口腔内より分離される耐酸性菌の 酸素抵抗性に関する分類学的研究

片 山 博

東京医科歯科大学微生物学教室 (指導 大西教授)

A Taxonomical Study on the Oxygen Sensitivity of Oral Aciduric Bacteria

Hiroshi Katayama

Department of Microbiology, School of Dentistry, Tokyo
Medical and Dental University
(Prof. Masao Onisi)

Even though oral aciduric bacteria can grow in the aerobic atmosphere, it has known in counting number of this bacteria in an oral specimen that anaerobic condition significantly favor their growth. Depending on the strict anaerobiosis of *Lactobacillus bifidus*, the first interest should be concentrated at the taxonomical identification of those aerobic and anaerobic strains. The oral specimen was seeded on a plate of the Onisi and Kondo's selective medium for the lactobacillus count and incubated aerobically at 37°C for two days. Colonies representing aerobic strains of the specimen were picked up for further tests based on differences of the colonial morphology and the rest was marked in order to differentiate from anaerobic strains which may grow for successive two days incubation of the same plate in phosphorous jar. The common bacteriological tests for metabolites, fermentation of sugars and refraction of lactic acid were described on 24 aerobically isolated and 29 anaerobically isolated strains for the identification.

Isolated 31 strains were identified to either *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. fermenti*, *L. delbrueckii*, *L. casei* or *L. buchneri*, but 22 strains were unidentifiable to the established species but to types proposed by Morris. The major species was *L. plantarum*. *L. plantarum*, *L. acidophilus* and some of the unidentifiable types grew aerobically and anaerobically as well. Five out of six *L. casei* were found aerobic media while four *L. fermenti* out of five came from anaerobic cultures. Anaerobic culture seemed likely in case of lactobacillus count, because only under this condition, *L. fermenti* may be countable and numerous additional colonies of the other species and types may also be obtainable on the plate.

I 序 論

乳酸菌を始めて分離したのは Beijerinck²⁾(1889)で、その後彼は細菌の分類体系内に homofermentative の醗酵をする Genus lactobacillus

をもうけ、彼の分離した *B. caucasicus* をその type species とした。次いで von Freudenreich (1890, 1895)及び Thöni^{11,12)}(1904)は Emmental cheese より乳酸菌の数株を分離し性状の差異に

基いてそれぞれ *Bacillus casei* α , γ , δ , ϵ の 4 型を記載命名した。

Leichmann¹⁷⁾(1896)は醸造用もやし汁より *B. lactis acidii* と非常によく似ているが之とは異なる *B. Delbrückii* を分離した。次いで von Freudenreich¹¹⁾は 1897 年に heterofermentative の乳酸菌のあることを発見した。1901 年に Beijerinck²⁾が最初に “*Lactobacillus*” なる名称を附けてより以来この genus に対しては多数の研究^{16, 29, 31, 34)}がなされたが其の内、分類学的研究については Orla-Jensen²³⁾(1919)が表面発育を示さず nitrate を還元しないで catalase 陰性の rod を乳酸菌とし、之を更に (1) homofermentative thermobacteria, (2) homofermentative streptobacteria (3) heterofermentative betabacteria の 3 種類に分けた。更に彼は (i) 乳酸産生量と乳酸の旋光性, (ii) 発育温度, (iii) 窒素の要求, (iv) 糖の分解能に基いて上記 3 つの群を

(1) thermobacteria	{	Tbm. helveticum (<i>B. casei</i> ϵ , v. Freudenreich)
		Tbm. jugurt
		Tbm. lactis (<i>B. lactis acidii</i> Leichmann)
		Tbm. cereale (<i>B. Delbrückii</i> Leichmann)
(2) streptobacterium	{	Tbm. bulgaricum
		Sbm. plantarum
		Sbm. casei (<i>B. casei</i> α , v. Freudenreich)
(3) heterofermentative betabacteria	{	Bbm. caasicum
		Bbm. breve (<i>B. casei</i> γ , v. Freudenreich)
		Bbm. longum

の 10 菌種に分類した。その後 1942 年になつて彼は更に *Bacterium bifidum* (*Bacillus bifidus*) は lactic acid bacteria と propionic acid bacteria の間の connecting link を作るもので separate genus に入れ、又 1943 年には *Tbm. intestinale* (*L. acidophilus*) を thermobacteria に包括した。Pederson²⁵⁾(1928)は Orla-Jensen の heterofermentative betabacteria について研究し発育温度と糖の分解能によりこれを 5 群に分けた。

更に Bergey³⁾(1948)が Orla-Jensen と Pederson の仕事に基いて発育温度の限界、旋光度、respiratory requirement 及び糖の分解能に依り *L. caucasicus*; *L. lactis*; *L. helveticus*; *L. acidophilus*; *L. bifidus*; *L. bulgaricus*; *L. thermophilus*; *L. delbrueckii*; *L. casei*; *L. plantarum*; *L. leichmannii*; *L. brevis*; *L. buchneri*; *L. pastorianus*; *L. fermenti* の 15 の species に分類して一応この genus に対する species の分類を整理した。

McLeod¹⁸⁾(1930)の分類に依ると乳酸菌は catalase を欠いているために好気性培養では medium 内に H_2O_2 を蓄積するのであるに拘らず一般の嫌気性菌とは異り好氣的に発育出来る菌の部類に入れている。しかし乳酸菌の中には *L. bifidus* の様に勿論 catalase を欠き且つ過酸化水素に過敏であるために偏性嫌気的条件下でなければ発育出来ないものがある。従つて、通性嫌気性とされている *Lactobacillus* の多くも、更に細かく観察すれば、過酸化水素即ち酸素に対する感受性を異にしているのかも知れないと考えられる。実際に唾液中の耐酸性菌数の測定 (L-count と略記する) を行う場合に、好氣的培養で数えるよりも嫌氣的培養で数えるほうがはるかに大きな数値を得ると云われ、Strean²⁸⁾、大西、近藤²²⁾は嫌氣的或は微好氣的培養では共に好氣的培養の場合より非常に多い数値を得ることを知つたが、この事実は明らかに過酸化水素に対する抵抗性を異にする菌株が口腔内材料中に含まれている事を示すものである。

