

# 人腸管内の Normal Flora としての *Clostridium perfringens*

## 〔II〕 その $\alpha$ 毒素原性および生物学的性状

金沢大学医学部微生物学講座(主任: 西田尚紀教授)

中 川 正 明

(昭和44年 8月16日受付)

従来, *Clostridia* の Species 決定にあたり, 凝集反応は信頼されず, 主に生物学的性状によりなされるべきであるとされている<sup>11-5)</sup>. しかしそれでもなお, 同一 Species とされているものに対し, 研究者により生物学的性状の記載が異なり, 分類不可能として残るものが約30%はあるといわれている<sup>6)-8)</sup>. その中において *Cl. perfringens* は形態学的・毒素学および生物学的性状において諸家の記載が比較的一致している. しかし著者はいろいろの条件下で *Cl. perfringens* を分離しそれらの生物学的性状を検査したところ, 分離条件によりかなりの差が出て来ることを見出した.

この際, *Cl. perfringens* の同定には $\alpha$ 毒素の証明ならびにそれが $\alpha$ 抗毒素で完全に抑えられること<sup>9)</sup>が最も有益な手段となるのであるが, 石田<sup>10)</sup>および Hobbs<sup>11)</sup>は $\alpha$ 毒素産生能が分離時の加熱条件により著しく左右されることを証明し, これとても生物学的性状と同様であることを示した. すなわち, Hobbs<sup>11)</sup>は耐熱性 *Cl. perfringens* による食中毒に際し, 患者糞便を 100°C60分加熱しそれに耐えて発育した *Cl. perfringens* の $\alpha$ 毒素原性が非常に弱いものであると報告した. 一方, 石田<sup>10)</sup>は正常人糞便より *Cl. perfringens* を分離した際, 材料の加熱温度を高めるにしたがって $\alpha$ 毒素原性の低い菌が多くなり, この事は土壤を材料として行なった実験の成績<sup>12)</sup>と一致したと述べた. ただ, 土壤では非加熱分離を行ない得たのに反し, 糞便を材料とした場合は他の菌の overgrowth のために *Cl. perfringens* の直接分離が行ない難いことから, 非加熱分離の菌群について検討しなかった. 土壤を材料とした実験の結果では, 分離時の加熱温度を下げるにしたがって $\alpha$ 毒素原性の強い株が多く分離されてくるようになるが, この事をそのまま糞便についてあてはめた場合, 正常人糞便からの非加熱分

離株, すなわち正常人腸管内の normal flora としての *Cl. perfringens* はかなり $\alpha$ 毒素原性の強い菌群でしめられていることが予想された. しかし正常人腸管内にそのように強い $\alpha$ 毒素原性を持つ菌が何らの症状も表わさずに棲息し得るものであろうかという疑問も生じたので, その事について検討が望まれた.

一方, *Cl. perfringens* の生物学的性状は各成書<sup>13)</sup>~<sup>15)</sup>において一致しているとはいえ, ある種の性状は variable とされている<sup>13)</sup>. 著者はその他の一定とされている性状においても variable である事を経験したので, 糞便内の *Cl. perfringens* を対象として分離条件による生物学的性状の変化を検討することとした.

石田<sup>10)</sup>は糞便からの *Cl. perfringens* の分離に際し, 糞便の直接塗抹による非加熱分離を行なわなかったが, 著者は前報<sup>16)</sup>で述べた如く, Zeissler ブドウ糖血液寒天培地に 100  $\mu\text{g/ml}$  Kanamycin を加える事により容易に非加熱で *Cl. perfringens* を分離し得るようになったので, 加熱分離も併用し, それら分離株について $\alpha$ 毒素原性・生物学的性状を検討し, 興味ある成績を得たのでここに報告する次第である.

### 実験材料および実験方法

#### I. 被検対象

学生ならびに医学部および附属病院職員とその家族の糞便を対象とした. 対象者中に腹痛・下痢などの症状を訴えるものは全く見られなかった.

