病原性好塩細菌に関する研究

第1報 生物学的性状並びに塩類要求

山地幸雄* 小嶋雅夫* 志波 剛* 石関忠一*
八 田 貞 義**

国立衛生試験所衛生細菌部*, 日本医科大学衛生学教室**

[受付: 10月16日・1957年]

1 緒 言

従来知られている人体病原性細菌の多くは培地の塩類含有量が微量であつても、よく発育するのが普通であり、塩類濃度が増加すると共に発育を阻止される傾向がある。これに対し *halophile* あるいは、*marine bacteria* といわれる菌群は、培地の食塩濃度が2~3%あるいはそれ以上のとき旺盛な発育を示し、食塩濃度が低いと却て発育がわるくなる¹⁾²⁾。

本来このような *marine bacteria* あるいは *halophile* には、人体病原性のもは知られていなかったが、1955年滝川ら³⁻⁵⁾は食中毒患者より、食塩至適濃度2~3%の細菌を高率に検出してその病原性を示唆し、更に1951年藤野ら⁶⁻⁸⁾のシラス食中毒患者から検出した菌も、これと生物学的性状が殆ど一致するとした。福見⁹⁾は滝川、藤野両氏らの検出した菌はO, H両抗原とも共通抗原をもつと報告した。滝川ら¹⁰⁾は、その後下痢患者便より検出した好塩菌をも加えて追究した結果、食中毒の原因となるこれら一群の好塩細菌は、いずれも生物学的性状が殆ど全く一致して、抗原的には6型に分けられるといつた。

好塩菌の分類学上の地位を定めるのはその生物学的性状を検する際に、培地に食塩を加えなければならないこと及び、好塩細菌は変異を生じ易い¹¹⁾などの理由のため、困難な問題であるが、藤野は同氏の検出した菌を *Pasteurella parahaemolytica* と名付け、滝川は第1回の菌検出の報告の際、同菌が *Pseudomonas* でないかと疑っている。

好塩菌が高い塩類濃度を要求する理由については、種々の観点より研究がなされているが、その一つの理由として浸透圧が挙げられ柳沢ら¹²⁾も、好塩菌は留水巾では *plasmolysis* のため急速に膨隆、崩壊すると認めた。

好塩菌の培養に際し NaCl が他の塩により置換され

得るかどうかについて Rubintschik¹³⁾, Golikowa¹³⁾, Saslawsky ら¹⁴⁾, 及び Flannery ら¹⁵⁾ は食塩は他の塩により代用されるとし、Schoop¹⁵⁾によると、*facultative halophiles* の場合は食塩の代りに他の塩を用い得るが、*obligate halophiles* は特異的に食塩を要するとされている。

われわれは上記の病原性好塩菌である滝川分離のN4株及び、藤野のEB 102株について生物学的性状及び、無機塩類要求を検討したのでその大要を報告する。

2 実験方法

1) 使用菌株

使用した菌株は滝川ら分離のN4株及び藤野ら分離のEB 102株で、いずれも北里研究所より分与されたものである。

2) 形態及び生物学的性状

形態、運動性は通常の方法により検した。生物学的性状は、23種の糖及び高級アルコール分解能、インドール反応、M.R., V.P., シモンズ サイトレート培地、あるいは牛乳培地における態度、クリグラー及びSIM培地でのH₂S産生、ゼラチン液化、尿素分解、硝酸塩還元カタラーゼについて検したがこれらは、食塩を3%に加えたmediumにおける反応をも検した。

3) 生存試験

3%食塩加ペプトン水培養の洗浄菌をもとの量の留水に浮遊し、その1滴を種々の濃度の食塩水、硫酸マグネシウム溶液及び海水5ccに加え室温における生存日数を検

YAMAZI Yukio*, KOZIMA Tsuneo*, SHIBA Tsuyoshi*, ISHIZEKI Tiuchi* and HATTA Sadayoshi**: Studies on the Pathogenic Halophiles I. Biological Characters and Salt Desideration. Department of Hygiene and Bacteriology, National Hygienic Laboratory, Tokyo*. Department of Hygiene, Nihon Medical School, Tokyo**. — Jap. J. of Bact., 13(1), 63-69, 1957.