一方、同一人の口腔内材料から何種類もの乳酸菌が分離されたという報告がある。即ち Tilden, Svec³⁰⁾(1952)は、高い L-count を示す児童 45 名について実験した結果、一種類のみの乳酸菌を分離した者は 16 名しかなく、*L. brevis* と *L. plantarum* 又は *L. casei* と *L. plantarum*, *L. fermenti* 或は *L. buchneri* の二種類の組合せで見出された者が計 17 名あつたし、又、*L. casei* と *L. buchneri* と *L. acidophilus* が検出された者、或は *L. casei* と *L. fermenti* に *L. buch-*

neri, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, 或は *L. brevis* の 3 種類が同時に検出された者が計 11 名, 更に *L. casei*, *L. fermenti*, *L. buchneri* と *L. brevis* の 4 種類が同一人の口腔内より検出されたと報じている。又, Rogosa²⁷⁾ (1953) 等は 130 名の子供の唾液中より 500 株の代表的な乳酸菌を分離し, 同一人の口腔内に 2 種類の菌種が同時にあつた者 60 %, 3 種類の菌種が同時にあつた者 23 % もあつたと報告しており, 又, 分離された菌種は *L. casei* と *L. fermenti* が大部分であり, このことは又成人の場合も大体同じ分布であつたと報告している。この報告の結果から考えると, 前述の菌株の酸素に対する感受性の差は個々の菌株のもつ性質の差, 或は一過的な変異, 或は個体差に基くものでなく, これが菌種の性状の差に由来しているのかも知れないと思われる。従つて好気性培養では特別に酸素に抵抗性の菌種のみしか得られないのではないかと疑われる。この様な可能性が事実であるとすれば, 乳酸菌の分類学上の盲点であるばかりでなく, 歯科学では特別に重要な意味をもつことになる。即ち, 歯科領域では L-count を caries activity の判定に使用しているのであるが, 両者の一致する確率はかなり低いという意見が相当ある。大西, 近藤²²⁾は口腔内に plate を入れるだけで L-count の増加することを実験的に示し, 又, 戸町³²⁾は歯肉炎でも L-count の増大することを見, Becks¹⁾ 等は矯正装置が同じく L-count を増すことを示した。大西²¹⁾によつてこれ等はいづれも caries activity の判断を誤らせる要素となつていと考察されている。この様に他の要因でも乳酸菌は増加するから齲蝕に関係のある乳酸菌種だけを専一に発育せしめ得る計算法即ち培養条件を知ることが非常に重要な研究題材となる。Hadley¹⁴⁾の標準 L-count 法では好氣的培養が用いられているが大西, 近藤²²⁾は微好氣的条件を採用し集落数を飛躍的に増加させている。しかし, 上述の様な種々の可能な要因を考え合せると集落数を増すこと必ずしも進歩した方法であるとは言えない。

以上の諸考察から口腔内乳酸菌株の酸素に対す

る抵抗性の差異に関する分類学的研究はまだ完全には解決されていないので乳酸菌分類学に対しても, 又, 予防歯科学で最も重要な caries activity の誤差の問題に対しても必ず誰かが一度は行わねばならない重要な実験であると考えられたので本研究を行つた。

II 実験及び実験成績

(1) 実験対照及び検出材料

成人 38 名により, 大西, 近藤の用いている 0.5 % pepton, 1.0 % glucose, 0.25 % NaCl (pH 5.0) の処方の pepton 水 10 cc で 1 分間 充分に口腔内含嗽を行わしめて得た材料について実験を行つた。

(2) 使用培地及び分離培養法

使用培地は下記の大西, 近藤の乳酸菌分離用培地を使用した。

Yeast extract (Difco)	1.0 %
Pepton	1.0 %
Glucose	1.0 %
NaCl	0.25 %
Milk	100 cc
NaN ₃	1 : 10000
Agar	3.0 %
0.2 % C. P. R.	5 cc
0.2 % B. C. G.	5 cc
Aq. dest	900 cc

以上を pH 6.0 110°C にて 15 分間滅菌して用いた。採取した材料を pepton 水で適当に稀釈して 0.1 cc を上記の培地平板に塗抹し最初に好氣的培養を 3 日間行い, 肉眼的に培地の周囲が黄色に変わる colony で形態上差異の認められたものを各一個づつ撰択鈎菌し, 乳酸菌の形態学的特徴が見えておれば好気性菌株として保存した。鈎菌されなかつた集落には白金針で印をつけて次に発育してくる集落と明瞭に区別出来る様にした。さて, この平板を, Phosphorous-Jar に入れ嫌氣的培養を 2 日間行い嫌氣的条件で初めて発育した集落で培地の周囲が黄色に変わった colony の各種類を 1 個づつ撰択し, 好気性株のときと同一標準

で釣菌し、これを嫌気性菌株とした。尚純培養の保存には最初1%葡萄糖半流動培地に48時間培養し次に0.2%の葡萄糖半流動培地に培養し、最初の1回から5回までは7日毎に、後には1カ月毎に移植し、充分發育したものを約4°Cの氷室又は室温に保存した。この様にして得た保存株につき各種の生物学的性状検査を行い、その結果を既往の分類と各菌株の具えねばならぬ特徴的な性状に比較し、種の同定を行つた。生物学的性状の検査各種含水炭素分解能の検査は、後述する如き当教室で普通行われている方法に依つた。

菌株の内、上記の検査だけでは同定に多少の不安を感じたものは、それにつき次の如き方法で、その產生する乳酸の旋光性を測定した。100 ccの長頸コルベンに、10%葡萄糖 yeast extract, pepton 培地を満したものに分類上多少とも疑問を残した菌株だけを接種した。37°Cに1日間培養した後、適量の滅菌沈降炭酸石灰を加え、その後は毎日コルベンの内容をよく混合し、炭酸ガスの生じなくなるまで37°Cで培養を継続した。醗酵が終了すると、培地をNaOHでアルカリ性とし、炭酸石灰を濾別し、濾液をH₂SO₄で酸性とし、石膏を落とすと同時に乳酸を遊離した。次にこの濾液に活性炭を加え、脱色したものについてAmberite IR 400により乳酸イオンを精製し、更にAmberite IR 120によりこれを乳酸とし、適当に濃縮して、Zeissの簡易旋光計で旋光性を測定した。