#### II. 菌分離法

加熱分離・非加熱分離(直接塗抹分離)のいずれの場合も前報<sup>16)</sup>にしたがった. 前回は行なわなかった非加熱増菌培養による分離は次の如く行なった. すなわち小指頭大の糞便を 40  $\mu\text{g/ml}$  の Streptomycin を含む 1%乳糖加肉カスブイオンに投じ, 懸濁液とした後

*Clostridium perfringens* as a Member of Normal Human Intestine Flora. [II] Its  $\alpha$ -Toxigenicity and Biological Properties. Masaaki Nakagawa, Department of Bacteriology, (Director: Prof. S. Nishida), School of Medicine, Kanazawa University.

37°C に一夜培養し、翌日その1白金耳をとり Zeisler 平板培地に拡げた。以後の操作は加熱分離と同様である。この際、Hobbs ら<sup>11)</sup>にしたがって糞便を100°C 60分加熱し、それに耐えて発育した菌を前報<sup>16)</sup>の如く糞便内耐熱性と呼ぶこととする。

### III. 生物学的性状検査

Sterne ら<sup>17)</sup>にしたがって糖酸酵培地およびゲラチン消化判定の培地を作成した。Smith<sup>13)</sup> 及び Willis<sup>14)</sup>の記載にしたがってグルコース・マルトース・ラクトース・シュクロースおよびサリシンの分解、インドール産生・硝酸塩還元・凝固卵白消化・ゲラチン分解を検査した。判定は1週間目に行ない、糖の分解か非分解かの判定は谷ら<sup>18)</sup>にしたがって BTB・MR 混合指示薬を3滴宛滴下して判定した。赤-黄色は陽性、緑-青色は陰性とした。上記指示薬の処方は次の如くである。

メチル赤	0.1g
プロムチモール青	0.2g
95%アルコール	300.0 ml
蒸溜水	200.0 ml

### IV α 毒素測定

α 毒素産生用培地として3%にプロテオースペプトンを加え、肉カスを20% (v/v) に加えた肉カスブイオンを用い、菌の接種直前に1%に果糖を加えた<sup>19)</sup>。15時間培養した菌液 0.2 ml を加えて7時間培養を行ない、その遠心上清をとって毒素測定に用いた。α 毒素の測定は Evans の法<sup>20)</sup>にしたがい、毒素液 1 ml を中和するに要する抗毒素の力価で表わした。例えば 1α-抗毒素価に相当するものを 1α-AE (Antitoxin equivalent) と表現した。用いた卵黄溶液は van Heyningen<sup>21)</sup>によって作成した。

### V. 耐熱性テスト

前報<sup>16)</sup>の如く石田の方法<sup>10)</sup>によって行なった。すなわち 10% (v/v) 肉カスブイオンに48時間培養した後、滅菌小試験管に 1 ml ずつとり 60・70・80・90・100°C 各10分間加熱した。水にて急冷後その 0.5 ml を1%乳糖加肉カスブイオンに移し、48時間の観察後に発育の有無を判定した。この際、100°C 10分の加熱に耐えた菌を糞便内耐熱性と区別するために、前報に引き続き培養耐熱性と呼ぶこととした。

## 実験結果

### I. 人腸管内 *Cl. perfringens* の α 毒素原性について

石田の実験<sup>10)</sup>においてなされなかった非加熱分離も併用し、分離条件による α 毒素原性の変化を検討すべ

く、最初に60人の糞便について分離を試みた。非加熱および 70°C 10分・100°C 10分・100°C 60分加熱して各段階より1株ずつ分離し、計106株の *Cl. perfringens* についてその α 毒素原性をしらべた。分離時の加熱条件をゆるめるにしたがってそこから分離されて来る菌の毒素原性は上り、100°C 60分の加熱によって分離された耐熱性菌 (糞便内耐熱性) はすべて無毒株であったが、70°C 10分加熱による分離株において強毒株が71%もしめるに至った。しかし、非加熱で分離するとかえって無毒株が多くなった。すなわち、非加熱分離株、換言すれば人腸管の normal flora としての *Cl. perfringens* は 70~80°C 加熱で分離されて来る菌の毒性より低い毒性をもつものであることがわかった。ただし低いといっても 1α-AE またはそれ以上の α-AE を示す株が34株中14株 (41%) をしめていた。

