

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 — 17

インフルエンザ菌とスペイン風邪 (Spanish flu) (その2)

帝京大学名誉教授
このまさとし
紺野昌俊
Masatoshi KONNO

前号ではインフルエンザの病原体と提唱されたインフルエンザ菌の発育には Hemoglobin と野菜由来のビタミンが必要であることが Davis¹⁾ らによって明らかにされましたが、同菌の正確な同定法を確定するに至らないままにスペイン風邪 (1118～1920年) の大流行に直面し、インフルエンザの病原体としての検証に追われることになったことを記しました。そして、さまざまな論議はありましたが、Avery の開発によるオレイン酸血液寒天培地²⁾ を用いてインフルエンザ菌を選定し、それらの菌が検出された患者の血清学的検討や動物でのワクチン開発等を網羅的に検討した Wollstein³⁾ による論文に書かれている結語が、当時の論議の終末点であろうと記しました。その結語とは「インフルエンザ菌はインフルエンザの病原体とは言えないが、インフルエンザの二次感染菌として関わっている場合もある。また、動物でのワクチンの接種による抗体の上昇に乏しい」というものでした。それでもインフルエンザ菌の同定法は未だに明確でないことに併せて、スペイン風邪に罹患した患者に多発した膿胸の起炎菌には肺炎球菌と共に溶血性レンサ球菌が多いということにも、菌の同定法に問題を残すことになりました。

Avery がオレイン酸血液寒天培地開発²⁾ (1918年) の論文を発表した後、インフルエンザ菌の発育には X、V 両因子が必要であると発表⁴⁾ (1921年)(註1) するまでの間に、同菌の培養に関わる二つの注目すべき論文がありました。一つはドイツの Olsen⁵⁾ が 1920 年に発表した論文で、インフルエンザ菌は hemoglobin あるいは metohemoglobin 含有培地上での発育は可能であるが、hemoglobin から抽出した hematicin あるいは hematicin 含有培地上では他の細菌の共存がなければ発育しないことを明確に示したこ

とで、hemoglobin はインフルエンザ菌が発育するに際して酸素を提供する触媒として働いているのではないかと推論したことです。

もう一つは英国の Fildes^{6,7)} が 1920 年に発表した論文で、ヒツジの血液含有培地上ではインフルエンザ菌は発育し難いが、同血液を消化酵素で処理した培地上では発育は良好になると記したことです。そして、それに加えて鉄を含んでいる hemoglobin の分解物がインフルエンザ菌に酸素を供給する触媒として働いているのではないかと推論したことです。

いずれにしても Avery & Thjötta⁴⁾ がインフルエンザ菌の発育に X、V の両因子が必要と記した論文は、上述した諸家の業績の上に成り立っていると言ふべきでしょう。しかし、Avery は当初インフルエンザ菌の発育には hemoglobin が必要とする説には必ずしも賛成ではなかったようで、他の菌が共存していれば hemoglobin がなくても発育可能で、その機能を高めるためにはムコイド型の集落を形成する菌のほうがビタミンが豊富であると考えたようです。何故ならば、X、V 両因子に関わる論文の第 1 篇は Thjötta の単独名で発表⁸⁾ されており、そこには hemoglobin を含まない培地でもムコイド型の菌が存在すればインフルエンザ菌の発育は可能と記されているからです。もう少し付け加えるならば、Thjötta はノルウェーでパラチフス罹患後の嚢胞性腎盂腎炎患者の尿からムコイド型のパラチフス菌が検出されたことを 1920 年に発表⁹⁾ した研究者で、そのことから Avery は Thjötta を共同研究者として選んだと考えられます。しかし、実験を繰り返した結果は「インフルエンザ菌はやはり血好性 (hemophilic) の細菌で、その成長に必要な因子は血液中に存在しており、一つは易熱性で赤血球の他に酵母や野菜の細

註1: X、V 両因子は一般には Avery によって発見されたとされていますが、原著は“Studies on bacterial nutrition”と題する5篇からなる論文で、インフルエンザの発育に X、V 両因子が必要とする記述は第2篇と第3篇(文献4)に記されています。しかし、その筆頭者名は Thjötta で、Thjötta 単独名の第1篇(文献9)で用いられたムコイド型の菌は Friedlandel's Pneumonia Bacillus : 現在の Klebsiella 属と Bacillus proteus : 現在の Proteus 属で、パラチフス菌ではありませんでした。