(3) 記載された生物学的諸性状

分離した好気性菌株24株と嫌気性菌株29株合計53株につき通法¹⁰⁾に従つて諸種検査を行い下記の如き成績を得た。

(A) 集落：1%葡萄糖寒天平板(pH 6.2)に好気性菌株は好氣的に、嫌気性菌株は嫌氣的に各々37°C、48時間培養すると、好気性菌株は直径0.2乃至1.5 mm大の辺縁は明瞭で円形、中央隆起、表面は平滑もしくは多少凸形の認められる(No. 24は中央が反対に凹形になつていた)淡黄色、薄萌黄色、ときには濃綠色又は空色の半透明の光沢

のある湿潤な軟かい集落を形成する。嫌気性菌株は辺縁、外形、色、光沢ともに好気性菌株と大体同じであるが直径0.5乃至3.0 mm大でやや透明度が少なかった。

(B) 形態、運動及び染色所見：形態は1%葡萄糖寒天平板(pH 6.2)に各々好氣的、又は嫌氣的に48時間培養した菌のGram染色標本では長さ1 μ 乃至3 μ 、幅0.7 μ 乃至1 μ 大の両端は僅かに円味を帯びた単独又は数個の連鎖を作つて柵状に配列する桿菌であつて(好気性菌株No. 7は彎曲した形態をしていた)、芽胞、莢膜、鞭毛、異染小体及び固有運動は認められなかった。

(C) ガスの產生：Durhamの管を入れた試験管に1%葡萄糖ペプトン水を分注して滅菌し、37°Cに4日間培養しガスの產生を検した。好気性菌株は24株中2株(No. 23, 24)、嫌気性菌株は29株中6株(No. 48, 49, 50, 51, 52, 53)にガスの產生を見た。即ち嫌気性分離群にややガスを産出した菌株が多かつた。

(D) catalase：両菌株とも陰性であつた。

(E) 溶血作用：馬血液加寒天平板に塗抹し、5日間37°Cで培養し検したが全株陰性であつた。

(F) 硝酸塩の還元：0.1%に硝酸カリを加えた0.5%葡萄糖加半流動培地に37°C10日間培養後検査したが、嫌気性菌株の内2株(No. 35, 52)のみ極少量還元作用があつたが他は全菌株陰性であつた。

(G) 色素(中性紅)の還元：中性紅寒天に一週間培養して検べた結果、好気性菌株中9株(No. 2, 6, 7, 14, 15, 17, 18, 21, 22)、嫌気性菌株中11株(No. 25, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 43, 44, 47, 52)が還元作用があつた。

(H) 蛋白質とアミノ酸に対する作用：

(i) ゼラチンの液化：好気性菌株中4株(No. 4, 12, 14, 15)が液化した。嫌気性菌株には全く見られなかった。

(ii) 牛乳の凝固：リトマス牛乳培地に培養して2週間観察した結果は、色素還元後に充分の酸

量に達しカゼインを凝固したものが多く、好気性菌株では9株 (No. 6, 7, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 22), 嫌気性菌株中15株 (No. 29, 30, 31, 32, 34, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 53)であつた。還元なく、酸産生と凝固を見たものは好気性菌株の7株 (No. 1, 2, 9, 10, 18, 23, 24), 嫌気性菌株の7株 (No. 25, 37, 38, 48, 51, 52, 53), 酸産生のみのもの好気性菌株中4株 (No. 3, 4, 5, 8), 嫌気性菌株中7株 (No. 26, 27, 28, 33, 35, 49, 50)であつた。他に好気性菌株 No. 11 は酸産生, 色素還元をし, 3株 (No. 12, 13, 14) は酸産生, 色素還元, 後に溶解を起した。又嫌気性菌株中2株 (No. 30, 36) は酸産生, 色素還元をしたが酸産生, 色素還元溶解を起した株はなかつた。

(iii) インドールの産生は全株とも凡て陰性であつた。

(I) 乳酸の旋光度の測定: 好気性10株, 嫌気性13株について測定した結果は, 好気性菌株中 No. 1, 2, 23 が右旋性, No. 10 が左旋性, No. 3, 4, 5, 17, 21, 23 が不活性であり, 嫌気性菌株中 No. 35 が右旋性, No. 27, 37 が左旋性, No. 28, 29, 31, 33, 36, 40, 43, 45, 46, 53 が不活性の成績を得た。

(J) urease の検出: 一週間培養検査を行ったが全株とも陰性であつた。

(K) pH 9.0 の普通肉汁ブイオンでは, 好気性菌株中1株 (No. 12) と嫌気性菌株中1株 (No. 39) が極少量発育したのみで, 他は全く発育しなかつた。

(L) pH 5.0 の普通肉汁ブイオンでは, 好気性菌株中5株 (No. 5, 13, 14, 15, 21) は明らかに発育をし, 2株 (No. 3, 6) は少し発育した。嫌気性菌株中7株 (No. 27, 28, 40, 41, 47, 51, 52) は明らかに発育し, 3株 (No. 32, 42, 46) は少量発育をした。

(M) 1%葡萄糖ペプトン水に於ける最終 pH の測定値: 好気性菌株は pH 3.6~4.2 に下つた。即ち pH 4.0 のもの12株 (No. 2, 3, 4, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 18, 20, 21), pH 3.8 のもの7株 (No. 6, 7, 14, 16, 19, 22, 24) で其の大部分を占め, pH 4.2

