Clostridium 菌 属 の 研 究

III. Clostridium 菌属の分類学的研究 特に消化管および土壌由来菌の分類について

新 城 敏 晴

宮崎大学農学部家畜細菌学教室

(昭和 41 年 3 月 5 日 受付)

ま え が き

著者は、各種動物の消化管内容、糞便内および土壌中の Clostridium 菌属の分布について報告した際、これらより分離される菌株に同定不能株が多数存在することを述べ、また、本菌属の分類に関しては、広い立場で再検討する必要があることを説いた^{8,9)}。

本菌属は、これまで病原性 (KRUSE 1896, ZEISLER¹³⁾, DUBOS and HIRSCH²⁾), 生物学的性状 (v. HIBLER 1908, HELLER^{3,4)}, 佐々木⁷⁾, SPRAY¹⁰⁾, WILLIS¹¹⁾), 形態 (FISHER 1903), また、これらの性状の組合わせ (BREED et al.¹⁾, Medical Research Committee⁵⁾, PRÉVOT⁶⁾, WILSON and MILES¹²⁾) によって分類されてきた。

しかしながら、これらの分類は、一部の菌種に限定されているものが多く、また、分類の鑑別点としている性状が不適當であったり、微細な性状によって多くの菌種に細分されているため、細菌叢を検索する際、種々分離される菌株の同定は困難で、同定不能株が多数出現する。それゆえ、これらの同定不能株も含めて、広範な菌株を網羅した新たな分類法の確立が必要と考えられるが、著者は今回、細菌叢検索の際分離された菌株を主に、本菌属の分類学的研究を行なったので、その成績の概要をここに報告する。

使用菌株ならびに実験方法

1. 使用菌株

使用菌株は、農林省家畜衛生試験場、東京大学伝染病研究所、および同応用微生物研究所より分与された標準菌株 8 菌種 18 株、理化学研究所光岡知足博士より分与を受けたニワトリ糞便由来 6 株とサイレージ由来 2 株、大阪府立大学鹿江雅光博士より分与

を受けたウサギ消化管由来 1 株、著者らの分離した各種動物の消化管および糞便由来 185 株、ウマおよびウシの化膿巣由来 2 株、イヌの扁桃由来 4 株、ウシの子宮由来 1 株、および土壌由来 217 株、合わせて 436 株の偏性嫌気性芽胞形成桿菌であって、それらの菌種名および由来は、Table 1 に示すとおりである。