胞からも抽出できるビタミン様物質 (V-因子)、もう一つは耐熱性で、寸時に作用する性質を有する物質 (X-因子)」であるというものでした。

Avery らのこの論文が発表された翌年 (1922 年)、ドイツの Levinthal & Fernbach ら¹⁰⁾ は加熱処理した血液を含有する培地を作成し、その培地上ではインフルエンザ菌の集落は大きく、肉眼的な鑑別は容易であると発表しました。今日のチョコレート寒天培地の原点です。後に化膿性髄膜炎に関わる莢膜を有するインフルエンザ菌の鑑別に役立つことになるものでした。その詳細は次号で記しますが、ここではスペイン風邪流行当時のインフルエンザ病原説の検証として行われた動物感染実験やワクチン、さらには新たなインフルエンザ病原体の探索についての記述に戻ることにします。

インフルエンザ菌による肺感染モデルの構築が困難なことは、前号で Wollstein & Meltzer ら¹¹⁾ による犬の気管内に挿入したカテーテル経由で菌を注入した実験で記したことですが、その報告によると、同菌が肺胞内に到達したとしても、その炎症像は軽微で、インフルエンザにおいて示される肺病像の多様性とは程遠いというものでした (註 2)。スペイン風邪流行時にも患者由来のインフルエンザ菌を用いてのユニークな実験報告が二つあります。一つは Blake & Cecil ら¹²⁾ によるサルを用いての実験 (註 3) で、もう一つは Major¹³⁾ による家兎とネコの気道粘膜に障害を加えた際の実験です。両報告は共に、従来のインフルエンザ菌による動物感染実験が成功していないのは、菌の毒性を高めるために動物の体内を通過させていないところにあると記しているところが特徴です。

即ち、Blake & Cecil ら¹²⁾ は、スペイン風邪罹患患者に併発した膿胸由来のインフルエンザ菌を 11 代に亘ってマウスの腹腔内通過で継代し、マウスが菌接種後 6～8 時間後に斃死するまで virulence を高め、さらにそれらの菌を平板培地で培養した 4～14plate 分を集菌して 13 匹のサルの腹腔内に接種し、6 匹が接種当日か翌日に死亡することを確かめた菌を使用したということです。Major¹³⁾ もまたス

ペイン風邪罹患患者由来のインフルエンザ菌を家兎の静脈内に投与し、死亡した家兎の血液から前述したチョコレート培地を用いて分離して使用しております。

Blake & Cecil ら¹²⁾ の実験は 2 回に亘って実施されており、1 回目は上述した腹腔内に接種したサルの腹水を直接綿球に染み込ませるか、ピペットで吸引して 12 匹のサルの鼻腔あるいは口腔内に注入しております。結果は鼻炎から気管支肺炎に至る症状が見られていますが、いずれも軽度で死亡する例はなかったと記しています。しかし、実際は 9 匹は菌接種後 4～6 日目に屠殺解剖しており、気管支肺炎の像が認められたのは 3 匹という結果でした。

2 回目の実験では前述した Wollstein & Meltzer ら¹¹⁾ の実験と同様にカテーテル経由で 11 匹のサルの下部気管内に菌を注入し、10 匹のサルに気管支炎と共に気管支肺炎の像が認められたと記しております。結果は、肺門の周囲に斑点状の硬化が点在し、その断面には出血と代償性の肺気腫が認められ、その多様性はインフルエンザにおける肺の病像に類似しているというものでした。しかし、その程度は肺炎球菌や溶血性レンサ球菌のそれに比して遥かに軽度であるとも記しています (写真 1)。

Major¹³⁾ の実験もまた過酷なもので、これも 2 回に亘って実験は繰り返されています。すなわち、1 回目では 2 羽の家兎と 4 匹のネコの気管をエーテル麻酔下で切開し、そこから菌液を気管内に注入しております。気管を切開した理由は口腔内常在菌の混入を防ぐためと記しております。結果は全例において発症は見られなかったと記しておりますが、実際は 24 時間後に屠殺・解剖に付しております。病理所見としては肺門周辺に小斑点からなる気管支肺炎の像が認められましたが、インフルエンザ肺炎の多様性の像とは明らかに異なるというものでした。

2 回目の実験はスペイン風邪の剖検例に見られる気管支粘膜の破壊像こそがインフルエンザの本態と考え、塩素ガスを家兎やネコの飼育室内に送り込み、それらの家兎やネコの気管内と静脈内にインフルエンザ菌を投与しております。結果は、何れの投与方法

