

抗酸菌による Acetamide の利用ならびに Acetamide  
を N 源としての炭水化物利用に関する研究

東 村 道 雄・水 野 松 司

国立療養所中部病院 (院長 勝沼六郎博士)

東 村 純 雄

名古屋大学医学部細菌学教室 (主任 小笠原一夫教授)

受付 昭和 41 年 12 月 24 日

STUDIES ON THE UTILIZATION OF ACETAMIDE BY  
MYCOBACTERIA AND ON THE UTILIZATION  
OF CARBOHYDRATES IN PRESENCE OF  
ACETAMIDE AS NITROGEN SOURCE\*

Michio TSUKAMURA, Shoji MIZUNO and Sumio TSUKAMURA

(Received for publication December 24, 1966)

Since Long reported that a few rapid-growing mycobacteria decomposed amino acids utilizing as both nitrogen and carbon sources, ammoniacal nitrogen compounds were used as nitrogen source for the studies on the utilization of carbohydrates by mycobacteria. Such studies on the carbohydrate utilization contributed to only a limited extent to the differentiation of slow-growing mycobacteria. It seems now to be required that such studies are made using nitrogen compounds other than ammoniacal ones as nitrogen source. The present paper reports on the utilization of carbohydrates in presence of acetamide as nitrogen source.

Methods

The following medium was used as a basic medium: Acetamide, 2.0 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0.5 g; purified agar, 20.0 g; distilled water, 1,000 ml. To this medium, each of the following carbohydrates was added at a concentration shown in parentheses (g/l): Glucose (10.0 g), fructose (10.0 g), sucrose (10.0 g), acetate (2.7 g), citrate (5.6 g), succinate (5.4 g), malate (3.8 g), pyruvate (2.2 g), malonate (2.5 g), and fumarate (3.0 g) (the concentration of sodium salt of organic acids was ca. 0.02 M). The medium was adjusted to pH 7.0 by addition of 10% KOH, poured in 8 ml amounts into tubes, and sterilized by autoclaving at 115°C for 30 minutes (Sugar media were sterilized by heating at 100°C for 15 minutes 2 days). After slanting, the medium was inoculated with a loop (outside diameter: 3.5 mm; inside diameter: 2.0 mm) with each of the stock cultures of 330 strains. The medium was stoppered with rubber cap and incubated at 37°C. The growth of slow-growing mycobacteria was read, comparing with the growth on control medium without carbohydrate, after 4 weeks incubation, the growth of *M. thermoresistibile* after 3 weeks incubation, and the growth of rapid-growing mycobacteria after 2 weeks incubation.

\* From the National Sanatorium, Chubu Chest Hospital, Obu, Chita-gun, Aichi-ken, Japan

## Results

### *Grouping of Mycobacteria by the Utilization of Acetamide*

The test mycobacteria were grouped into three groups according to their pattern of utilization of acetamide (Tables 1 and 2). Group I: *M. tuberculosis*, *M. bovis* and *M. marinum* (a new species recently found by us, *M. novum*, and one strain of *M. microti* also entered this group). This group cannot utilize acetamide even in the presence of carbohydrates including glycerol; Group II: *M. kansasii*, *M. terrae*, *M. avium*, scotochromogens (Runyon's group II), nonphotochromogens (Runyon's group III), *M. thermoresistibile*, and a portion of *M. fortuitum*. This group utilizes acetamide in the presence of carbohydrates (some strains utilize it only in the presence of glycerol), although they cannot utilize it in the absence of carbohydrates; Group III: A major part of *M. fortuitum*, *M. phlei* and *M. smegmatis*. This group does utilize acetamide even in the absence of carbohydrate (acetamide is utilized as both nitrogen and carbon sources).

In other words, group I cannot utilize carbohydrates in the presence of acetamide as sole nitrogen source, and groups II and III utilize carbohydrates in the presence of acetamide as sole nitrogen source.