2. 実験方法

各種生物学的性状の検査法については、すでに述べた⁸⁾。本報では、新たに加えられた検査法についてのみ記述する。

a) 鉄釘加牛乳培地における発育

使用した培地および検査方法は、第 1 報と同様であるが、記録を次の 3 型に分けて行なった。

α 型: 最も良好な発育を示す型で、酸およびガスの産生、牛乳の凝固などが観察されるもの。

β 型: 培地を泥状 (0.1% 寒天状) に凝固し、後培地は黒変する。酸を産生せず、pH はむしろ高くなる傾向がある。

γ 型: かすかに凝固を示すものから、肉眼的に無変化のものまでを含む。酸は産生するものと、しないものがある。

b) 培養時間とグラム染色性との関係

供試菌を肝片加肝臓ブイヨンに接種して、37°C で培養し、17 時間後、24 時間後および 48 時間後にグラム染色を行なった。

c) 嫌気性度

供試菌を 37°C で 7 日間、高層普通寒天に振盪培養し、寒天表面から発育集落までの深さを測定した。同時にガス産生性についても記録した。

d) ペプトン寒天およびブドウ糖ペプトン寒天における発育

供試菌を下記培地に、37°C で 5 日間振盪培養し、

Table 1. Sources and Names of Strains

Source and name*		No. of strains	Total No. of strains
Feces and intestinal contents	Black leopard (Feces)	6	192
	Leopard "	5	
	Tiger "	5	
	Cheetah "	5	
	Puma "	1	
	Jaguar "	2	
	Chicken "	6	
	Horse (Intestinal contents)	24	
	Cattle "	21	
	Pig "	29	
	Dog "	49	
	Cat "	10	
	Rabbit "	8	
	Ferret "	3	
	Guinea pig "	4	
	Mouse "	9	
	Seal "	5	
Lesions	Horse	1	2
	Cattle	1	
Tonsil	Dog		4
Uterus	Cattle		1
Silage			2
Soil			217
Standard strains	<i>Cl. butyricum</i>	3	18
	<i>Cl. tetani</i>	4	
	<i>Cl. botulinum</i>	3	
	<i>Cl. welchii</i>	1	
	<i>Cl. septicum</i>	3	
	<i>Cl. chauvoei</i>	2	
	<i>Cl. oedematiens</i>	1	
	<i>Cl. sporogenes</i>	1	
Total			436

* The name of a strain when received

その発育性とガス産生性を観察した。

ペプトン寒天

Bacto-casitone	10.0 g
NaCl	5.0 g
Agar	15.0 g
Distilled water	1000 ml
pH 7.6, 分注後 116°C 15 分高压滅菌	

なお、上記ペプトン寒天にブドウ糖を1%に加えたものを、ブドウ糖ペプトン寒天とし、ペプトン寒天と同様の方法で、供試菌の発育性とガス産生性を検査した。

e) pH 5.0, 6.0 および 9.0 における発育

pH を 5.0, 6.0 および 9.0 に修正した 0.1% ブドウ糖高層寒天に、供試菌を 37°C で 5 日間振盪培養し、その発育の有無を検査した。

f) BTB, BCP, PR および NR の還元

0.1% ブドウ糖加糖類分解性基礎培地に、BTB (0.2% 液を 15 ml/1000 ml), BCP (1.6% 液を 1.5 ml/1000 ml), PR (0.2% 液を 12 ml/1000 ml) および NR (0.9% 液を 1 ml/1000 ml) をそれぞれ添加し、分注滅菌 (116°C 15 分) して調製した各色素培地に供試菌を移植し、37°C 5 日間の培養後、各色素の色の消失の有無を記録し、さらに、BTB, BCP および PR では、4% NaOH 液を 1~2 滴滴下して、発色がないものを色素還元陽性とした。

実験成績

使用菌株 436 株について、比較検討したところ、芽胞の形、運動性、ゼラチン溶解性および鉄釘加牛乳培地発育型によって、4 亜属 16 群に分類された。

すなわち、芽胞の形 (円形か卵円形か) と運動性の有無の 2 性状の組合わせによって、4 つの亜属 (Sub-genus A, B, C および D) に分類し、さらに、ゼラチン溶解性、鉄釘加牛乳培地発育型によって、Sub-genus A および B をそれぞれ 5 群に、C を 4 群に、D を 2 群に、合わせて 16 群に群別した。各群の諸性状の詳細は、一括表示 (Table 2) し、鑑別点を述べれば、次のとおりである。

Sub-genus A

卵円形芽胞菌で、運動性を有する一群である。これをさらに、ゼラチン溶解性と鉄釘加牛乳培地発育型により、5 群に分類した。

1. Sub-genus A group I: ゼラチンを溶解し、鉄釘加牛乳培地発育型が α の菌群で、使用菌株 436 株中、13 株がこれに属する。

2. Sub-genus A group II: ゼラチンを溶解し、鉄釘加牛乳培地発育型が β の菌群で、137 株がこれに属する。

3. Sub-genus A group III: ゼラチンを溶解し、鉄釘加牛乳培地発育型が γ の菌群で、10 株がこれに属する。

4. Sub-genus A group IV: ゼラチンを溶解せず, 鉄釘加牛乳培地発育型が α の菌群で, 44 株がこれに属する.

5. Sub-genus A group V: ゼラチンを溶解せず, 鉄釘加牛乳培地発育型が γ の菌群で, 11 株がこれに属する.

Sub-genus B

卵円形の芽胞を有し, 運動性を欠く菌群で, さらに, ゼラチン溶解性と鉄釘加牛乳培地発育型により 5 群に分類された.