これら分離株の α 毒素原性と耐熱性との関係を調べたところ、表2に見られる如く 100°C 10分の加熱に耐えた菌 (培養耐熱性) はすべて無毒株であったが、80

表1 分離条件と α 毒素原性

分離条件	非加熱	70°C 10分加熱	100°C 10分加熱	100°C 60分加熱
分離株数	34	28	24	20
強毒株*	14(41)**	20(71)	9(33)	0(0)
弱毒株	12(36)	8(29)	8(38)	0(0)
無毒株	8(23)	0(0)	7(29)	20(100)

\*強毒株: 1.0 α-AE 以上の株

弱毒株: 0.2~0.9 α-AE の株

無毒株: 0.2 α-AE 未満の株

\*\*分離総株数に対する割合 (%)

表2 耐熱性テストと α 毒素原性

耐熱性	耐熱性株数	耐熱性株中の 有毒株数*
100°C 10分	22**	0 (0%)
90°C 10分	47	41 (87)
80°C 10分	18	16 (89)
70°C 10分	9	7 (78)
60°C 10分	10	7 (70)

\*有毒株: 弱毒株 (0.2~0.9 α-AE) および強毒株 (1.0 α-AE 以上) を加えたもの

\*\*各株の耐熱性は、その最高の耐熱温度をもって表わし、その温度の耐熱性株として算定した。

～90°C 耐熱性菌群で有毒株の割合が最も多く、さらに低い耐熱性を示す菌群では再び無毒株の増すことがわかった。100°C 10分の培養耐熱性を示す22株の内訳は非加熱分離株1株、100°C 10分加熱分離株4株、その他は100°C 60分の加熱によって分離されたもの(糞便内耐熱性)であった。

著者は以上の実験を人糞便の非加熱および 70°C 10分・100°C 10分・100°C 60分加熱による分離株について行なったが、非加熱分離のみ糞便を Kanamycin 100μg/ml を含む Zeissler 血液寒天培地(KM-Zeissler 培地と略)に直接塗抹して分離したのに対し、加熱分離の方は菌数が少くなっていると考え、1%乳糖加肉カスブイヨンで増菌し KM-Zeissler 培地上で分離した。この場合、非加熱分離のみが直接塗抹培養で行なわれていることにより無毒～弱毒株が多くなるのではないかと考えられたので、非加熱条件の下で各培養法を比較すべく18例の糞便材料について直接塗抹培養と増菌培養を併用し、各々の分離株のα毒素原性を測定した。表3に見る如く、直接塗抹培養に比して増菌培養では無毒株～弱毒株がかえって多く分離された。

先の実験で材料を1～2日放置しておいたものがありあったが、このように空気中に放置することは嫌気性菌である *Cl. perfringens* にとっては70°C 10分加熱程度の軽い加熱 selection と同様の効果をもつ可能性が考えられ、強毒株がより多く分離されて来るのではないかと予想された。そこでこの事を8例の糞便について次の如く検討した。すなわち、材料を排便したその日のうちに KM-Zeissler 培地に塗抹し、*Cl. perfringens* の分離を行なった。残りの材料を実験室内に4日間保存し、第2日、第4日にも同様に KM-Zeissler 培地上に1白金耳塗抹を行なった。2日後、4日後の分離に際しては乾燥していない部分を採用した。各分離実験において1検体より1～3株の *Cl. perfringens* を分離し、それらのα毒素原性を測定した。表4の如く放置により毒素原性の強い株が多く分離されて来ることが観察されたので、以後の実験においては材料より可及的速やかに分離することとした。また同一平板よりいくつかのコロニーをひらううち、毒素原性にかんがりの変動のあることもわかったので、3～4個のコロニーをひらうこととし以後の実験を進めた。