註 2: 本シリーズ“臨床微生物学の「礎」を築いた人々-6” (モダンメディア 57 巻第 12 号 343-348, 2011. を参照してください。

註 3: Blake & Cecil らの論文は 10 篇からなる大論文で、第 1 篇から第 7 篇までが肺炎球菌、第 8 篇は溶血性レンサ球菌、第 9 篇と第 10 篇がインフルエンザ菌の実験成績です。いずれも膨大なサルを用いての実験で、今日では到底許されない実験であることも確かです。Cecil は当時ワシントンの陸軍医学校に在職してスペイン風邪対策の研究を担っており、そのために膨大なサルの使用が許されたと思われます。

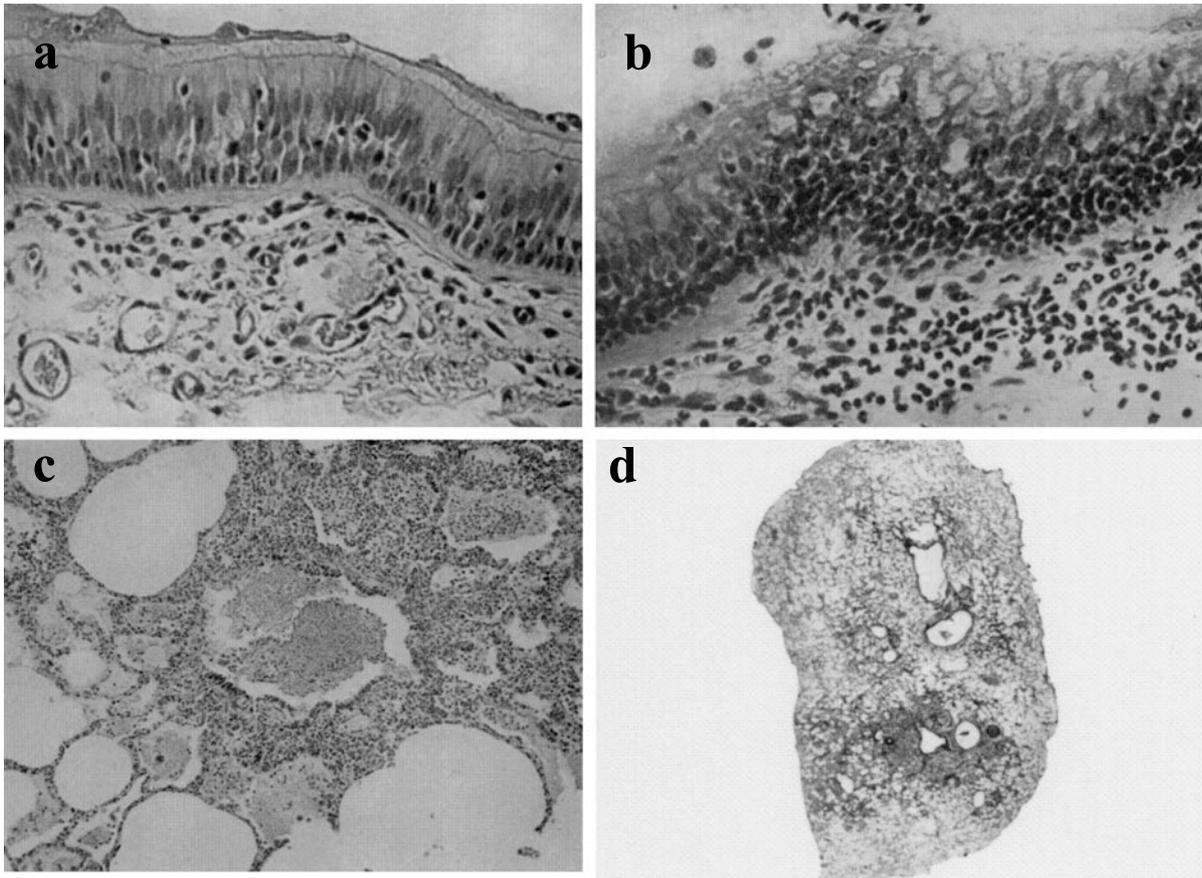


写真1

これらの写真は Blake & Cecil らがサルを用いて気管カテーテル経由でインフルエンザ菌を注入した際の論文（文献12）に掲載されている気管支や肺の病理学的所見の一部で、実際は14枚（コントロールとしてのヒトのインフルエンザ菌性肺炎とする2枚が含まれる）が掲載されている。すでに色褪せていて判断し難いところもあるが、インフルエンザ菌による肺感染実験において特徴的と思われる4枚の写真を掲載した。それぞれの写真に記されている説明文を紹介すると、a) は気管粘膜表面での粘液の沈着と粘膜下組織への白血球の浸潤像（×400）、b) は気管支炎の像、c) は右上葉に見られる細気管支炎の像で、気管支周囲への白血球浸潤と出血と浮腫が認められる、d) は右上葉の全体像で気管支周囲での肺炎の他に、細気管支炎と気管支の拡張や肺気腫の像が見られる、と記されている。著者らが記載しているように、肺炎球菌や当時の溶血性レンサ球菌による病像に比しては、はるかに軽い病理所見である。

でも肺の病変は顕著で、ヒトのインフルエンザ肺炎に類似するというものですが、肺からはインフルエンザ菌の他に肺炎球菌やレンサ球菌あるいはグラム陰性桿菌が検出されたとも記しております。塩素で気道粘膜を障害すれば当然の結果と考えられますが、スペイン風邪流行時には、このような過酷な実験が行われていたことを肝に銘ずべきでしょう。

スペイン風邪流行時の米国では、その激しい感染状況からワクチンの投与が急務と考え、急遽インフルエンザ菌を抗原とするワクチンが作成され、多く

の市民や兵士に接種されています。その際のワクチンは New York¹⁴⁾ や Boston¹⁵⁾ あるいは New Orleans¹⁶⁾ など各地域で分離されたインフルエンザ菌を加熱不活性化して独自に作成したもので、集団接種という報告¹⁷⁾（註4）もありますが、いずれも効を奏するには至りませんでした。