1. Sub-genus B group I: ゼラチンを溶解し, 鉄釘加牛乳培地発育型が α の菌群で, 110 株がこれに属する.

2. Sub-genus B group II: ゼラチンを溶解し, 鉄釘加牛乳培地発育型が β の菌群で, 6 株がこれに属する.

3. Sub-genus B group III: ゼラチンを溶解し, 鉄釘加牛乳培地発育型が γ の菌群で, 5 株がこれに属する.

4. Sub-genus B group IV: ゼラチンを溶解せず, 鉄釘加牛乳培地発育型が α の菌群で, 18 株がこれに属する.

5. Sub-genus B group V: ゼラチンを溶解せず, 鉄釘加牛乳培地発育型が γ の菌群で, 13 株がこれに属する.

Sub-genus C

円形芽胞菌で, 運動性を有する一群である. さらに, ゼラチン溶解性と鉄釘加牛乳培地発育型により, 4 群に分類された.

1. Sub-genus C group I: ゼラチンを溶解し, 鉄釘加牛乳培地発育型が α の菌群で, 1 株がこれに属する.

2. Sub-genus C group II: ゼラチンを溶解し, 鉄釘加牛乳培地発育型が γ の菌群で, 6 株がこれに属する.

3. Sub-genus C group III: ゼラチンを溶解せず, 鉄釘加牛乳培地発育型が α の菌群で, 15 株がこれに属する.

4. Sub-genus C group IV: ゼラチンを溶解せず, 鉄釘加牛乳培地発育型が γ の菌群で, 43 株がこれに属する.

Sub-genus D

円形芽胞菌で, 運動性を欠く一群で, さらに, ゼラチン溶解性と鉄釘加牛乳培地発育型により, 2 群

に分類された.

1. Sub-genus D group I: ゼラチンを溶解せず, 鉄釘加牛乳培地発育型が α の菌群で, 3 株がこれに属する.

2. Sub-genus D group II: ゼラチンを溶解せず, 鉄釘加牛乳培地発育型が β の菌群で, 1 株がこれに属する.

考察ならびに総括

Clostridium 菌属は, 各種動物の消化管内や自然界に広く分布し, また, ヒトや動物に病原性を有する菌種や, 応用細菌学上有用な菌種を含んでいるところから, 重要な細菌の一つとされ, 一部の特定菌種については, かなり詳細に研究されて来た. しかしながら, 本菌属全般にわたる分類学的研究は少ないようである.

従来, 本菌属は, おもに病原性^{2,13)} (病原性の有無および発病機序の差異), 芽胞保有時の菌形⁹⁾, 糖や蛋白の分解性^{5,11)}などにより, Toxemia を主徴とする菌群, ガス水腫およびガス壊疽を主徴とする菌群, 非病原性菌群, 紡錘形菌群, 太鼓撥状菌群, 糖分解性菌群, 蛋白分解性菌群などに分類されて来た.

しかしながら, 病原細菌学的な分類は, その後新たに分離された非病原性菌の増加に伴って, 普遍性を欠くものとなり, また, 細菌叢を研究する際, 多数出現する非病原性菌を主とする場合には, 病原性を他の全性状に優先させる分類法には, 多くの難点がある.

芽胞保有時の形態は, 芽胞の菌体内の位置と, 菌体の膨隆によって決定される. しかし, 芽胞の位置は, 一定不変なものではなくて, かなりの変動があり, また, 芽胞保有時の菌体が膨隆しない菌株もあり, 菌形を, 紡錘形か太鼓撥状かに, 二者択一的に決定することは, 実際的ではない. したがって, 芽胞保有時の菌形を分類の鍵とすることは, 不適當であると考ええる.

また一方, 生物学的性状を形態に優先して, 分類の鑑別点とすることは, 本菌属には生物学的性状の移行型が多いことや, 容易に変異したりすることなどのために, 適當ではない.