### *Patterns of Utilization of Carbohydrates by M. kansasii, M. terrae, M. avium, Scotochromogens and Nonphotochromogens in Presence of Acetamide as sole Nitrogen Source.*

Within the group II, patterns of the utilization of carbohydrates by *M. kansasii*, *M. terrae*, *M. avium*, the scotochromogens and the nonphotochromogens resembled each other and were differentiated from those of other mycobacteria, suggesting that the above five mycobacteria be closely related to each other so far observed from the phase of the utilization of carbohydrates in the presence of acetamide (Tables 3 to 7).

### *Pattern of the Utilization of Carbohydrates by M. fortuitum in the Presence of Acetamide as Sole Nitrogen Source.*

One hundred strains of *M. fortuitum* were divided into three subgroups by the pattern of the utilization of carbohydrates in the presence of acetamide as sole nitrogen source. The **a** group grew utilizing acetamide as both nitrogen and carbon sources (utilized acetamide without carbohydrate). The **b** group utilized acetamide only in the presence of carbohydrates. The **c** group did not utilize acetamide even in the presence of carbohydrates other than glycerol (Table 8).

The subgroup **a** belonged to group III and the subgroups **b** and **c** belonged to group II.

抗酸菌による炭水化物利用の研究は古くから多くの研究者によつて行なわれた<sup>1)~6)</sup>。しかし Merrill<sup>3)</sup>以降の研究はN源としてNH<sub>4</sub>-N源を使用して行なわれ、Bergey's Manual<sup>6)</sup>にも ammoniacal nitrogen の存在下でと記されている。この理由は、2, 3のアミノ酸が rapid-growing mycobacteria (速発育性抗酸菌)によつて分解され、N源としてのみならず、C源としても利用されるという Long<sup>1)</sup>の報告に基づいている。しかしNH<sub>4</sub>-N源存在下での炭水化物の利用は速発育性抗酸菌の区別に役立つとも、slow-growing mycobacteria (遅発育性抗酸菌)の区別にはあまり役立つまい<sup>4)~6)</sup>。したがつて遅発育性抗酸菌の区分に炭水化物の利用を役立たせるには、NH<sub>4</sub>

化合物以外の化合物をN源として使用し検討してみる必要があろう。この目的でわれわれはまず glutamate をN源とした場合の遅発育性抗酸菌の炭水化物利用について研究し、この方法が "*Mycobacterium avium*-group" の細分に有効なことを認めた<sup>7)</sup>。われわれが次に注目したのは acetamide である。Bönicke<sup>8)</sup>の研究によると acetamidase は多くの速発育性抗酸菌には認められるが、遅発育性抗酸菌には認められず、いわば key point となる化合物の一つと考えられたからである。一方われわれの実験によれば acetamide は glycerol 存在下で大部分の遅発育性抗酸菌によつてもN源として利用されるので、この物質と種々の炭水化物の組合せについて研究す

