに達成できるとの感があるが、実際は容易でなかったようである。その理由としては、① *S. faecalis* と *S. anginosus* の病原性をマウスで見出すのは困難、② *S. mitis* と *S. pyogenes* の区別は糖類の発酵パターンからでは困難で、溶血性の有無のみが根拠となった、③ *S. pyogenes* は Mannite 発酵の有無によって2グループに分けることが望ましく、さもないと *S. faecalis* に分類されかねない、④ 総ての菌株が lactose, saccharose を発酵し、リトマス・ミルクを酸化させた、⑤ inulin を発酵する株が2株あったが、マウスの腹腔内通過で莢膜は認められず、それぞれの糖類発酵パターンに従って *S. mitis* と *S. salivarius* に分類された、⑥ 通常 *S. salivarius* の識別として用いられていた糖類の発酵パターンはこのシリーズに用いられた *S. mitis* のほとんどの株において同様な発酵が見られた、などが記述されている。生物学的性状に基づく分類法の難しさを物語るものであるが、現在ではこれらの性状の検査はキット化され、自動的に同定に活用されている。言うなれば、一つ一つの変化に細心の留意を払わなくなっているのが現状の細菌検査の実情であろう。多くの読者諸君は、このような論文をどのように受けとめるのであろうか。

inulin を発酵、mannite と glucoside には作用しない

この報告により、ようやくにしてレンサ球菌の分類と病原性の確定に至る道筋が見えてきたようですが、この発表もまた、その翌年の1907年にBuerger³⁰⁾によってクレームが付けられました。それは炭水化物の発酵試験は微生物の発育に好都合な培地でのみ行われるべきもので、Andrews & Horder が行った分類は、ほとんど保証されないという厳しいものでした。このような指摘はWalker³¹⁾(1911年)やBergey³²⁾(1912年)によっても報告されています。これを受けて1912年に米国のWinslowはレンサ球菌の分類には単糖類のみを発酵する菌、単糖類と二糖類を発酵する菌、単糖類と二糖類および三糖類を発酵する菌として考える方が合理的であると報告しています(図1)。

いずれにしても、レンサ球菌を炭水化物に対する発酵試験のみで分類することもまた至難なことでありました。当時は第一次世界大戦が始まる直前の時代です。欧州諸国間には騒然とした争いが続いてお

りました。その間において米国では病巣感染説という理論が持ち上がっておりました。いわゆる扁桃や歯根部に感染の focus があると、それが原因で新しい難治の疾患が惹起されるという論議で、それらの論議は次第に神がかってポリオやヘルペスも含まれるに至っておりました。もちろん、レンサ球菌や肺炎球菌も含まれておりました。

次号ではそれらの病巣感染説と英国と米国の各地において発生した敗血症性悪性咽頭炎と、未だに解決されないままであるレンサ球菌の型別について記して行きたいと考えています。

文 献

- 1) Hirsch A. Scarlet fever. Handbook of Geographical and Historical Pathology. Vol 1. Trans Creighton C. New Sydenham Soc. Lond. pp 171-196, 1883. Erysipelas. Ibid. Vol II. pp 389-415, 1885. Puerperal fever Ibid. pp 416-475. Hospital Gangrene. Ibid. pp 476-491
- 2) Hoffa A. Ueber den sogenannten chirurgischen Scharlach. Sammlung klinischer Vorträge herausgeb no 292. R Colkmann, Leipzig. pp 20-22, 1887.