した。後培養は、3%食塩加ペプトン水により行つた。

4) 塩類要求

NaCl, NaNO₃, NaBr, NaI, Na₂SO₄, KCl, MgCl₂及び MgSO₄を1%食塩溶液に加えて、夫々の塩の、被検菌に対する発育許容限界及び発育至適濃度を検した。移植菌は3%食塩加ペプトン水培養の2回遠沈洗滌菌を、もとの量の生理食塩水に浮遊したものを用いた。5ccづつ分注滅菌した被検培地に、この移植材料1滴を加え、37°C24時間培養した後コタキAKA光電度比色計により、470mμ濾光板を用いて透過率Tを測定した。

予備実験によるとN4株及びEB102株は夫々pH5.6~7.8, 及び6.4~8.2以上で最大発育を呈し、また滝川はpH7.6~7.8が至適発育pHであるとしているので、培地のpHは7.6~7.8とした。

3 実験成績

1) 形態及び生物学的性状

被検菌はいずれも両端鈍円のグラム陰性杆菌で1本の鞭毛が認められ、いくらか菌体の彎曲したものもある。菌体両端がグラム染色により青紫色に染まるものがあり、また菌体内部が抜けて染まるものがあった。

3%食塩加肉水ペプトン寒天上の集落は僅かに白濁した半透明で表面は湿润平滑である。EB102株は、いくらか乾燥して中心が臍状に突隆した、変異と考えられる集落を生ずることがあった。

生物学的性状は第1表に示すとおりである。食塩を3%に加えた培地における反応と、食塩含量の少ない、通常の培地における反応との相異は両株ともインドール反応、シモンズ・サイトレート培地、リトマス牛乳、クリグラ培地において、EB102株では硝酸塩還元及びガラクトース、スターチ、グリコーゲンにおいてそしてN4株においてはゼラチンで認められた。これらの相違はN4株のゼラチンの場合を除き、いずれも3%食塩加培地における反応の方が強いためであつた。

分離者滝川及び藤野らの報告ではいずれの株も硫化水素陰性であるが、われわれの成績では、両株ともSIM培地で硫化水素陽性と認められ分離者はゼラチンはいずれも液化するとしたが、われわれの実験ではEB102株はゼラチンを液化しなかつた。またN4株は牛乳を凝固し、EB102株はサリシンを分解するとされているが、われわれの実験ではいずれも陰性であつた。

上記の性状よりいつて両株は *Pseudomonas* あるいは *Vibrio* と考えてよいであろう。

2) 生存試験

食塩水、硫酸マグネシウム溶液及び海水の種々の濃度

Table 1. Biological Character

	Media				Original	
	3% NaCl		Normal		N4	EB102
	N4	EB102	N4	EB102		
Arabinose	—	+	—	+	—	+
Xylose	—	—	—	—	—	—
Rhamnose	—	—	—	—	—	—
Glucose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Adonit	—	—	—	—	—	—
Fructose	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+
Sucrose	—	—	—	—	—	—
Lactose	—	—	—	—	—	—
Trehalose	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+
Raffinose	—	—	—	—	—	—
Inulin	—	—	—	—	—	—
Dextrin	+	+	+	+	+	+
Starch	+	+	+	+	+	+
Glycogen	+	+	+	+	+	+
Salicin	—	—	—	—	—	+
Sorbit	—	—	—	—	—	—
Mannit	+	+	+	+	+	+
Dulcitol	—	—	—	—	—	—
Inositol	—	—	—	—	—	—
Glycerin	+	+	—	—	+	+
Gas	—	—	—	—	—	—
Indol	+	+	—	—	(+)	+
M.R.	+	+	—	—	—	—
V.P.	—	—	—	—	—	—
Citrate (Simmons)	+	+	—	—	+	—
Kligler	—/A	—/A	—/—	—/—	—	—
Litmus Milk	—, D	—, D	—	—	+	—, L—
H ₂ S (SIM)	+	+	+	+	—	—
Motility	+	+	+	+	—	+
Gelatin	—	—	+	—	+	+
Urea	—	—	—	—	—	—
KNO ₃	+	+	(+)	—	+	—
Catalase	+	+	—	—	+	—