のもの4株 (No. 1, 5, 10, 23) で pH 3.6 に下つたものが1株 (No. 17) あつた。嫌気性菌株は pH 3.6~4.4 に下つた, 即ち pH 4.0 のもの18株 (No. 25, 26, 27, 31, 32, 33, 34, 37, 38, 39, 40, 42, 45, 46, 48, 50, 51, 52), pH 3.8 に下つたもの6株 (No. 28, 30, 36, 43, 44, 53) で好気性の場合と同じく其の大部分を占め, pH 3.6 のもの2株 (No. 41, 47), pH 4.2 が2株 (No. 29, 35) であり, pH 4.4 が1株 (No. 49) あつた。

(N) 普通ブイオンにおける最終 pH の測定値: 好気性菌株においては pH 6.0~6.8 に下つた。即ち pH 6.0 のもの4株 (No. 6, 8, 10, 15), pH 6.2 のもの4株 (No. 17, 18, 19, 21), pH 6.4 のもの6株 (No. 1, 7, 12, 14, 16, 22), pH 6.6 のもの6株 (No. 3, 5, 13, 20, 23, 24), pH 6.8 のもの4株 (No. 2, 4, 9, 11) であつた。嫌気性菌株でも pH 6.0~6.8 に下つた。即ち pH 6.0 のもの3株 (No. 26, 49, 53), pH 6.2 のもの8株 (No. 30, 32, 33, 39, 41, 42, 47, 48), pH 6.4 のもの6株 (No. 25, 31, 40, 43, 44, 50), pH 6.6 のもの8株 (No. 27, 28, 29, 35, 36, 37, 45, 46), pH 6.8 のもの4株 (No. 34, 38, 51, 52) であつた。

(O) 含水炭素分解能: glucose, lactose, sucrose, mannitol, maltose, salicin, arabinose, raffinose, inulin, sorbitol, aesculin, starch, xyllose, dulcitol, rhamnose の15種類の含水炭素を用いて検査した。即ち0.5% yeast extract, 1% pepton, 0.2% NaCl, 0.2% 寒天, 1 l 蒸留水を pH 7.2 に修正した半流動培地に上記の各糖を1%に加え, 指示薬は B. T. B を使用した。各糖の分解能成績は次の如くであつた。

(i) glucose: 好気性, 嫌気性菌株ともに全株陽性であつた。

(ii) lactose: 好気性菌株中18株 (No. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24) 嫌気性菌株中22株 (No. 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53) が陽性であつた。

(iii) sucrose: 好気性菌株中19株 (No. 1, 2

8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), 嫌気性菌株中 21 株 (No. 25, 26, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53) が陽性であつた。

(iv) mannitol: 好気性菌株中 14 株 (No. 6, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22), 嫌気性菌株中 12 株 (No. 31, 32, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 53) が陽性であつた。

(v) maltose: 好気性菌株中 21 株 (No. 1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), 嫌気性菌株中 24 株 (No. 25, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53) が陽性であつた。

(vi) salicin: 好気性菌株中 20 株 (No. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22), 嫌気性菌株中 13 株 (No. 26, 27, 28, 29, 31, 32, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 53) が陽性であつた。

(vii) arabinose: 好気性菌株中 13 株 (No. 2, 3, 4, 5, 7, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), 嫌気性菌株中 19 株 (No. 25, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 35, 36, 37, 38, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 52, 53) が陽性であつた。

(viii) raffinose: 好気性菌株中 5 株 (No. 2, 20, 21, 22, 24), 嫌気性菌株中 19 株 (No. 26, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53) が陽性であつた。

(ix) inulin: 好気性菌株中 2 株 (No. 6, 16) 嫌気性菌株中 1 株 (No. 31) が陽性であつた。

(x) sorbitol: 好気性菌株中 13 株 (No. 5, 6, 7, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22), 嫌気性菌株中 8 株 (No. 31, 32, 40, 41, 43, 44, 47, 53) が陽性であつた。

(xi) aesculin: 好気性菌株中 21 株 (No. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23), 嫌気性菌株中 16 株 (No. 27, 28, 29, 31, 32, 33, 38, 39, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 53) が陽性であつた。

(xii) starch: 好気性菌株は全株陰性であつたが、嫌気性菌株中 1 株 (No. 38) が陽性であつた。

た。

(xiii) xylose: 好気性菌株中 18 株 (No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 18, 19, 21, 22, 23, 24), 嫌気性菌株中 14 株 (No. 25, 26, 27, 28, 33, 36, 37, 38, 42, 44, 46, 47, 48, 50) が陽性であつた。

(xiv) dulcitol: 好気性菌株中 2 株 (No. 10, 17), 嫌気性菌株中 3 株 (No. 43, 44, 49) が陽性であつた。

(xv) rhamnose: 好気性菌株中 8 株 (No. 3, 4, 5, 7, 11, 13, 19, 20), 嫌気性菌株中 9 株 (No. 26, 27, 28, 30, 32, 41, 44, 46, 47) が陽性であつた (表 1, 2 参照)。

III 考 案

乳酸菌の分類上行われて来た検査項目は、発育温度、旋光度の測定、免疫学的な検査、糖の分解能の 4 つを挙げる事が出来る。

先づ発育温度による分類方法は、Burkey⁶⁾等 (1935) は *L. bulgaricus* が高温発育をする特性を利用して、*L. helveticus* と区別することを、又 Pederson²³⁾ (1936) は *L. plantarum* が 30~35°C で最適に発育すると述べているが、それ等先人の研究を基として行つた Bergey³⁾ (1948) の分類中において彼は乳酸菌の各菌種の発育至適温度を次の如く記載している。即ち homofermentatives の内 *L. caucasicus*, *L. lactis*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. bifidus*, は 37~45°C であり、*L. bulgaricus*, *L. thermophilus*, *L. delbureckii* は 45~62°C であり、*L. casei*, *L. plantarum*, *L. leichmanii* は 28~32°C であり、又、heterofermentatives の内、*L. brevis*, *L. buchneri*, *L. pastorianus* は 28~32°C であり *L. fermenti* は 35~40°C であるという。発育至適温度による分類が口腔株の分類にはこの様に信頼出来るものでないという実験結果が散見される。第一に Morris¹⁹⁾ (1953) が行つた口腔内乳酸菌分類に関する研究の中で彼の分離した菌株の好適な発育温度は全株とも 35.5~37.5°C の間であつたと報告している。Briggs⁴⁾ (1954) も発育温度は幾分変動する故、精確な分類法とするには困難であると