如上の非加熱分離株に加えてさらに直接塗抹培養により *Cl. perfringens* の分離を続け、総計119例から得た353株についてα毒素原性を検討した。表5に見る如く 0.9α-AE 以下の無毒～弱毒株が大部分(76%)

をしめ、2.0α-AE 以上のものはわずか6株にすぎなかった。さらにこの6株も同一人より2株以上分離された例はなく、正常人腸管内の normal flora としての *Cl. perfringens* はα毒素原性の弱いものであることがわかった。したがって先の実験で 1α-AE 以上の強毒株が41%をしめると述べたが、もし新鮮な材料を直ちにしらべれば、その率は24%にすぎないことがわかった。少くとも人腸管内の normal flora としての *Cl. perfringens* は無毒～弱毒株が大多数をしめているものと思われた。

## II. 人腸管内 *Cl. perfringens* の生物学的性状について

先の実験で *Cl. perfringens* 分離の際、材料の加熱処理温度を高くすればする程、弱いα毒素原性の菌が分離されて来ることを知ったが、加熱耐性の強い菌株を選ぶことは、もとより孢子形成力と関係しているが、この性質は毒素原性の上げかりでなく、菌の生理状態にも変化を与えているのではないかと考えて、次に分離加熱温度の変化による生物学的性状の変化を検討した。

表3 分離時の増菌培養によるα毒素原性の変化

分離条件	分株 分離数 総	分離株のα毒素原性*		
		無毒株	弱毒株	強毒株
直接塗抹培養	70	19 (27)**	21 (30)	30 (43)
増菌培養	57	6 (10)	29 (51)	22 (39)

\*分類は表1にしたがう

\*\*分離総株数に対する比(%)

表4 材料放置による分離株のα毒素原性の変化

	直後分離	2日後 分離	4日後 分離
分離株数	15	22	24
α-AE の平均値	0.573	0.622	0.800

表5 非加熱で分離した *Cl. perfringens* のα毒素原性

分離株数	α毒素原性の分布				
	≤0.4*	0.5～ 0.9	1.0～ 1.4	1.5～ 1.9	≥2.0
353	169	100	58	20	6

\*単位は α-AE

表6に見る如く、グルコース・マルトース・ラクトース・シュクロースについてはすべての株が分解し、インドール産生に関しては陰性、硝酸塩還元についてはすべて陽性となり、これら性状は成書<sup>13)-15)</sup>の記載と一致した。卵蛋白消化は陰性とされているが、分離時の加熱条件により影響を受け、加熱耐性の強い菌を選ぶにつれてそこから分離されて来る菌株の蛋白分解力は弱くなることがわかった。

一方、分離された菌を実験室に保存する際、生存力の強いもの、すなわち加熱耐性が強く蛋白分解力の弱い菌が残るものと予想されるのであるが、如上の蛋白分解力の強い菌群が保存によりどの程度に影響を受けるかを検討した。4カ月間の実験室内保存で5株中3株が蛋白分解力を失い、1株はゲラチン分解力も失った(表7)。

さらにこの操作によっても蛋白分解力を保っていた2株より加熱によって孢子形成力の強いものを選択していったところ、得られた90°C 10分加熱耐性株は共に蛋白分解力のないものとなった(表8)。

実験を進めてゆくうちに、分離時の加熱条件は蛋白分解力の検査の中でもゲラチン分解により顕著な影響を及ぼすことを知った。また糖分解力の方はサリシン分解に明瞭な差が出たので、それら2性状の変化をとくに取り出して記載した。表9に見る如く、サリシンについては分離加熱条件を高めるにしたがって分解株が多くなり、ゲラチンについては逆に分解株が少なくなることがわかった。