なお, 現在広く採用されている分類法について付言すれば, Bergey's Manual¹⁾ については, さらに改善する必要があることは, すでに考察した⁸⁾ので, ここでは PRÉVOT⁶⁾ の分類にのみ触れたい. 彼の分

Table 2. Differential Characteristics

Sub-genus	Group	Shape of spore	Motility	Gelatin	Iron-milk	No. of strains	Fermentation of										Hemolysis	H ₂ S
							Glucose	Maltose	Lactose	Sucrose	Starch	Galactose	Salicin	Glycerol	Mannitol	Cellulose		
A	I	O v a l	+	+	α^*	13	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	+	—
	II				β^*	137	90 137	86 137	135 137	130 137	—	135 137	128 137	133 137	136 137	—	126 137	110 137
	III				r^*	10	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	IV		+	—	α	44	42 44	38 44	37 44	39 44	37 44	42 44	40 44	25 44	29 44	—	41 44	41 44
	V				r	11	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—
B	I		—	+	α	110	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	+
	II				β	6	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	III				r	5	+	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	+
	IV		—	—	α	18	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	—
	V				r	13	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—
C	I	S p h e r i c a l	+	+	α	1	+	—	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+
	II				r	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	III		+	—	α	15	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	+
	IV				r	43	10 15	9 15	9 15	9 15	9 15	9 15	9 15	11 15	11 15	—	11 15	13 15
D	I		—	—	α	3	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	—
	II				β	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+

+: Positive. -: Negative. * See the explanation in the text. ** All strains did not react uniformly,

of the Genus Clostridium

Indol	Coagulated serum	Egg-yolk reaction	Lipolytic activity	Liver particle	Gram stain			Growth at			Growth at			Peptone agar		Glucose peptone agar		Reduction of			
					17 hr.	24 hr.	48 hr.	55°C	45°C	20°C	pH 5.0	pH 6.0	pH 9.0	Growth	Gas	Growth	Gas	BTB	BCP	PR	NR
-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
12	12	9	10	11	5	6	7	12	11	12	10	12	12	11		9	7	8	11	9	9
13	13	13	13	12	10	10	12	13	13	13	13	13	13	13		13	13	13	13	13	13
-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
130	79	123	82	104	85	86	71	114	135	126	70	126	129	95	61	118	101	66	110	116	133
137	118	137	137	137	107	133	136	137	137	137	124	130	130	130	130	130	130	130	130	130	135
-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
		6	6		2	4	8	6			9	9	7	5	8	8	7	8	6	7	9
		10	10		2	7	10	10			9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	10
-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
	37			39	19	26	31	42	35	40	28	34	32	24	28	36	34	26	34	26	33
	38			39	36	39	42	44	44	44	38	38	38	39	39	39	39	39	39	39	44
+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
9		6	8		5	6	8			10	5	7	7	5	6	6	5	6	7	9	7
11		11	11		10	9	11			11	7	7	7	7	7	7	7	11	11	11	11
-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
		102	103		43	61	57	63		109	104	109	108	58	98	107	107	100		90	96
		110	110		69	91	91	110		110	110	110	110	110	110	110	110	110		110	110
-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
	5	3		4		5	3	4		4	3	5	5	4	3	4	4	4	3	5	5
	6	6		6		6	6	6		6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+
4					4	4		4			3	4		4			3	3		3	
5					5	5		5			5	5		5			5	5		5	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
	13				7	14		17	16		10		14	15			14	13	17	10	10
	18				9	18		18	18		18		18	18			18	18	18	18	18
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
12		12			3	9	8	12	12	10	7	9	12	9	10	12	8	7		9	10
13		13			5	12	12	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	12		13	13
-	-	-	-	-		+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+
					4	3	4	4			5	3	4	4		3			3		
					4	5	5	6			6	6	6	6		6			6		
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
12		14	14		5	9	9	11	9		10	12	13			11	8	8	12	10	13
15		15	15		8	13	13	15	15		15	15	15			15	15	15	15	15	15
+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
23		40			27	25	26	35	42	36	25	37	37	19	23	25	28	21	28	37	38
43		43			43	43	43	43	43	43	39	39	39	37	43	43	43	41	43	43	43
-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
					1	1	1				2	2	2			2	2				
					1	1	1				3	3	3			3	3				
+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+

nor were tested. The fraction indicates: $\frac{\text{No. of strains giving the reaction specified}}{\text{No. of strains tested}}$