るのも価値あることと思われた (glycerol と種々の N 化合物の組合せについては別報する)。

### 実験方法

菌株。使用菌株は計 330 株で次のとおりである。*M. tuberculosis* (10 株), H<sub>37</sub>Rv, H<sub>37</sub>Ra, 青山 B, Frankfurt, H<sub>37</sub>Rv-SM 耐性, H<sub>37</sub>Rv-INH 耐性, H<sub>37</sub>Rv-PAS 耐性, 青山 B-SM 耐性, 青山 B-INH 耐性, 青山 B-PAS 耐性; *M. bovis* (5 株), Ravenel, D-4, BCG, 三輪, 伝研; *M. marinum* (6 株), Ross, B 916, B 913, PL, ピシ, L-17; *M. kansasii* (10 株), P-1, P-16, P-18, P-21, P-24, Forbes-84, Bostrom-D-35, 永井, 加藤, 永井英; *M. terrae*<sup>9)10)</sup> (29 株), 1711-1730, 301, 315, 317, 318, 329, 338, 348, 361, 362; *M. avium* (14 株), A 71, 3717, 4110, 4121, 11755, Kirchberg, Flamingo, Nagoya-59, 獣疫, Sheard, Av-59 A 479, SA-16, W-297, W-300; Scotochromogens (Runyon's group II) (22 株), P-5, P-6, 石井, 長島, 久保田, 中川, 大久保, 有我, 後藤, 高橋, 江崎, 渡辺, 伊藤, 松本, 小松, 早稲田, 青木, 深谷, 森島, 鈴木(七), 荒谷, 富永; Nonphotochromogens (Runyon's group III) (47 株), N 100616, N 121326, P-40, P-41, P-42, P-48, P-51, P-54, 市原, 齊藤 (NJ-24), 飯島, 鈴木(与), 蒲生, 上田, 長谷川, 新倉, 田上, 宗石, 岩井, 齊藤 (NJ-18), 山木, 岡山, 齊藤 (NJ-16), 初野, 南沢, 橋本, 嶋本, 寺井, 白樫, 田中(吉), 結解, 金指, 大成, 三井 (NJ-14), 松原, 須原, 酒谷, 外山, 田中茂, 黒沢, 近岡, 内田, 福島, 富田, 大野, 若松 No. 1, 千吉良 No. 174; *M. thermoresistibile*<sup>11)</sup> (39 株), NCTC 10409, 1001~1038; *M. phlei* (19 株), SN 102~SN 110, 5, Wa 40, Wa 60, Wa 366, Wa 289, Trudeau, SP-11, CDC, 九大, 伝研; *M. fortuitum* subsp. *runyonii* (5 株), 380, 481, 518, 山本, 佐藤 (380, 481, 518 の 3 株の原命名は *M. runyonii*; 命名変更の理由は東村<sup>12)</sup> 参照); *M. fortuitum* (100 株), 302, 306, 308, 313, 330, 334, 335, 1701~1710, 1301~1310, NCTC 1542, R 520, R 720, R 963, ATCC 11440, ATCC 14467, R 395, R 478, R 490, R 596, R 681, R 820, R 965, R 967, R 1028, R 1202, R 1208, NCTC 946, R 12, R 13, R 48, R 448, R 449, R 640, R 644, R 645, R 646, R 723, R 945, R 962, R 1025, R 1206, R 1277, 1261~1300; *M. smegmatis* (24 株), SN 1~SN 10, Wa 63, Wa 290, Wa 236, Wa 237, Wa 402, R-1102, R-1103, CDC, SP-9, Trudeau, 竹尾, 獣調, 伝研, 九大。

菌株は 1% 小川培地に保存し, slow-growing mycobacteria (遅発育性抗酸菌) は 3~4 週培養のものを, rapid-growing mycobacteria (速発育性抗酸菌) は 2 週培養のものを接種に用いた。接種には外径 3.5 mm,

内径 2.0 mm の白金耳を用い, 培地の菌に軽くふれた後に新鮮培地に塗抹接種した。

被検培地の構成は次のごとくである。Acetamide, 2.0 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.5 g; 精製寒天 (和光または栄研); 蒸留水, 1,000 ml。これに次の 10 種の炭水化物の中の 1 つを次の割合に添加した。Glucose 10.0 g/l; Fructose 10.0 g/l; Sucrose 10.0 g/l; Acetate 2.7 g/l; Citerate 5.6 g/l; Succinate 5.4 g/l; Malate 3.8 g/l; Pyruvate 2.2 g/l; Malonate 2.5 g/l; Fumarate 3.0 g/l (糖は 1%, 有機酸 Na 塩は約 0.02 M)。すなわち上記 10 種の C 源を含む培地と, C 源を含まない対照培地を加えて, 11 種の培地を 1 組とした。各培地の pH は, 10% KOH で 7.0 に修正し, 試験管 (170×18 mm) に 8 ml ずつ分注し, 115°C 30 分蒸気滅菌した後斜面とした。ただし糖を含む 3 培地は 100°C 15 分 2 日間の間欠滅菌を施行した。11 本 1 組の培地に各被検株を塗抹接種した後, ゴム栓を施し 37°C に培養した。遅発育抗酸菌 (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. marinum*, *M. kansasii*, *M. terrae*, *M. avium*, scotochromogens, nonphotochromogens) は 4 週後に, 中間型の *M. thermoresistibile* は 3 週後に, 速発育抗酸菌 (*M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*) は 2 週後に発育の有無を判定した。判定にさいしては対照培地の発育と比較したが, 遅発育抗酸菌と *M. thermoresistibile* とは対照培地に全く発育を示さなかつた。一方速発育抗酸菌の *M. phlei*, *M. smegmatis* と *M. fortuitum* のあるものは対照培地に発育を示した。*M. fortuitum* には対照培地に発育するものと発育しないものがあつたが, この差は明確で判定に迷うことはなかつた。この対照培地に発育する場合は, acetamide がすでに N 源のみならず C 源としても利用されているわけで, 被検の 10 種の炭水化物の利用の有無は分からないのであるが, 一応全部利用したものと判定した。以下炭水化物の利用または acetamide の利用という場合は, 概炭水化物を C 源として発育が起こつたこと, または acetamide を N 源として発育が起こつたことを意味する。実験は全株 3 回施行し, 2 または 3 回同じ結果を得た成績を記載した。