—/A: Lactose—/Glucose+, H₂S—

D: Discoloration, L: Liquefaction

における生存は第2, 3表のとおりである。

0~36%の食塩水に被検菌を加えて24時間後に後培養

Table 2. Survival in NaCl and MgSO₄ Solutions.

NaCl			MgSO ₄						
Strain		N 4	EB 102	Strain		N 4		EB 102	
%	Days			%	Days				
		1	1			2	5	2	5
0		—	—	0		—	—	—	—
1		—	—	0.5		+	—	—	—
2		—	—	1		+	—	—	—
4.5		—	—	2.2		+	—	+	—
9		—	—	4.5		+	—	+	—
18		—	—	8.8		+	—	+	—
36		—	—	17.6		—	—	—	—

Figure 1. Effect of NaCl and MgSO₄ Concentration on the Growth of E. coli

に発育し、0.4モル濃度以上では発育は弱く、1.0~1.4モル濃度では発育しなかつた。MgSO₄ 加培地ではO15株はNaClの場合より発育抑制の度は弱かつたが、K12

Table 3. Survival in Marine Water

% Strain	N 4													E B 102												
	Days																									
	2	4	8	12	16	20	24	30	40	54	60	67		2	4	8	12	16	20	24	30	40	54	60	67	
100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
90	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

によりその生死をみたところ、いずれも死滅していた。

0~17.6%のMgSO₄溶液ではN4株は1~8.8%, EB 102株は4.5~8.8%溶液中に、2日後に生存したが、5日後の後培養には菌は発育しなかつた。

10%以下の稀釈海水中にはいずれの株も1日以内に死滅し、20%海水ではN4株は54日後、EB 102株は30日後に後培養に菌が生えなかつたが、30%以上では67日後に両株とも生存した。

3) 塩類要求

対照としてE. coli K12及びO15株を0~1.6モル濃度に、NaClを加えたペプトン水に培養したところ、第1図に示すようにいずれの株もNaClを加えない培地

株はNaClの場合より強く抑制され、いずれの株も発育限界はNaClの場合と同様であつた。

N4, EB 102の両株をNaCl加ペプトン水に培養した際の成績は第2図のとおりである。すなわちN4株は0.2~1.2, EB 102株は0.2~1.0モル濃度でよく発育し、いずれもNaClを含まないペプトン溶液及び、1.6~1.8モル濃度以上では発育しなかつた。この実験を炭酸ガス、あるいは水素置換による嫌気条件で行なつたところ、いずれの株も発育は弱く発育許容範囲も好気性培養に比べて、いくらか狭いと認められたが、NaCl至適濃度の山は低い方に移行した。

NaClを他の塩類により置換した培地に被検菌を移植

Figure 2. Effect of NaCl Concentration on the Growth of Strain N4 and EB102

Figure 3. Effect of Salts Concentration on the Growth of Strain N4

Figure 4. Effect of Salts Concentration on the Growth of Strain EB102

培養した成績は第3, 4図のとおりである。すなわちN4株はCl置換ではNaIを加えた培地に発育せず, NaNO₃では0.4モル濃度でかなりの発育を呈し, NaBr及びNa₂SO₄では, 0.2~0.4モル濃度でNaCl至適濃度におけると同様の発育を示した。Na置換ではKCl, MgCl₂ともに0.2~0.6モル濃度でNaClと同様の発育がみられた。従てこれらの置換塩類はNaClより至適濃度が低く, 且つその幅が狭い。MgSO₄は上記の塩類と比べかなりNaClに近い効果を示した。MgCl₂とNa₂SO₄とを半量ずつ加えた場合の成績は, 両者の濃度の和について図に記入した。すなわちMgCl₂, Na₂SO₄, NaClについて考えると菌の発育範囲は夫々の単独添加の場合と同様で, MgSO₄では単独添加の場合より低い。これらの事実は, 被検菌に対する塩類の効果が物理学的なものに限らない, と示すものであろう。