如上の実験は主として分離時の加熱条件による生物学的性状の変化を見たものであるが、人腸管内のnormal floraとしての*Cl. perfringens*のそれを知るために、28検体より得られた33株について糖分解なら

表6 分離条件と生物学的性状

分離加熱条件	分離菌株数	生物学的性状様式							左す欄株の数を示					
		グ	マ	ラ	シ	イ	硝	卵		ゲ				
		ル	ク	コ	ト	ク	ド	酸	蛋	ラ	チ	ン	液	化
70°C 10分	5	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
90°C 10分	5	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
100°C 10分	5	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	-	+	-	+					

表7. 保存による生物学的性状の変化

被検菌株名	検査時	生物学的性状様式												
		グ	マ	ラ	シ	イ	硝	卵	ゲ					
		ル	ク	コ	ト	ク	ド	酸	蛋	ラ	チ	ン	液	化
WF 7101	分離時	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	保存後*	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
WF 9107	分離時	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	保存後	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
WF 9108	分離時	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	保存後	+	+	+	+	-	+	-	+					
WF 9106	分離時	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	保存後	+	+	+	+	-	+	-	+					
WF 7102	分離時	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	保存後	+	+	+	+	-	+	-	-					

\*クックドミートブロスにて4カ月間室温保存

表8 加熱による生物学的性状の変化

被検菌株名	検査条件	生物学的性状様式												
		グ	マ	ラ	シ	イ	硝	卵	ゲ					
		ル	ク	コ	ト	ク	ド	酸	蛋	ラ	チ	ン	液	化
WF 7101	加熱前	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	加熱後*	+	+	+	+	-	+	-	+					
WF 9107	加熱前	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	加熱後*	+	+	+	+	-	+	-	+					

\*いずれも90°C 10分加熱耐性株を使用

表9 分離加熱条件によるサリシンおよびゲラチン分解能の変化

分離加熱条件	サリシン分解株数/被検株数	ゲラチン分解株数/被検株数
非加熱	12/71(16.9)*	66/72(91.7)
70°C 10分加熱	10/53(18.9)	47/53(88.7)
100°C 10分加熱	19/37(51.4)	19/37(51.4)
100°C 60分加熱	19/27(70.4)	10/26(38.5)

\*被検株数に対する分解株数の割合(%)

びにその他の性状を検討した。糖分解ではグルコース・マルトース・ラクトース・シュクロースに全く変化がないことがわかっていたので省略し、*Bergey's Manual*<sup>15)</sup>にその分解能の有無を記載されてある糖類について検討した(表10)。嫌気性菌分類の成書<sup>13)-15)</sup>にはキシロース(+)-凝固卵白消化(-)-ゲラチン分解(+)-となり、サリシンについては稀に分解するとされているが、キシロース分解陽性の菌株は全くなく、凝固卵白消化・ゲラチン分解についてもそれらの成書と全く一致するとは限らなかった。

表10. 非加熱で分離した *Cl. perfringens* の生物学的性状

分離総株数	生物学的性状							
	マニニット	キシロース	ラフィノース	サリシン	インドール産生	硝酸塩還元	卵蛋白消化	ゲラチン分解
33	0*	0	31	3	0	33	2	27

\*各反応が陽性となった株数

### 考 察

以上の実験より著者は人腸管内の *normal flora* としての *Cl. perfringens* の  $\alpha$  毒素原性、すなわち非加熱分離株の  $\alpha$  毒素原性は 70°C 10分加熱により分離された菌群より低いものであることを知った。この結果は石田の土壤について行なった報告<sup>12)</sup>と異なるものとなったが、この差違は分離の対象となった糞便と土壤の還境の差に帰せられるものであろう。