Acetamidase は Bönicke<sup>6)</sup> の方法で検した。ただし培養時間は 16 時間とした。

### 実験成績および考察

Acetamide を N 源とした場合の 10 種炭水化物利用パターンによる抗酸菌の群別。

Acetamide を N 源としたときの 10 種の炭水化物利用を 330 株の被検株について検討した成績を一括すれば表 1 のごとくである。

この成績から抗酸菌を表 2 の 3 群に大別することができる。

Table 1. Utilization of Carbohydrates by Mycobacteria in Presence of Acetamide as Sole Nitrogen Source

	Number of strains tested	Number of strains showing positive growth on a medium containing										
		G	F	S	A	C	Si	M	P	Mo	Fa	Co. nt*
<i>M. tuberculosis</i>	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. bovis</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. marinum</i>	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. kansasii</i>	10	10	7	0	8	0	4	0	10	0	0	0
<i>M. terrae</i>	29	0	0	0	17	0	0	0	13	0	0	0
<i>M. avium</i>	14	3	2	0	9	0	3	0	8	0	0	0
Scotochromogens	22	14	6	0	16	0	12	0	18	0	10	0
Nonphotochromogens	47	34	28	0	47	0	35	0	47	0	0	0
<i>M. thermoresistibile</i>	39	7	0	0	36	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. runyonii</i> ‡	5	5	5	1	5	0	3	3	5	0	1	0
<i>M. fortuitum</i>	100	84	84	69	84	68	84	83	84	68	74	68
<i>M. phlei</i>	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
<i>M. smegmatis</i>	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24

Abbreviation: G=glucose, F=fructose, S=sucrose, A=acetate, C=citrate, Si=succinate, M=malate, P=pyruvate, Mo=malonate, Fa=fumarate.

‡ This seems at present to be named as *M. fortuitum* subsp. *runyonii*.

\* Control medium without carbohydrate.

The growth of slow-growing mycobacteria (the upper part) was read after 4 weeks incubation, that of *M. thermoresistibile* after 3 weeks incubation, and that of rapid-growing mycobacteria (the low part) after 2 weeks incubation.

Table 2. Grouping of Mycobacteria by Utilization of Acetamide as Nitrogen Source

Group	Species	Number of strains tested	Number of strains	
			Acetamidase-positive	Acetamidase-negative
I	<i>M. tuberculosis</i>	10	0	10
	<i>M. bovis</i>	5	0	5
	<i>M. marinum</i>	6	0	6
II	<i>M. kansasii</i>	10	0	10
	<i>M. terrae</i>	29	0	29
	<i>M. avium</i>	14	0	14
	Scotochromogens	22	0	22
	Nonphotochromogens	47	0	47
	<i>M. thermoresistibile</i>	39	0	39
	<i>M. runyonii</i> (see table 1)	5	1	4
<i>M. fortuitum</i>	32	18	14	
III	<i>M. fortuitum</i>	68	68	0
	<i>M. phlei</i>	19	6	13
	<i>M. smegmatis</i>	24	24	0

Group I does not utilize acetamide even in the presence of carbohydrates including glycerol.