EB102株はCl置換ではNaI, NaNO₃, Na₂SO₄を加えた培地に発育せず, NaBr 0.4モル濃度に弱い発育を示した。Na置換ではKCl 0.2~0.8モル濃度に弱い発育がみられ, MgCl₂では0.2モル濃度が至適濃度で, いずれもNaClより至適濃度は低く且つ狭い。MgSO₄ではN4株の場合と同様, かなりNaClに近い効果がみられた。MgCl₂, Na₂SO₄半量ずつの混合添加ではNaCl

について考えると, 単独添加の場合より発育至適濃度は低い方にずれており, MgCl_2 では単独添加の場合と大差がない。そして MgSO_4 では, 発育促進の範囲が NaCl により拡大されたと考えられ, Na_2SO_4 の発育阻止は全く拮抗されたと考えられる。

これらの実験より結論されることは Na の存在において, 実験に用いた際イオンのうち Cl^- が最も広い範囲で菌の発育を許し, Br , SO_4 , NO_3 がこれに次ぎ, I はいずれの株にも阻止的に作用し, Cl の存在において Na が最も有利に作用して, Mg , K がこれに次ぎ, SO_4 の存在においては, Mg は Na よりも有利に働くことである。 MgCl_2 , Na_2SO_4 の半量ずつを加えた培地において MgSO_4 について考えられる発育範囲が, MgSO_4 単独添加の場合のそれより縮小していたのは, NaCl の濃度が殆ど発育許容限界に達していたためであろう。

Figure 5. Effect of Salt Concentration with 0.05M NaCl on the Growth of Strain N4

上述の塩類加ベプトン溶液に0.05モル濃度の NaCl を添加すると, いずれの株も KCl , MgCl_2 , MgSO_4 の場合を除き発育範囲が拡大した。これは Na より Cl が菌の発育に必要であり, Mg の存在においては SO_4 が Cl

Figure 6. Effect of Salt Concentration with 0.05M NaCl on the Growth of Strain EB102

に劣らないと示唆する。そしてN4株ではIの毒性が, EB112株では SO_4 , NO_3 , Br の毒性が Cl により中和されたとの考えかたも可能であろうが, NaCl 添加量が微量であつたことより考えて, Cl の特異な発育素の意義も肯定されるであろう。

4. 総 括

滝川ら及び藤野ら分離のN4及びEB102株の形態及び生物学的性状を検したところ, 両者は, アラビノース分解を除いては殆ど一致し, 両株とも *Pseudomonas* あるいは *Vibrio*¹⁹⁾ と考えるのが妥当であるとされた。生物学的性状は3%食塩加培地において, 通常の培地におけるより強い反応がみられた。

両株の生存試験では NaCl より MgSO_4 に強い保護作用が認められたが, 生存が認められたのは2日であり海水では30%以上であれば67日後にも生存がみられた。*ZoBell*²⁰⁾ は等張塩溶液あるいは人工海水は, いずれも *marine bacteria* の新鮮分離株の培養のためには, 自然海水に劣るとし, MacLeodら¹⁸⁾ は海水の *marine bac-*

terial に対する有利な作用は、無機イオンのためであるといった。われわれの実験成績はこの主張と同様海水の保護作用を証明しているが、安川¹⁹⁾は、稍高温な室温において滅菌海水中で、コレラ菌が2~4ヶ月生存したと認めており、この点は他の nonhalophile についても検討されなければならないが、コレラ菌と病原性好塩細菌との類似は、注目の余地があるように思う。