表 1 好 気 性 菌 株

Strain No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Lactose	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
Sucrose	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Mannitol	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Maltose	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Salicin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
Arabinose	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Raffinose	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
Inulin	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
Sorbitol	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	
Aesculin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Xylose	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
Rhamnose	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
G a s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
Final pH(1%)	4.2	4.0	4.0	4.0	4.2	3.8	3.8	4.0	4.0	4.2	4.0	4.0	4.0	3.8	4.0	3.8	3.6	4.0	3.8	4.0	4.0	3.8	4.2	3.8	
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Final pH(舊方)	6.4	6.8	6.6	6.8	6.6	6.0	6.4	6.0	6.8	6.0	6.8	6.4	6.6	6.4	6.0	6.4	6.2	6.2	6.2	6.6	6.2	6.4	6.6	6.6	
pH 9 growth	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
pH 5 growth	-	-	±	-	+	±	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
Gelatin	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
H ₂ S	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	±	+	+	-	-	-	
Neutral Red	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	
N O ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hemolysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Lactate	D	D	I	I	I					L							I				I	I	D		
Litmus Milk	AC	AC	A	A	A	ARC	ARC	A		AC	AC	AR	ARCP	ARCP	ARCP	ARCP	ARC	ARC	ARC	AC	ARC	ARC	ARC	AC	AC

Litmus Milk. A=酸産生, R=色素還元, C=カゼイン凝固, P=溶解
Lactate. L=左旋性, D=右旋性, I=不活性

云っている。

次に旋光性による分類方法であるが、Orla-Jensen²³⁾(1919)は *L. casei* の右旋性、Curran⁸⁾ 等(1933)は *L. acidophilus* の不活性、Pederson²⁵⁾(1936)は *L. plantarum* の不活性(2, 3 のものは右旋性)、*L. casei* が右旋性であると報告して居り、又、Kopeloff¹⁵⁾(1937)は *L. acidophilus* の R 型が不活性であるが S 型は右旋性であり、*L. bulgaricus* の R 型が不活性であるが、S 型がやはり右旋性であると報告している。又、Bergey³⁾(1948)は、*L. caucasicus* *L. lactis* が左旋性であり、*L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. bifidus*

が不活性又は右旋性であると記載している。又、Rogosa²⁷⁾(1953)によれば *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. pentosum*, *L. arabinosum*, *L. helveticus*, *L. bulgaricus* が不活性で、*L. casei* は右旋性であり、*L. delbrueckii*, *L. leichmanii*, *L. lactis* は左旋性であると報告している。しかし Briggs⁴⁾(1954)は、乳酸菌の分類学上、旋光度の測定は意味のあることではあるけれども、この方法は可成の時間と労力を必要とするから鑑別上にはよいが多く菌株について行うことは事実上不可能であると述べている。

次に免疫学的な分類法については Williams³³⁾

表 2 嫌 気 性 菌 株

Strain No.	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
Maltose	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
Arabinose	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Raffinose	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inulin	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Aesculin	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Gas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Final pH(1%)	4.0	4.0	4.0	3.8	4.2	3.8	4.0	4.0	4.0	4.0	4.2	3.8	4.0	4.0	4.0	4.0	3.6	4.0	3.8	3.8	4.0	4.0	3.6	4.0	4.4	4.0	4.0	4.0	3.8
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Final pH(2%)	6.4	6.0	6.6	6.6	6.6	6.2	6.4	6.2	6.2	6.8	6.6	6.6	6.6	6.8	6.2	6.4	6.2	6.2	6.4	6.4	6.6	6.6	6.2	6.2	6.0	6.4	6.8	6.8	6.0
pH 9 growth	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 5 growth	-	-	+	+	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-	-	±	+	-	-	-	+	+	-
Gelatin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Neutral Red	+	-	-	-	-	-	+	+	±	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
N O ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemolysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactate			L	I	I		I		I		D	I	L			I			I		I	I							I
Litmus Milk	AC	A	A	A	ARC	ARC	ARC	ARC	A	ARC	A	AR	AC	AC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	ARC	AC	A	A	AC	AC	ARC

Litmus Milk. A=酸産生, R=色素還元, C=カゼイン凝固, P=溶解

Lactate. L=左旋性, D=右旋性, I=不活性

(1948) が乳酸菌の抗原分析を行い A, B, C, D, の 4 つの型を分類し, Orland²⁴⁾ (1950) が更に E, F, G, H, I の 5 型を追加し 9 種類に分類した。又, 1953 年に Williams³³⁾ が B. bifidus と L. para-bifidus について広汎な血清学的研究を発表している。然しながら多くの species は以上の antigen を持っていないので, この方法も未だ完全であるとは云えない。

最後に糖の分解能による分類法は Rahe²⁶⁾ (1918) が乳酸菌 38 株について maltose, glucose, lactose sucrose, raffinose の 5 種類の糖を用いて A B,C,D の 4 型を, 続いて Bunting, Palmerlee⁵⁾

(1925) が乳酸菌 25 株について, glucose, lactose, sucrose, maltose, salicin, arabinose, raffinose, galactose, dextrin, の 14 種の糖を用いて Rahe の 4 型に更に E, F, G, の 3 型を追加して 7 型に分類し, 更に森田²⁰⁾ (1949) が齶蝕歯牙より分離した乳酸菌 30 株について, Rahe²⁶⁾ の用いた 5 種類の糖を含めて 17 種類の糖を用いて H, I, J, の 3 型を追加し結局 10 型, 8 亜型に分類した。又, Orla-Jensen と Pederson の仕事に基づいて乳酸菌の分類を行つた Bergey³⁾ (1948) は, 24 種類の糖の分解を試ており Tilden, Svec³⁰⁾ (1952) は 53 人の児童の口腔内材料より分離した乳酸菌を 10-