Table 3. Relationship Between the Groups and Conventional Species

Sub-genus	Group	Species
A	I	<i>Cl. septicum</i> , <i>Cl. chauvoei</i> , <i>Cl. haemolyticum</i> , <i>Cl. capitovale</i> , <i>Cl. felsineum</i> , <i>Cl. pectinovorum</i>
	II	<i>Cl. sporogenes</i> , <i>Cl. novyi</i> , <i>Cl. parabotulinum</i> , <i>Cl. bifermentans</i> , <i>Cl. hastiforme</i> , <i>Cl. aerofoetidum</i>
	III	<i>Cl. cadaveris</i>
	IV	<i>Cl. butyricum</i> , <i>Cl. butylicum</i> , <i>Cl. multifementans</i> , <i>Cl. beijerinckii</i> , <i>Cl. iodophilum</i> , <i>Cl. fallax</i> , <i>Cl. toanum</i> , <i>Cl. paraputrificum</i> , <i>Cl. madisonii</i>
	V	<i>Cl. cochlearium</i> , <i>Cl. difficile</i> , <i>Cl. pasteurianum</i> , <i>Cl. indologenes</i> , <i>Cl. kluyverii</i>
B	I	<i>Cl. perfringens</i> , <i>Cl. tale</i> , <i>Cl. manganotii</i> , <i>Cl. lituseburens</i>
	II	
	III	
	IV	<i>Cl. perenne</i>
	V	<i>Cl. setiense</i>
C	I	<i>Cl. omelianskii</i>
	II	<i>Cl. tetani</i> , <i>Cl. tetanomorphum</i> , <i>Cl. lentoputrescens</i>
	III	<i>Cl. sphenoides</i> , <i>Cl. indolis</i> , <i>Cl. thermosaccharolyticum</i>
	IV	<i>Cl. caloritolerans</i> , <i>Cl. tetanoides</i> , <i>Cl. innominatum</i> , <i>Cl. microsporum</i>
D	I	
	II	<i>Cl. filiforme</i>

類が、形態を第一の鑑別点としている点は、著者も賛成であるが、芽胞の形を考慮に入れずに、位置だけを重視している点、芽胞保有時の菌形態や、不安定なグラム染色性を分類の重要な鍵としている点、また、多数の菌種に細分し過ぎている点など、首肯しがたい点も多い。

著者は、本菌属の分類は、微細な性状にとらわれることなく、変わり難い安定した性状の類縁関係によって分類する方向へと、再検討されなければならないと考えている。そのためには、既知の標準菌株を用いて、比較検討することが望ましいが、著者は多数の芽胞形成偏性嫌気性桿菌を分離収集したので、主としてこれらの分離菌株について、分類学的研究を行なった。

上述の分類学的な立場から、形態および各種生物学的性状について充分検討した結果、本菌属の分類においては、芽胞の形と鞭毛の有無、すなわち、細菌の有する諸性状のうちで、最も変わり難いと考えられる形態を、他のすべての性状に優先させるべきであるとの結論に達した。

すなわち、芽胞形成偏性嫌気性桿菌を、芽胞の形により、卵円形芽胞菌と円形芽胞菌とに大別し、それと運動性の有無との組合わせによって、4つの亜属に分類し、それらをさらに、ゼラチン溶解性と鉄

釘加牛乳培地発育型によって、16群に群別した (Table 2)。

著者の分類の各群と、従来のおもな菌種との関係は、Table 3 に示すとおりである。これらの群の中には、従来の1菌種に相当すると思われるものや、数菌種を包含していると思われるものなどがあり、それらはさらに、生物学的性状、由来、血清学的性状などによって、細分されるものと考ええる。

また、本菌属には、自己栄養型の菌、空中窒素を固定する菌、偏性嫌気性菌、Aerotolerant な菌、線維素分解菌、色素産生菌、病原性菌、非病原性菌など、多様な菌種が包含されている、したがって、これらの菌種を、一括して一属に属せしめることは、不合理であると考えているが、今後さらに、細菌進化の立場から、本菌属の分類学的研究を続けて行く必要があると考える。

以上の成績を総括すれば、おおむね次のとおりである。

各種動物の消化管内容および糞便、ウシおよびウマの化膿巣、イヌの扁桃、ウシの子宮、土壌、サイレージなどから分離した芽胞形成偏性嫌気性桿菌 418 株と *Clostridium* 菌属の標準菌株 8 菌種 18 株、合わせて 436 株について、分類学的研究を行なった。