食塩加ペプトン水培養において N 4, E B 102 株は、E. coli が発育を抑制あるいは阻止される 0.4~1.2 モル濃度で最大発育を示した。

高濃度塩類の作用の一つとして酸素の溶解度を減少させる効果が挙げられる。われわれは、炭酸ガスあるいは水素置換による嫌気性培養を行なったところ菌の発育は全般的に抑制されたが、NaCl 至適濃度の山は低い方にずれた。この実験は殆ど完全置換の状態となされたので 30~50% などの部分置換により嫌気培養がなされたならば、更に明かな結果が得られたかも知れない。培地の oxygen tension が、halophile に重要な意義を有するかどうかについては、異なつたいくつかの意見があるが、Stuart ら²⁰⁾は著者らの用いた halophile が、3 モル濃度の NaCl において 40~50% 窒素、炭酸ガス置換の際最大の発育を示し、5 モル濃度 NaCl においては、このガス置換の発育促進はみられなかつたと報告した。

NaCl を NaNO₃, NaBr, NaI, Na₂SO₄, KCl, MgCl₂, MgSO₄ などの他の塩類により置換した培養において、N 4 株は (NaCl) > (MgSO₄) > (KCl) > (MgCl₂) > (NaBr) > (Na₂SO₄) > (NaNO₃) の順に広い濃度範囲に発育し、これら各々の塩類の発育至適濃度では、殆ど同程度の発育を示したが NaI 添加培地には生えなかつた。MgCl₂ 及び Na₂SO₄ を半量ずつ加えた場合には、NaCl 及び MgSO₄ の単独添加の場合と、大差のない濃度において発育が認められた。

E B 102 株は (NaCl) > (MgSO₄) > (KCl) > (MgCl₂) > (NaBr) の順の広さの濃度範囲に発育したが、KCl 及び NaBr では発育が弱く、Na₂SO₄, NaNO₃, NaI 添加培地には生えなかつた。MgCl₂ 及び Na₂SO₄ の半量ずつを加えた培地には、至適濃度はいくらか低い方にずれていたが、NaCl と同様の濃度範囲に発育した。

Eisenberg²¹⁾ 及び Halm ら²²⁾は Na の存在において nonhalophile に対する陰イオンの毒性は、Cl < SO₄ < Br < PO₄ < NO₃ < I < F の順であると述べたが、われわれの実験に用いた菌株も SO₄ と Br の順序が異なる他は同様であつた。

Winslow ら²³⁾は塩類の拮抗作用は陽イオンにより、

他の陽イオンが拮抗されるためであるとした。NaCl 0.05 モル濃度添加のわれわれの実験では I, SO₄, NO₃, Br の陰イオンの毒性が Cl により拮抗されたと解釈されるが、NaCl 添加量が微量であるから、この現象の考え方は、Cl の特異的発育促進作用のためとした方がよいかも知れない。またわれわれの成績は Flannery ら^{2,16)}の Cl より Na に意義があるとの、Vibrio costiculus での所見と一見逆であるが、われわれの実験では、酵素毒となるような陽イオンが用いられなかつたことを考慮に入れなければならない。

Lamanna ら²⁴⁾は著書“Basic Bacteriology”において、「好塩菌の理論を完成するためにはその発育が高濃度塩類に依存すること、他の細菌には有害な濃度の塩類濃度に耐えることの、二つの現象を説明しなければならない。塩類と糖類との効率を比較するには、塩類の分子量が小さいこと、及び塩類がイオン化することを考慮しなければならない。この両因子はともに浸透圧を増大する。溶質の濃度が高いとこの浸透圧の影響の他に、特異な化学的な毒作用を示す場合もなくはない。この知見から、浸透圧の効果と化学的效果とを分離するような規準を用いたらよいかということが問題になる。一般に異種の物質が等しい浸透圧を示す濃度で同一効果を生ずるときは、その効果は、浸透圧の影響によるものと考えられている。糖類の場合にはいろいろの種属の発育に対する、限界浸透圧のデータを得ることは難しいことではないが、塩類の場合には発育に適する浸透圧濃度の限界は、いろいろの塩類でかなり大幅に動くので、糖類の場合のようにはいかない。」と述べている。