表 3

Rahe (1918) Bunting-Palmerlee ★田 (1945)	Bergey (1948)	Tilden-Svec (1952)	Rogosa (1953)	Morris (1953)	Davis (1955)	実験菌株	
						好気性株	嫌気性株
A (L ⁺ 型) (L-型NH)	L. bifidus			3e (L ⁺) r ⁺ 1a (L ⁻)			
C	L. delbrueckii			1a, 5f		No. 1 x ⁺	No. 25 Ax ⁺
A' (S.M.R.3)	L. bulgaricus			3a, 3b			
A	L. acidophilus	L. acidophilus	L. acidophilus	3c	L. acidophilus	No. 8 x ⁺ No. 9 x ⁺	No. 34 No. 35 A ⁺
A (L ⁺ 型) (L-型NH)	L. pastorianus ⁺			4a, 4c			
A' (R?)	L. caucasicus						
A	L. lactis			3c (Sa ⁻) R ⁺			
A' (S.M.R.?)	L. helveticus						
B (R ⁺ +A ⁺) (R-型)	L. thermophilus			3c (R ⁻) St ⁺			
C	L. leichmanii			1a (Ma ⁻)			
A (L.S.M.R.型) (L-型NH)	⑥ L. brevis	⑥ L. brevis	⑥ L. brevis	1c x ⁺ , 3d x ⁺ , 1d mx ⁺ , 3f x ⁺ , 2d x ⁺ , 3g M ⁺ , 2e x ⁺ , 1e, 3h Mx ⁺ , 2f x ⁺ , 5f Mx ⁺ , 2g x ⁺ , 5g x ⁺	⑥ L. brevis	No. 23 ⑥	No. 48 ⑥
A	⑥ L. buchneri	⑥ L. buchneri	⑥ L. buchneri	3f x ⁺ , 3e x ⁺ , 4f x ⁺ , 4d x ⁺			No. 53 ⑥
A	L. plantarum	L. plantarum	L. plantarum	3e Ma ⁺ 4a, 4d 4e M. R ⁺ 4f M. R ⁺ 5a Ma. R ⁺ 5d R ⁺	L. plantarum	No. 17 No. 18 No. 19 No. 20 No. 21 No. 22	No. 43 No. 44 No. 45 No. 46 No. 47
A	⑥ L. fermenti	⑥ L. fermenti	⑥ L. fermenti	4a Ma. I ⁺ 4c Ma ⁺ R ⁺	⑥ L. fermenti	No. 24 ⑥	No. 49 ⑥ No. 50 ⑥ No. 51 ⑥ No. 52 ⑥
B (S ⁺ 型)	L. casei	L. casei	L. casei	2a S ⁺ 2b S ⁺	L. casei	No. 12 No. 13 No. 14 x ⁺ No. 15 x ⁺ No. 16 x ⁺	No. 42 x ⁺ ⑥
C (M ⁺ 型) (M-型NH)		Lactose-nega I		1c (Sa Sa ⁺)			
H (M ⁺ 型)		Lactose-nega II		1a (Sa ⁻)			
D, E, F, G, H, I, J 型				1 型 a, b, c, d, e 類以外/ (L ⁻) 群		No. 2 No. 3 No. 4 No. 5	No. 26 No. 27 No. 28 No. 29 No. 30
				2 型 a, b, c, d, e, f, g 類以外/ (L ⁺ , S ⁻) 群		No. 6 No. 7	No. 31 No. 32 No. 33
				3 型 a, b, c, d, e, f, g, h 類以外/ (L ⁺ , S ⁺ , Ma ⁻) 群		No. 10	No. 35 No. 37
				4 型 C		No. 11	No. 39
				5 型 a, b, c, d, e, f 類以外/ (L ⁺ , S ⁺ , Ma ⁺ , Sa ⁻) 群			No. 40 No. 41
				6 型 1, 2, 3, 4 型以外/ heterogenous gr.			

A = arabinose ; L = lactose ; M = maltose ; Ma = mannitol ; S = sucrose ;

Sa = salicin ; So = sorbitol ; St = starch ; R = raffinose ; X = xylose ;

() = 型 ; ⊖ 又は ⊕ = 糖分解能の明記 ; ⊙ = heterofermentative.

種類の糖の分解能により 8 種類に分類し, Rogosa
27) (1953) はやはり口腔内材料より分離した乳酸菌
500 株を 8 種類に分類した研究において, 種々の生

物学的性状検査とともに, 22 種の糖の分解能をも
検査したのであるが, この結果彼は検査培地を充
分に注意すれば乳酸菌の分類は糖の分解能によつ

て或程度満足な結果を得ると述べている。又、Morris¹⁹⁾(1953)が口腔内材料より147株の乳酸菌を分離し17種の糖及び18種目の生物学的性状検査を行つたが、結局完全な分類が不可能であつたため、便宜的に糖の分解能に依つて次の様な分類を行つた。即ち1 group(lactose－), 2 group(lactose+, sucrose－), 3 group(lactose+, sucrose+, mannitol－), 4 group(lactose+, sucrose+, mannitol+, salicin－), 5 group(以上の内に入らないもので、生化学的に heterogenous group)と5群32型である。又、近年 Davis⁹⁾(1955)が Briggs⁴⁾の分類方式から出発して、glucoseからのガスの産生能, colony, cell type, 発育温度, arginine, hippurate, aesculin, acetoinの検査項目を主として3つの homofermentative と2つの heterofermentative に、即ち5 groupに分け、更に糖の分解能によつて各 groupに幾つかの sub-type のあることを示した。この様に新しい分類が試みられているが、しかし以上を考察して見ると、乳酸菌の分類は一応、糖の分解能に依るものが(完全ではないが)現在では比較的信頼のおける分類方法であると思われた。歴史的に見て重要であると考えられた糖の分解能による諸研究者の分類と命名結果を Bergey の命名にならつて整理一覧出来る様にし、この表を標準として本実験で得た分離菌株の同定を行う事にした(表3)。