1) *Clostridium* 菌属を、芽胞の形、運動性、ゼラ

Table 4. Summarized Classification of the Genus Clostridium

Sub-genus	Group	Shape of spore	Motility	Gelatin	Iron-milk
A	I	oval			α^*
	II		+	+	β^*
	III				r^*
	IV		+	-	α
	V				r
B	I				α
	II		-	+	β
	III				r
	IV		-	-	α
	V				r
C	I	spherical	+	+	α
	II				r
	III		+	-	α
	IV				r
D	I		-	-	α
	II				β

+, -, *: See the remarks of Table 2.

チン溶解性および鉄釘加牛乳培地発育型により, 4 亜属 16 群に分類した。

2) 著者の分類による各群と, 従来の菌種との関係についても触れ, それらの群の細分の可能性についても述べた。

稿を終わるにのぞみ, 菌株を分与された農林省家畜衛生試験場, 東京大学伝染病研究所, 同応用微生物研究所の関係各位, ならびに理化学研究所光岡知足博士, 大阪府立大学鹿江雅光博士に感謝の意を表する。

また, 本研究のテーマを与えて下さり, 終始懇切な指導と助言をいただいた麻布獣医科大学学長越智勇一博士, 東京大学教授尾形学博士に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) BREED, R. S., MURRAY, E. G. D. and SMITH, N. R. (1957): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed., Baltimore, Williams and Wilkins.
- 2) DUBOS, R. J. and Hirsch, J. G. (1965): Bacterial and Mycotic Infections of Man, 4th Ed., Philadelphia and Montreal, Lippincott.
- 3) HELLER, H. H. (1921): *J. Bact.*, **6**, 521~533.
- 4) HELLER, H. H. (1922): *J. Bact.*, **7**, 1~36.
- 5) Medical Research Committee (1919): Spec. Rep. Ser., No. 39. ROBERTSON, M. (1929): A System of Bacteriology in Relation to Medicine, 3, 225~297, London, His Majesty's Stationery Office より引用.
- 6) PRÉVOT, A. R. (1957): Manuel de Classification et de Détermination des Bactéries anaérobies, 3^e éd., Paris, Masson.
- 7) 佐々木 (1934): 近世嫌気性細菌学, 東京, 南江堂.
- 8) 新城, 尾形 (1965): 日本獣医学雑誌, **27**, 263~270.
- 9) 新城, 尾形 (1965): 日本獣医学雑誌, **27**, 305~308.
- 10) SPRAY, R. S. (1936): *J. Bact.*, **32**, 135~155.
- 11) WILLIS, A. T. (1960): Anaerobic Bacteriology in Clinical Medicine, London, Butterworths.
- 12) WILSON, G. S. and MILES, A. A. (1955): Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 4th Ed., London, Arnold.
- 13) ZEISSLER, J. (1930): Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 10, S. 35~144, Jena, Berlin und Wien, Fischer und Schwarzenberg.

STUDIES ON THE GENUS CLOSTRIDIUM

III. CLASSIFICATION OF ORGANISMS ORIGINATED
FROM THE DIGESTIVE TRACT AND SOIL

Toshiharu SHINJO

Laboratory of Veterinary Bacteriology, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, Miyazaki

(Received for Publication March 5, 1966)

A total of 436 strains were subjected to a taxonomical survey. All of them were of spore-forming, obligatory anaerobic, Gram-positive or negative catalase-negative rods. Of them, 418 strains had been isolated from the feces or intestinal contents of black leopards, leopards, tigers, cheetahs, pumas, jaguar, chickens, horses, cattle, pigs, dogs, cats, rabbits, ferrets, guinea pigs, mice and seal, lesions in horse and cattle, the tonsils of dogs, the uterus of cattle, soil, and silage, the remaining 18 strains were named stock cultures.

The results obtained were as follows.

1. The genus *Clostridium* was divided into four sub-genera, sixteen groups, on the basis of four characters; namely, the shape of the spore, motility, liquefaction of gelatin, and the growth type in iron-milk medium.

2. Further studies are necessary to achieve the classification of this genus by the biological and serological features, pathogenicity, and source of origin.