Price ら<sup>22)</sup> は 154例の糞便より 200株の *Cl. perfringens* を分離してその  $\alpha$  毒素原性を調べ、大部分が 0.02~0.5  $\alpha$ -AE を有すると報告した。この値は著者の 0.05~0.9  $\alpha$ -AE より低いのであるが、著者は西田ら<sup>19)</sup>により充分吟味された  $\alpha$  毒素産生用の培地を用いているために全体として高い値が出たものと思われる。*Cl. perfringens* 食中毒の病因論においてこの  $\alpha$  毒素が問題とされたことはなく、一般に無関係とされている。しかし著者は唯 1例のみであるが下痢・腹痛を訴える患者において、分離された 8株すべてが 2.0  $\alpha$ -AE またはそれ以上の  $\alpha$  毒素原性を示したことを経験した。この症例では糞便内の *Cl. perfringens* 菌数を測定しなかったが、前報<sup>16)</sup>で述べた如く、この

場合も糞便内菌数が重要な意味を持つであろう<sup>23)</sup>。

一方、生物学的性状については、分離時の加熱条件によって種々の性状を示すものが分離されてくることを知った。さらに分離菌の保存によっても性状が異なってくるより考え、これらの条件はいずれも生存力の強い株を選択しているものと考えられよう。それら分離時の選択を受けない菌、すなわち人腸管をしめている *Cl. perfringens* はサリシン分解力は弱く、蛋白分解力の強い菌群であった。著者は 5種の糖についてその分解力の有無を検討したにすぎないが、サリシン分解に関しては、直接塗抹により分離された菌群より 100°C 60分の加熱によって分離された菌群の反応力が著しく強かった。さらに 100°C 60分の加熱分離菌群はサリシンのみならず、ソルビトール・フラクトース・ガラクトース・ラフィノースに対して非加熱分離菌群より決定的に反応力が強いことを著者の同僚が証明しており<sup>24)</sup>、このような一連の現象が著者の述べたサリシン分解と関係があるものと思われる。

Mansson ら<sup>25)</sup> は高蛋白食を与えたブタから *Cl. perfringens* を 35株分離し、それらは蛋白消化能の強いこと、およびサリシン分解が見られることより *atypical strain* であるとしている。*Bergey's Manual*<sup>15)</sup>にはサリシン分解株は稀であると述べているが、著者はそれら生物学的性状は一定したものではなく、耐熱性と共に分解株の割合も変化することを示した。したがって *Cl. perfringens* を同定する際、その基準とされている(1)生物学的性状、(2)コロニー性状とその緑化および周囲の溶血反応、(3)Nagler 培地上のレンチナーゼ反応とその抗血清による抑制のうち(3)のレンチナーゼ反応が最も信頼のおける同定法と考えられる。

### 結 論

人糞便より非加熱および種々の温度で加熱を行なって *Cl. perfringens* を分離し、それらの  $\alpha$  毒素原性および生物学的諸性状を調べた結果を得た。

1. 人腸管内に *normal flora* として見られる *Cl. perfringens* の大部分は  $\alpha$  毒素原性が低く 0.9  $\alpha$ -AE 以下のものが 76% をしめている。

2. 糞便の加熱による分離菌株については、70°C 10分の加熱で分離された菌群には高い  $\alpha$  毒素原性を持つ菌株が多く、さらに加熱条件を強めるにしたがって  $\alpha$  毒素原性の低い株が多くなり、100°C 60分の加熱により分離されて来る菌はすべて無毒株であった。