同定の結果は表3に示された如くであるが、全分離菌株53株中既往の菌種に同定出来たものは31株であつたが残りの22株も Morris の分類型のどれかには相当したので、結局全株が同定されたと言えよう。

1) 好気性菌株24株中

a) 既往の菌種に同定されたもの16株 *L. delbrueckii* 1株(No. 1), *L. acidophilus* 2株(No. 8, 9), *L. brevis* 1株(No. 23), *L. plantarum* 6株(No. 17, 18, 19, 20, 21, 22), *L. fermenti* 1株(No. 24), *L. casei* 5株(No. 12, 13, 14, 15, 16)

b) Morris の型に分類出来たもの8株

1型4株(No. 2, 3, 4, 5), 2型2株(No. 6, 7), 3型1株(No. 10), 4型1株(No. 11)

2) 嫌気性菌株29株中

a) 既往の菌種に同定されたもの15株

L. delbrueckii 1株(No. 25), *L. acidophilus* 2株(No. 34, 35), *L. brevis* 1株(No. 48), *L. buchneri* 1株(No. 53), *L. plantarum* 5株(No. 43, 44, 45, 46, 47), *L. fermenti* 4株(No. 49, 50, 51, 52), *L. casei* 1株(No. 42)

b) Morris の型に分類出来たもの14株

1型5株(No. 26, 27, 28, 29, 30), 2型4株(No. 31, 32, 33, 38), 3型2株(No. 36, 37), 4型3株(No. 39, 40, 41)

以上の如く同定されたが、*L. casei*, *L. fermenti*, *L. plantarum* が既往の菌種に同定された大部分であるが、このことは Rogosa²⁷⁾(1953)が130名の子供の唾液中より *L. casei* 39.2%, *L. fermenti* 30.8%を分離したと報告していることと一致する。

同定された結果を考察すると、Morris の型に分類された菌株は各 group とも好気性菌株と嫌気性菌株の間に差は認められなかつた。この事実は明らかに多くの乳酸菌種は酸素に対する態度を異にする個体をもっていることを示している。しかし一方既往の菌種に同定された菌株の内 *L. casei* の大部は好気性菌株で、*L. fermenti* の大部分は嫌気性菌株の中に含まれていた。*L. fermenti* は平均以上に酸素に対し感受性が高く、嫌気性に培養して始めて集落となり得たと思われる。又、*L. casei* が嫌気性培養で得られなかつたことは、この菌種の多くの集落が酸素に抵抗強く、始めの好気性培養平板で殆んど全部の個体が集落となり、これが釣菌或は印しをつけられたために嫌気性培養平板では新しく集落を追加することにならなかつたと解釈される。この事実は酸素に対する抵抗性を異にする菌種があることを意味している。

Gale¹³⁾(1945)は arginine を ornithine とアンモニアと炭酸ガスに分解する酵素を “arginine

dihydrolase”と名付けた。そしてこの酵素は多くの streptococci や乳酸菌に発見されており、その菌株に依つてこの酵素の活性がかなり広汎に変動していることが知られている。又、此等の細菌の発育には炭酸ガスが不可欠の要素であるが、homolactic fermenter に見られるこの酵素はもともと醗酵源から炭酸ガスを産することが出来ないで、恐らくこの酵素が arginine から生じた炭酸ガスを此等の細菌に供給しているのであらうと考察しているが、L. casei が homofermentative の、また L. fermenti が heterofermentative の乳酸醗酵をすることから考えて非常に興味のある事実である。然し、Briggs⁴¹や Davis⁹の実験結果によれば、逆に homofermentative の乳酸菌の arginine 分解能は全 group と同陰性でむしろ heterofermentative の或る group が陽性の結果を示しているので、現在のところではこのことに関する完全な説明はないようである。従つて更に特別な研究を必要とすると思う。

又、Clapper⁷¹(1953)等の報告によると Caries Activity は rhamnose を分解する菌と関係があると云つてゐるが、本実験では rhamnose を分解する菌株は好気性菌株 24 株中 8 株 (No. 3, 4, 5, 7, 11, 13, 19, 20) 33%, 嫌気性菌株 29 株中 9 株 (No. 26, 27, 28, 30, 32, 41, 44, 46, 47) 31% であり共に heterofermentative type には認められなかつた。このことは、Rogosa²⁷¹(1953)の口腔内乳酸菌について行つた研究の中で heterofermentative の菌は rhamnose を分解しないと云つてゐることと一致する。

本実験結果から、好気性培養で主として発育しないのは L. fermenti で、これが L-count の好氣的培養法と嫌氣的培養法における数の差の菌種的原因と思われる。そして L. fermenti は口腔内 Lactobacillus の内多数群に属するので、Caries Activity との関係は兎に角として、L-count にはこの菌種が含まれてゐる方が希ましい事である。この意味で L-count は、嫌氣的培養法がよいと考えられる。

IV 要 約

(1) 成人 38 名の唾液から乳酸菌好気性菌株 24 株、嫌気性菌株 29 株、計 53 株を得た。主として糖分解能に基き、加えるに産生した乳酸の旋光性並びに生物学的性状検査を参考として全菌株の同定を行つた。

(2) 好気性菌株中 L. acidophilus 2 株, L. brevis 1 株, L. plantarum 6 株, L. fermenti 1 株, L. delbrueckii 1 株, L. casei 5 株, Morris の 1 型 4 株, 2 型 2 株, 3 型 1 株, 4 型 1 株で嫌気性菌株中 L. delbrueckii 1 株, L. acidophilus 2 株, L. brevis 1 株, L. buchneri 1 株, L. plantarum 5 株, L. fermenti 4 株, L. casei 1 株, Morris の 1 型 5 株, 2 型 4 株, 3 型 2 株, 4 型 3 株であつた。

(3) L. casei の大部分は好気性株に属し、L. fermenti の大部分は嫌気性株に属していた。この事から菌種間に酸素に対する抵抗性の差のある事が推定された。

(4) 両群ともに最も多く分離されたのは、L. plantarum であつた。L. acidophilus, L. plantarum, 及び Morris の 1, 2 型は、ほぼ同数であつた。この事から同一菌種の中にも酸素張力に対する態度を異にする菌株のあることを知つた。

(5) rhamnose 分解株は homofermentative type にのみ認められ、heterofermentative type に認められなかつた。

(6) 口腔内の全 Lactobacillus 菌種を数えることを目的とするならば L-count を行ふ際には嫌氣的培養とすべきであると考えられた。

稿を終るに当り、恩師清水教授の御鞭撻に深謝し、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜りました大西教授に心からの謝意を捧げると共に、種々の御援助を頂いた近藤助手並びに教室の諸兄に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Becks, H., and Foor, G.: Importance of lactobacillus acidophilus index determinations in orthodontic practice, J. D. Res. 22: 215, 1943.
- 2) Beijerinck, H.W.: 1889, 1901, 4) より引用.