一方、第一次世界大戦の最中であつた欧州では各地に展開する兵士の間には発生する塹壕熱（trench fever）（註5）に加えて、スペイン風邪の大流行は戦力を著しく低下させるものでありました。そして、

註4：New Yorkで作成されたワクチンが軍隊やガス会社や鉄鋼会社で集団接種されたという記事は、New York Times. 1918 Oct 2, 23, 25に“Tells of vaccine to stop influenza”、“Big firms take up fight on influenza”、“Copeland sees grip on the wane here”というタイトルで掲載されています。復刻版からの引用です。

註5：塹壕熱は今日では“five day fever”（5日熱）として知られていますが、第一次世界大戦当時は欧州各地の塹壕の中で対峙している兵士に見られた流行病でした。この疾患の原因究明も当時の英国の医学研究者に課せられた任務でありました。シラミを媒体とするリケッチアに起因する疾患であることが第一次世界大戦の終了時にはほぼ解明されておりました。

それらの病原体を明らかにしてワクチンを製造することが急務でありました。英国ではその任務をフランスに駐屯する陸軍病院に背負わせておりました。そして、彼らが目を付けたのは1913年にNoguchiら^{18, 19)}によって発表された狂犬病やポリオの病原体を見出したとする論文でした。

お話は少し横道にそれますが、細菌より小さい病原体の存在はPastureが狂犬病の病原体を見出せないままにワクチンの生成に成功して以来(註6)、多くの研究者の認識するところとなっておりました。そして1892年にIvanovskij²⁰⁾によって狭い気孔を通り抜けた物質によってタバコモザイク病が引き起こされることが発表されて以来、ラテン語の“virus”(病原体)は細菌よりさらに小さい微小病原体を意味することになりました(註7)。ただ、当時は培養方法が見出せないまま、疾病由来の検査材料をChamberlandやBerkefeldなどの濾過器で濾過し、その濾液が元の疾病を惹起させるか否かが、病原体がvirusであることを証明する手段となっておりました(註8)。

ヒトの感冒では1914年にKruse²⁴⁾が患者の鼻汁をBerkefeld濾過器で濾過して健常者の鼻腔に滴下したのが始まりで、それは1917年にFoster²⁵⁾によって追試されていることを前号で記しましたが、Fosterが行った実験もまたスペイン風邪が流行する以前のものでした。しかし、その実験法はスペイン風邪流行時に繋がりました。即ち、Fosterは24時間以内に感冒の症状を呈した患者の鼻汁を生食水で希釈してBerkefeld濾過器で濾過し、その濾液を10人の健常者の鼻腔に滴下し、そのうちの7名に感冒の症状が見られたと報告しております。また、これ