3. 人腸管内の *normal flora* としての *Cl. perfringens* は蛋白分解力が強く、糖分解力は弱いもの

であったが、分離加熱条件を強めるにしたがって逆に蛋白分解力が弱く、糖分解力は強い菌株が多く分離されて来た。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導御校閲を賜った恩師西田尚紀教授に衷心より感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) **Smith, L. Ds.** : Introduction to the Pathogenic Anaerobes, p. 18, Chicago, University of Chicago Press, 1955.
- 2) **Oakley, C. L.** : J. Appl. Bact., **19**, 112 (1956).
- 3) **Oakley, C. L.** : Microbial Classification, (Ed. by Ainsworth & Sneath), p. 244, Cambridge, Cambridge University Press, 1962.
- 4) **Zeissler, J.** : Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen, 3 Aufl., **10**, 35, Gustav Fischer, Jena, 1930.
- 5) **Willis, A. T.** : Anaerobic Bacteriology in Clinical Medicine, p. 63, London, Butterworth, 1964.
- 6) 高木哲郎 : 岐阜医大紀, **8**, 1763 (1960).
- 7) **Beerens, H., Luchemble, G. et Papavasilion** : Ann. Inst. Pasteur de Lille, **8**, 150 (1951).
- 8) **Narayan, K. G.** : Zbl. Bakt. (I. Abt. Orig.), **202**, 212 (1967).
- 9) **Willis, A. T. & Hobbs, G.** : J. Path. Bact., **75**, 299 (1958).
- 10) 石田勝一 : 十全医会誌, **69**, 67 (1963).
- 11) **Hobbs, B. C., Smith, M. E., Oakley, C. L., Warrack, G. H. & Cruickshank, J. C.** : J. Hyg. (Camb.), **51**, 75 (1953).
- 12) 石田勝一 : 十全医会誌, **69**, 61 (1963).
- 13) **Smith, L. Ds.** : Introduction to the Pathogenic Anaerobes, p. 22, Chicago, University of Chicago Press, 1955.
- 14) **Willis, A. T.** : Anaerobic Bacteriology in Clinical Medicine, p. 58, London, Butterworth, 1964.
- 15) **Breed, R. S., Murray, E. G. D. & Smith, N. R.** : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed., p. 666, Baltimore, Williams & Wilkins, 1957.
- 16) 中川正明 : 十全医会誌, 投稿中.
- 17) **Sterne, M. & van Heyningen, W. E.** : Bacterial and Mycotic Infection of Man, 4th Ed., 545, Philadelphia, Lippincott, 1965.
- 18) 谷 友次 : 医学微生物学, 第5版, 354頁, 東京, 南山堂, 1955.
- 19) **Nishida, S., Murakami, M. & Yamagishi, T.** : Jap. J. Microbiol., **6**, 33 (1962).
- 20) **Evans, D. G.** : J. Path. Bact., **57**, 75 (1945).
- 21) **van Heyningen, W. E.** : Biochem. J., **35**, 1246 (1941).
- 22) **Price, D. J. E. & Shooter, R. A.** : Brit. Med. J., 1176 (1964).
- 23) **Sutton, R. G. A. & Hobbs, B. C.** : J. Hyg. (Camb.), **66**, 135 (1968).
- 24) 瀬尾永樹・中村信一・西田尚紀 : 未発表.
- 25) **Mansson, I. & Smith, L. Ds.** : Acta Path. Microbiol. Scand., **55**, 342 (1962).

### A b s t r a c t

*Clostridium perfringens* were isolated from normal human feces samples which were preheated at different temperatures as well as from unheated samples and their  $\alpha$ -toxigenicity and biological properties were investigated. Most of the *C. perfringens* strains as a member of normal human intestine flora exhibited low toxigenicities of 0.9  $\alpha$ -AE or less. The average  $\alpha$ -toxigenicity of a group of the strains recovered from samples heated at 70°C for 10 min. was higher than those of any other groups. No strains recovered from samples heated at 100°C for 60 min. exhibited any higher  $\alpha$ -toxigenicity than 0.1  $\alpha$ -AE, a critical boundary for in vivo virulence. Further studies disclosed that strains isolated from unheated samples were more proteolytic but less saccharolytic than strains recovered from heated samples. A majority of strains isolated from samples heated at 100°C for 60 min. fermented salicin and inactive against 10% gelatin. None of the strains examined attacked xylose. The description on this sugar in Bergey's Manual, therefore, should be amended.