- 3) Bergey's Manual of determinative bacteriology, 1948.
- 4) Briggs, M., and Briggs, C. A. E.: The lactobacilli, Dairy Sc. Ab. 16 : 252, 1954.
- 5) Bunting, R.W., and Parmerlee, F.: The role of *Bacillus acidophilus* in dental caries J.A.D.A. 12 : 381, 1925.
- 6) Burkey, L.A., Sanders, G.P., and Matheson, K. L.: 1935. 4) より引用.
- 7) Clapper, W.E., and Heatherman, M.E.: Strain differences in oral lactobacilli and the relation to dental caries, J. Bact. 58 : 261, 1949.
- 8) Curran, H. R., Rogers, L. A., and Whittier, E. O.: 1933. 4) より引用.
- 9) Davis, G. H. G., Bisset, K. A., and Hale, M. F.: Correlation between morphological and physiological characters in the classification of numbers of the genus *Lactobacillus*, J. Gen. Micro. 13 : 68, 1955.
Davis, G. H. G.: The classification of lactobacilli from the human mouth, J. Gen. Micro. 13 : 481, 1955.
- 10) 伝研編: 細菌学実習提要, 9 版, 昭 31.
- 11) von Freudenreich, E.: 1890, 1895, 1897.
4) より引用
- 12) von Freudenreich, E. and Thöni, J.: 1904
4) より引用.
- 13) Gale, E.F.: The arginine, ornithine and carbon dioxide requirements of streptococci (Lancefield group D) and their relation to arginine dihydrolase activity. The effect of sulphanilamide on the arginine and carbon dioxide requirements of streptococci (Lancefield group D), Brit. J. Exptl. Path. 26 : 225; 234, 1945.
- 14) Hadley, F. P.: A quantitative method for estimating *B. acidophilus* in saliva, J.D. Res. 13 : 415, 1933.
- 15) Kopeloff, L. M., and Kopeloff, N.: Optical activity of lactic acid produced by *L. acidophilus* and *L. bulgaricus*, J. Bact. 33 : 331 1937.
- 16) Kulp, W. L. and Rettger, L. F.: Comparative study of *L. acidophilus* and *L. bulgaricus*, J. Bact. 9 : 357, 1924.
- 17) Leichmann, G.: 1896 4) より引用.
- 18) Mcleod, J. W.: A system of bacteriology. Vol. Chop. Medical Research Council, London. cited in Oxidation-Reduction Potentials, by Hewitt, 1950.
- 19) Morris, E.O.: The bacteriology of the oral cavity, Brit. Dent. J. 11 : 259, 1953.
- 20) 森田秀夫: 軟化象牙質内より分離した乳酸桿菌について, 御茶の水学会誌 1 : 24, 1949.
- 21) 大西正男: 人齲蝕の病因に関する細菌の研究, 歯界展望 10 : 10 号, 29; 10 : 11 号, 33; 10 : 14 号, 29, 1953.
- 22) Onisi, M., and Kondo, W.: Establishing an environment for growth of aciduric bacteria in the oral cavity, J. D. Res. 35 : 599, 1956.
- 23) Orla-Jensen, S.: 1919, 1921, 1942, 1943
4) より引用。
Orla-Jensen, S., Orla-Jensen, A.D. and Winther, O.: 1935, 1936 4) より引用.
- 24) Orland, F. J.: 1950 4) より引用.
- 25) Pederson, C. S.: 1920 4) より引用。
A study of the species *Lactobacillus plantarum* (Orla-Jensen) Bergey, J. Bact. 31 : 217 1936. The relationship between *Lactobacillus acidophilus* (Moro) Holland and *Lactobacillus casei* (Orla-Jensen) Holland, J. Bact. 53 : 407, 1947.
- 26) Rahe, A.H.: The classification of the aciduric bacteria, J. Bact. 3 : 407, 1918.
- 27) Rogosa, M.: Frequency distribution of lactobacillus types in the salivas of children, J. D. Res. 29 : 658, 1950.
Species differentiation of oral lactobacilli from man including descriptions of *Lactobacillus salivarius* Nov. Spec. and *Lactobacillus cellobiosus* Nov. Spec., J. Bact. 65 : 681, 1953.
- 28) Stream, L.P.: The culture requirement of lactobacillus for the quantitative determination of the numbers present in saliva, D. Items of Interest 61 : 204, 1939.
- 29) Sullivan, H.R., Still, J.L., and Goldsworthy, N. E.: Acid-production as a basis for classifying lactobacilli from carious teeth, J. D. Res. 18 : 513, 1939.
- 30) Tilden, E. B., and Svec, M.: Further studies of a differential culture technique for estimations of acidogenic bacteria in saliva, J. D. Res. 31 : 831, 1952.
- 31) Tittsler, R. P., Geib, D. S., and Rogosa, M. Taxonomy of the genus *Lactobacillus*, with special reference to correlations of differential characteristics, J. Bact. 54 : 12, 1947.
- 23) 戸叶正雄: 口腔内の耐酸性菌数と口腔内現症との関係, 口腔病学会雑誌 23 : 93, 昭 31.
- 33) Willams, N. B.: 1948, 1953 4) より引用.
- 34) Winslow, C.E.A.: The families and genera of bacteria, J. Bact. 3 : 191, 1920.