らの発症者の鼻汁の濾液を腹水添加ブイヨンで培養し、5名の濾液から球状の小さな物体“minute coccoid bodies”を検出したとも記しております。この物体の検出もまたNoguchiら^{18, 19)}による狂犬病やポリオの病原体の発見と相通ずるものがありました。

Foster²⁵⁾の方法に従って、スペイン風邪の病原体がvirusであることを始めて記したのは、フランスのNicolle & Labaillyら²⁶⁾であると思われます。彼らは1918年9月にスペイン風邪罹患患者の気管分泌物の濾液を2名の健常者の皮下に注射し、スペイン風邪と同様な症状を惹起させたと報告しております(註9)。

そして、この追試は当時フランスのAbbevilleの病院に駐屯していた英国の軍医Gibson²⁸⁾によって早速に実施されました。彼はスペイン風邪罹患5日目の患者から得られた喀痰を培養してグラム陽性の双球レンサ球菌とグラム陰性の双球菌が存在していることを確かめ、その喀痰を生食水に懸濁・遠沈の後、その上清をshamberlandで濾過し、濾液中に菌が存在しないことを培養で確認の後に、その0.25ccをサル結膜下に注射、0.75ccを鼻腔に注入しました。被検サルは翌日より発症し、3病日を経て快方に向かったと記しておりますが、5病日で採血した血液を用いてインフルエンザ菌に対する凝集反応を実施し、陽性の反応は見られなかったとも報告しております。さらに同様な実験を繰り返し、発症3日目のサルを屠殺・剖検に付し、両側肺の下葉に出血を認め、それはスペイン風邪発症後、早期で死亡した患者の肺に類似すると記しております。

Gibson²⁹⁾はその翌年に、今度はNoguchi's method

註6: 本シリーズ“臨床微生物学の「礎」を築いた人々-1”(モダンメディア57巻第7号212-214, 2011.を参照してください)

註7: 本シリーズ“臨床微生物学の「礎」を築いた人々-13”(モダンメディア58巻第8号253-258, 2012.を参照してください)

註8: Chamberland濾過器は1884年にPasture研究所で作成され、Berkefeld濾過器は1891年にドイツで作成されたとする記述はありますが、正確な文献は見当たりません。その後何回かの改良が加えられていますが、当時は濾過器を通過した濾液によって当初の疾病の再現実験に成功すれば、その疾病はvirusに起因すると考えられていたようで、事例としては牛口蹄疫(文献21)、牛伝染性胸肋膜炎(現在の牛肺疫マイコプラズマ:文献22)、ウサギ粘液腫(文献23)などがあります。

註9: Nicolle & Labaillyらの実験と同様な報告は、本邦のYamanouchiらの報告(文献27)を含めて多数あります。また、その論旨にも肯定的、否定的、あるいは曖昧なものもありますが、ここではそれらの文献の紹介は略しました。

註10: Noguchi's methodあるいはFlexner & Noguchi's methodと言われる方法はNoguchiがTreponema pallidumの培養に成功したとする原著に記載されている培地(文献30)のことで、「高さ20cmの試験管に血清水(serum water:羊、馬、家兎などの血清に蒸留水を1:3の割合で加えたもの)16ccを注入して3日間100℃で15分間の間歇滅菌を施し、それに無菌的に取り出した家兎の腎臓の切片を投入して、無菌のパラフィンを重ねることと水素ガスでの置換を併用して嫌気状態とし、さらに37℃で2日間保温して無菌であることを確かめた後に使用した」とあります。血清水の使用は種々のmediumを検討した結果と記していますが、その後のTreponemaの検出には腹水を使用している論文もあり、Noguchiの狂犬病に関わる原著では培地の組成は記していませんが、ポリオの原著では本来はヒトの腹水が最適であるが、ここでは羊の血清水を使用したと記しています。また、腎の切片の投入も不可欠と記しています。実際は諸家によって様々な変法が用いられていたと考えられます。いずれにしても後にFildesは腎や腹水を無菌的に採取するのは困難と記していますが(文献34)、それが本当のところでしょう。