- 3) Brunner C. Ueber Wundscharlach. Berlin. (s.n.), pp 22-24, 1895.
- 4) Litten M. Ueber septische Erkrankungen. Ztschr klin Med. **2** : 431-433, 1881.
- 5) Olshausen R. Untersuchungen über die Complication des Puerperium mit Scharlach und die sogenannte Scarlatina puerperalis. Arch Gynakol. **9** : 169-172, 1876.
- 6) von Plenciz MA. Tractatus III de Scarlatina. Trattner JA, Vienna. pp 1-221, 1762.
- 7) Burserius de kanilfeld JB. The institutions of the practice of Medicine. **2** : 420-530, 1801.
- 8) Wells WC. Observation on the dropsy which succeeds sacalet fever. Trans Soc Imp Med Chir knowledge. **3** : 167-186, 1812.
- 9) Bright R. Reports of Medical Cases Selected with a View of Illustrating the Symptoms and Cure of Diseases by a Reference to Morbit Anatomy. Longman, London. **1** : 1-67, 1827.
- 10) Oertel H. The anatomic histological processes of Bright's disease. Saunders Co, Philadelphia & London. pp27-160, 1910.
- 11) Klein EE. The etiology of Scaret fever. Proceeding of the Royal Society of London (1854-1905). **42** : 158-161, 1887-01-01. Report of the medical officer for 1885. 15Th Annual Report of the Local Government Board. **15** : 90-110, 1886.
- 12) Pearce RM. Scarlet fever, its bacteriology, gross and minute anatomy. Boston Soc Med Sciences. PP 161-166, 1899.
- 13) Baginsky A, Sommerfeld P. Ueber einen constanten Bacterienbefund bei Scharlach. Berl klin Wchschr. **27** : 588-591, **28** : 618-621, 1900.
- 14) Class WJ Scarlatinous sore throat. A synopsis of three hundred cases showing the presence of the *Diplococcus scarlatinae*. JAMA. **34** : 476-478, 1900.
- 15) Sand G, Jensen CO. Die Ätiologie der Druis. Dtsche Ztschr tiermed Vergleich Pathol. **13** : 437-464, 1888.
- 16) von Lingelsheim. Experimentelle Untersuchungen über morphologische, culturelle und pathogene Eigenschaften verschiedener Streptococcen. Zeitschr Hyg. **10** : 331-332, 1891.
- 17) Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas : with a report of ten original cases. Amer J Med Sci. **10** : 487-511, 1893.
- 18) Marmorek A. Le streptocoque et le sérum antistreptococcique. Ann l'Inst Pasteur. **9** : 593-620, 1895.
- 19) Lehmann KB & Neumann R. Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. Bd 1. Lehmann JF, München. 1896
- 20) Bordet J. Contribution a l'Étude du sérum antistreptococcique. Ann l'Inst Pasteur. **11** : 177-213, 1897.
- 21) Besredka A. De l'Hémolysine streptococcique. Ann l'Inst Pasteur. **15** : 880-892, 1901.
- 22) Marmorek A. L'Unite des streptocoques pathogenes pour l'Hoomme. Ann l'Inst Pasteur. **16** : 171-178, 1902.
- 23) Schottmüller H. die artunterscheidung der den Menschen pathogenen kokken surch Blutagar. Münch med Wchnschr. **50** : 849-853, 909-912, 1903.
- 24) Ruediger GF. The cause of green coloration of bacterial colonies in blood-agar plates. J Infec Dis. **3** : 663-665, 1906. The streptococci from scarlatinal and normal throats and from other sources. Ibid. **3** : 755-769, 1906.
- 25) Péré MA. Contribution a la biologie du *Bacterium coli* commune et du *Bacille typhique*. Ann l'Inst Pasteur. **6** : 512-537, 1892.
- 26) Harden A. The chemical action of *B. coli communis* and similar organisms on carbohydrates and allied compounds. London, J Chemi Soc. **79** : 610-628, 1901.
- 27) Ducháček F. Biologishe-chemische Studien über den *Bacillus typhi abdominalis* und das *Bacterium coli commune*. Praph, Rozpr, Ceske ak frant Jos 1901 ; 13 : No10, (17). Trans Neue biologisch-chemische Untersuchungen ubel den Bacillus typhi abdominalis unt Bacterium coli commune. Centbl Bakteriolog. **37** : 161-164, 1904.
- 28) Gordon MH. A ready method of differentiating streptococci and some results already obtained by its application. Lancet. **166** : 1400-1403, 1905.
- 29) Andrewes FW. Horder TJ. A study of the streptococci pathogenic for man. Lancet. **168** : 708-713, 1906.
- 30) Leo Buerger AM. The defferentiation of streptococci by means of fermentative tests. J Exp Med. **9** : 428-435, 1907.
- 31) Walker EWA. On variation and adaptation in bacteria, illustrated by observations upon Streptococci with special reference to the value of fermentantion tests as applied to these organisms. London Proc R Soc. **83** : 541-558, 1911.
- 32) Bergey DH. Differentiation of cultures of streptococcus. J Med Res, Boston. **27** : 67-77, 1912.
- 33) Henrici A. The specificity of streptococci. J Infect Dis. **19** : 572-605, 1916.