われわれは糖類による実験を行なわなかつたので、浸透圧についての充分な解釈はできないが、MgCl₂, Na₂SO₄ 半量ずつの混合添加及び、0.05 モル濃度 NaCl 添加培地での成績からいつて、浸透圧の意義は否定され得ない。しかし、塩類あるいはイオンの毒性ならびに発育素的意義も明らかである。Richter²⁵⁾は NaCl が、halophilic bacteria を支持する作用には二つあり、一つは栄養と関係があり他は浸透圧の調節であるとし、後者の作用は多数の他の塩類により得られるという。われわれの実験ではこの Richter の主張と、oxygen tension あるいはガス溶解度の意義とが、証明されたと考える。

無機塩類の活性の示標としてイオン強度が考えられるが、われわれの得た成績とイオン強度との間には、一定の関係はみられなかつた。この点も菌の特異的電解質要求を裏書きするものであろう。

本研究は厚生科学研究費の補助によりなされた。本論文の要旨は昭和32年第30回日本細菌学会総会において発表された。御援助を与えられた北里研究所滝田, 安斎両先生, 東京水産大学関根教授, 並びに国立衛生試験所岩原博士に深謝する。

主要文献

- 1) ZoBell, C. E.: *Marine Microbiology. A Monograph of Hydrobacteriology*. 1946. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass, U. S. A.
- 2) Flannery, W. L.: *Bact. Rev.*, 20: 49—66, 1956.
- 3) 滝川, 藤沢: *食品衛生研究* (3) 15—19, 1955.
- 4) 滝川: *衛生検査*, 4: 209—213, 1955.
- 5) 野坂, 加藤, 滝川, 藤沢, 河野, 内田, 山崎: *日本医事新報*, 1666: 23—25, 1956.
- 6) 藤野: *最新医学*, 6: 268—271, 1951.
- 7) 藤野: *日本細菌学雑誌*, 7: (特別号) 1952.
- 8) Fujino, T., Okuno, Y., Nakada, D., Aoyama, A., Fukai, K., Mukai, T. and Ueho, T.: *Med. J. Osaka Univ.*, 4: 299—304, 1953.
- 9) 福見: 第11回日本公衆衛生学会演説, 名古屋, 1956.
- 10) 滝川, 中橋: 第31回日本伝染病学会演説, 東京, 1957.
- 11) 柳沢, 竹内: *食品衛生研究* (9) 11—18, 1957.
- 12) Rubintschik, L.: *Zentral. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. II*. 66: 161—180, 1925, *Abt. II*. 77: 1—18, 1929.
- 13) Golikowa, S. M.: *Zentral. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. II*. 80: 35—41, 1930.
- 14) Saslewsky, A. und Halzstein, N.: *Zentral. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. II*. 80: 165—169, 1930.
- 15) Schoop, G.: *Zentral. Bakt. Parasitenk. Abt. I* 134: 14—26, 1935.
- 16) Flannery, W. L., Doetsch, R. N. and Hansen, P. A.: *J. Bact.*, 64: 713—717, 1952: 66: 526—530, 1953.
- 17) Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Hitchens, A. P.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 6th ed. 1948. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- 18) MacLeod, R. A. and Onofrey, E.: *J. Bact.* 71: 661—667, 1956.
- 19) 安川: *水産研究誌*, 26: 33—49, 1931.
- 20) Stuart, L. S. and James, L.H.: *J. Bact.*, 35: 369—380, 381—396, 1938.
- 21) Eisenberg, P.: *Zentral. Bakteriolog. Parasitenk. Abt. I*. 82: 69—206, 1918.
- 22) Halm, G. E. and Sherman, J. M.: *Bact.* 6: 511—519, 1921.
- 23) Winslow, C. E. A. and Dolloff, A. F.: *J. Bact.*, 15: 67—92, 1928.
- 24) Lamanna, G. and Mallette, M. F.: *Basic Bacteriology, Its Biological and Chemical Background*, 1953. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.