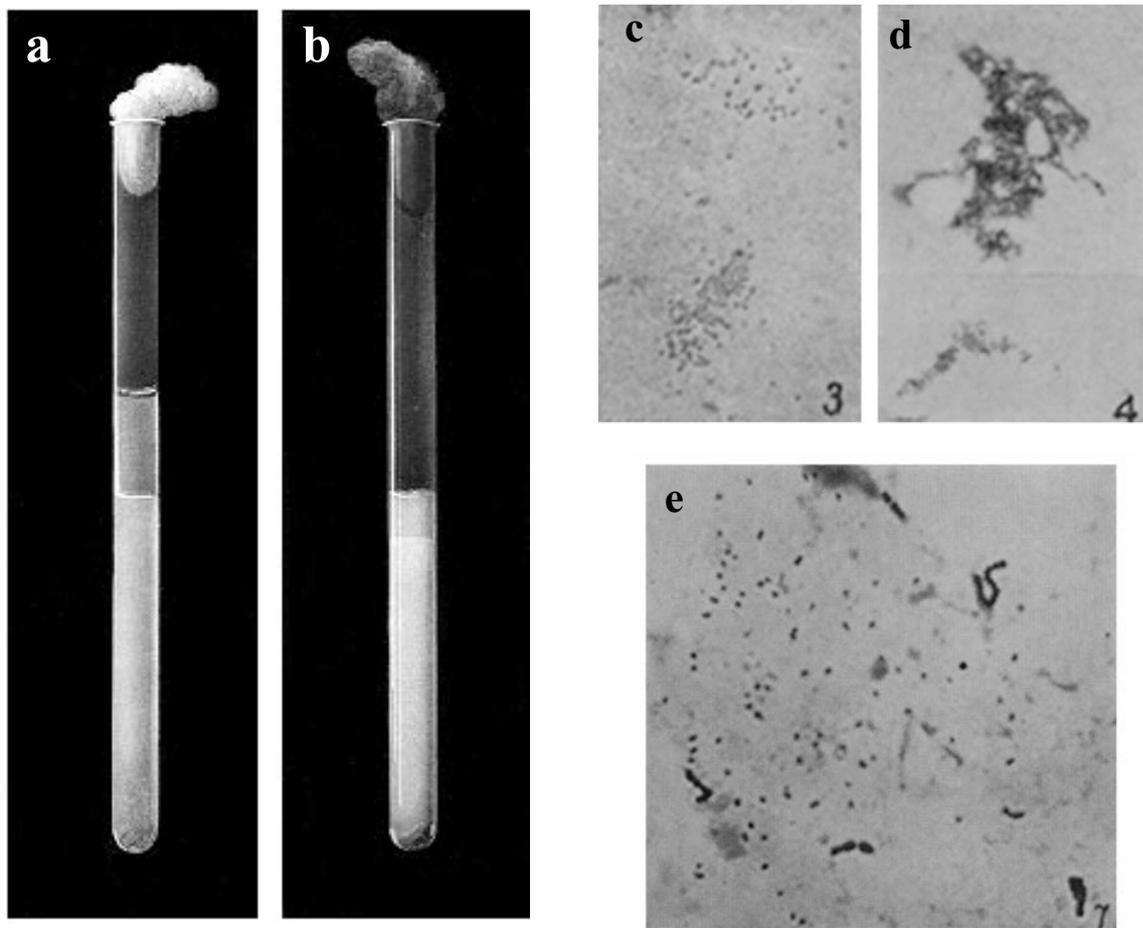


写真2

これらの写真は Flexner & Noguchi がポリオの病原体を見出したとする原著（文献 19）に掲載されている写真の一部である。a) は羊血清水中に家兎の腎の切片と poliomyelitis で死亡した患者の脳あるいは脊髄の小片を沈めて、約 5 日間嫌気培養した際の写真である。チューブの底の組織片の周辺に粒状の沈殿物が弱い乳光色として観察されると記されている。b) は家兎の組織に腹水を配合したものを 2% 程度の寒天で固形化した培地で、a) で培養した粒状の物質を 5 日程度の培養期間中に固形培地に転入して嫌気培養すると、その粒子は発育してくると記されている。c) はその粒子状物体（globoid bodies と称している）を Noguchi 特有の“Stain Method of Film Impressions”（現在のホールスライドガラス）で検鏡した際の拡大像（×1000）で、染色性に乏しく、着色するのはゲンチアナバイオレットのみとも記されている。鮮明な像ではない。d) は globoid bodies の凝集塊を c) と同様にして観察した像（×1000）と記されている。e) は globoid bodies を寒天上で観察した像（×1000）で、Streptococcus pyogenes の大きさと比較した像と記してある。ここでは globoid bodies の大きさを強調したかったようであるが、この論文には Noguchi's method による培養法では汚染が起こりやすいとも記載されており、この globoid bodies のみが観察された培地を選び出すには、かなりの培地を必要としたとも記されている。（註 10 も参照されたい）

を用いてスペイン風邪罹患患者の喀痰よりインフルエンザ病原体の培養を試みて、その成績を発表しております（註 10）。そして Noguchi らの発表^{18,19)} による狂犬病やポリオの病原体と同様な円形の微小物体を見出しております（写真 2）。さらにその微小物体をマウスの皮下と家兎の静脈内に接種し、マウスでは肺に出血が見られ、家兎では見られませんでした。それぞれの腎を摘出して Noguchi's method

で再培養したところ、家兎の腎から同様な微小物体が再び得られたと報告しています。Gibson はこの微小物体がスペイン風邪の真の病原体であるか否かを検証することが次の課題と記していますが、その報告はここで途絶えております。Gibson は自らもスペイン風邪に罹患し亡くなっておりました。

Gibson の研究は彼の上司である Bradford や同僚の Bashford や Wilson らに引き継がれました。彼ら

もまた Noguchi's method を活用して実験を進めていきましたが、その結果は、インフルエンザのみならず、壘壕熱や多発性神経炎や腎炎もウイルスに起因する^{31, 32)} というものでした。

しかし、これら Bradford らの論文に対する反論は直ちに英国本国の予防医学研究所の Arkwright³³⁾ より発せられました。Arkwright は壘壕熱はシラミを媒体とするリケッチアによって惹起されることを見出した研究者の 1 人でした。彼は Bradford らの共同研究者の 1 人である Wilson 立会いの下に、保存されていた Bashford らが見出した微小物体について再検討を実施しました。結論は見出された微小物体はブドウ球菌かジフテロイド桿菌と思われるというものでした。そして、このような誤りは設備の不十分な野戦病院での研究によるもので、平和な時代では決して起こり得ないと結んでおりますが、Noguchi's method の欠陥には触れておりませんでした。

しかし、前号でも記したように Noguchi's method がウイルスの検出に不適當な培地であることは、すでに 1914 年に Kraus³⁴⁾ によって指摘されていることでもあり、1920 年には前述した消化酵素で処理した血液培地を考案した Fildes もまたスペイン風邪に関わる総説³⁵⁾ の中で Noguchi's method で無菌を保つことには疑義があると記しています。問題は Noguchi's method は米国ではどのように扱われたかということですが、それは次号で記すことにします。

文 献

- 1) Davis DJ. Hemophilus bacilli, their morphology and relation to respiratory pigment. J Infect Dis. **4** : 73-86, 1907.
- 2) Avery OT. A selective medium for B. influenzae oleate-hemoglobin agar. JAMA. **71** : 2050-2051.
- 3) Woollstein M. Pfeiffer's bacillus and influenza. A serological study. J Exp Med. **30** : 555-568, 1919.
- 4) Thjötta T, Avery OT. Studies on bacterial nutrition, II. Growth accessory substances in the cultivation of Haemophilus Bacilli. J Exp Med. **34** : 97-114. III, 1921. Plant tissue, as a source of growth accessory substances, in the cultivation of *Bacillus influenzae*. Ibid. **34** : 455-466, 1921.
- 5) Olsen O. Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabacillus wahend der Grippepandemie 1918-1920. Centralbl Bacteriol, Abt 1, Orig. **85** : 12-27, 1921.
- 6) Fildes P. A new medium for the growth of *H. influenzae*. Brit J Exp Pathol. **1** : 129-130, 1920.
- 7) Fildes P. The nature of the effect of blood-pigment upon the growth of *Bacillus influenzae*. Brit J Exp Pathol. **2** : 16-25, 1921.
- 8) Thjötta T. Studies on bacterial nutrition, I. Growth of bacillus influenzae in hemoglobin-free media. J Exp Med. **33** : 763-771, 1921.
- 9) Thjötta T, Eide OK. A mutating, mucoid *paratyphoidbacillus* isolated from the urine of a carrier. J Bacteriol. **5** : 501-510, 1920.
- 10) Levinthal W, Fernbach H. Morphologische Studien an Influenzabacillen und das ätiologische Grippeproblem. Zs. Hyg. Infectiönsk. **96** : 456-519, 1922.
- 11) Wollstein M, Meltzer SJ. Experimental bronchpneumonia by intrabronchial insufflation. J Exp Med. **16** : 120-128, 1912.
- 12) Blake FG, Cecil RL. Studies on experimental pneumonia. IX. Production in monkeys of an acute respiratory disease resembling influenza by inoculation with *Bacillus influenzae*. J Exp Med. **32** : 691-717, 1920. X. Pathology of experimental influenza and bacillus influenzae pneumonia in monkeys. Ibid. **32** : 719-744, 1920.
- 13) Major RH. The experimental production of pneumonia with the influenza bacillus of Pfeiffer. J Med Res. **41** : 373-386, 1920.
- 14) Park WH. Bacteriology and possibility of antiInfluenza vaccine as a prophylactic. NY Med J. **108** : 621, 1918.
- 15) Leacy T. The use of influenza vaccine in the present epidemic. Am J Public Health. **8** : 754-755, 1918.
- 16) Duval CW, Harris WH. The antigenic property of the Pfeiffer bacillus as related to its value in the prophylaxis of epidemic influenza. I Immunology. **4** : 317-330, 1919.
- 17) Keegan JJ. The prevailing pandemic of influenza. JAMA. **73** : 318-321, 1919.
- 18) Noguchi H. Contribution to cultivation of the parasite of rabies. J Exp Med. **18** : 314-317, 1913.
- 19) Flexner S, Noguchi H. Experiments on the cultivation of the microorganism causing epidemic polimyelitis. J Exp Med. **18** : 461-485, 1913.
- 20) Ivanovskij DI. Über die Mosaikkrankheit der tabakpflanze. Zs Pflanzenkrankh, Stuttgart. **13** : 1-41, 1903.
- 21) Loeffler F, Frosch P. Bericht der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche bei dem institut für Infektionskrankheiten in Berlin. Centralbl Bacteriol. 2 Abth. Allgemeine, landw-technol etc Bakteriö. **23** : 371-391, 1898.
- 22) Nocard E, Roux P. Le microbe de la peripneumonie. Ann l'Inst Pasture. **12** : 240-262, 1889.
- 23) Sanarlli G. Das myxomatogene Virus. Centralbl Bakteri-

- ol. 1. Abth. .medizinische-hygienische Bacteriol. **23** : 865-873, 1898.
- 24) Kruse W. Die Erreger von Husten und Schnupfen. Munch med Wochenschr. **61** : 1547, 1914.
- 25) Foster GB. The etiology of common colds : the probable role of a filtrable virus as a causative factor : with experiments on the cultivation of a minute microorganism from the nasal secretion filtrates. J Infect Dis. **21** : 451-474, 1917.
- 26) Nicolle C, Lebailly C. Quelques notions experimentales sur le virus de grippe. Compt rend l'Acad Sc. **167** : 607-610, 1918.
- 27) Yamanouchi T, Sakakami K, Iwashima S. The infecting agent in influenza. An experimental research. Lancet. **1** : 971, 1919.
- 28) Gibson HG, Bowman FB, Connor JI. A filtrable virus as the cause of the early stage of the present epidemic if influenza. BMJ. **4** : 645-646, 1918.
- 29) Gibson HG, Bowman FB, Connor JI. The etiology of influenza. A filtrable virus as the cause, with some notes on the culture of the virus by Noguchi's method. BMJ. **1** : 331-335, 1919.
- 30) Noguchi H. A method for the pure cultivation of pathogenic *Treponema pallidum* (*Spirochaeta pallida*). J Exp Med. **14** : 99-108, 1911.
- 31) Bradford JR, Bashford EF, Wilson JA. preliminary report on the presence of a "filter passing" virus in certain diseases, with especial reference to trench fever, influenza, and nephritis. BMJ. **1** : 129-128, 1919.
- 32) Bradford JR. Communication on a "filter-passing" virus in certain diseases, with especial reference to polyneuritis, trench fever, influenza, and nephritis. EMJ. **1** : 599-600, 1919.
- 33) Arkwright JA. A criticism of certain recent claims to have discovered and cultivated the filter-passing virus of trench fever and of influenza. BMJ. **2** : 233-236, 1919.
- 34) Kraus R, Barbara B. Zur Frage der Zuchtung des Lyssavirus nach H. Noguchi. Dtsch med Wochenschr. **40** : 1507-1508, 1914.
- 35) Fildes P, McIntosh J. The Aetiology of Influenza. Brit J Exp Path. **2** : 159-174, 1920.