Group II does not utilize acetamide in the absence of carbohydrate but does utilize it in the presence of carbohydrates (10 of 29 of *M. terrae* utilized acetamide only in the presence of glycerol, and 16 of *M. fortuitum* and a few strains of other species also behaved similarly).

Group III can utilize acetamide in the absence of carbohydrate and grows utilizing acetamide as simultaneous nitrogen and carbon source.

第I群: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. marinum*。このほか最近われわれが発見した新菌種 *M. novum* もこの群に入る(未発表成績)。また、被検株が1株だけであるため表に入れなかつたが、*M. microti* もこの群に入る。この群の菌は上記10種の炭水化物のいずれをも acetamide をN源として利用できないのみならず、glycerol も利用できない。つまり acetamide とどの炭水化物を組み合わせても発育できない。換言すれば、いかなる炭水化物を添加しても acetamide をN源として利用できないともいえる(表1, 2)。

第II群: *M. kansasii*, *M. terrae*, *M. avium*, scotochromogens, nonphotochromogens, *M. thermoresistibile* および *M. fortuitum* の一部(*M. fortuitum* subsp. *runyonii* もこれに入る)。この群の菌は acetamide をN源として glucose, fructose, acetate, pyruvate, さらに一部の菌は succinate も利用する。換言すれば炭水化物なしでは acetamide を利用できないが、上記の炭水化物があれば、acetamide をN源として利用できる(表1, 2)。

第III群: *M. fortuitum* の大部分, *M. phlei* および *M. smegmatis*。炭水化物がなくても acetamide を利用できる。acetamide は同時にN源とも、またC源ともなる(表1, 2)。

第I群と第II群とでは大部分の菌株が acetamidase 陰性であり、第III群の菌は大部分 acetamidase 陽性であるが、必ずそうばかりではない。*M. fortuitum* の一部のごとく、acetamidase 陽性でも acetamide を同時にNC源として利用できないものもあるし、一方では *M. phlei* のごとく acetamidase 陰性でも acetamide を分解してN源およびC源として利用するものもある。したがって acetamide が炭水化物の存在なしで分解され、N源およびC源として、利用される過程は必ずしも

acetamidase によつて媒介されるものとは思えない。とくに *M. phlei* による acetamide の利用過程には acetamidase は関係していないのではないと思われる。

*M. kansasii*, *M. terrae*, *M. avium*, *scotochromogens* および *nonphotochromogens* による炭水化物利用のパタン。

表1に示す成績から acetamide をN源とした場合の炭水化物利用のパタンは, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. marinum* (上記3者はすべての炭水化物を利用しない), *M. thermoresistibile* (acetateのみ利用), *M. fortuitum* subsp. *runyonii* (glucose, fructose, acetate, succinate, malate および pyruvate を利用する。ただし例外的に「481」株は sucrose を, 山本株は fumarate を利用し, 「481」株と「518」株は succinate と malate を利用しない), *M. phlei* および *M. smegmatis* (この2者は全炭水化物を利用する) では明瞭であるが, その他の菌種では表1の成績のみによつては詳細が分からないので, 表3~10に個々の成績を示す。

表3ないし表7の成績から *M. kansasii*, *M. terrae*, *M. avium*, *scotochromogens* および *nonphotochromogens* は他抗酸菌に比較しておおよそ類似する成績を示し, この間の区別を本報の方法によつて行なうことは困難である。すなわち acetamide をN源とした場合の炭

Table 3. Utilization of Carbohydrates by *M. kansasii* in the Presence of Acetamide as Sole Nitrogen Source

Type	Number of strains	Growth on a medium containing									
		G	F	S	A	C	Si	M	P	Mo	Fa
a	1	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+
b	3	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
c	2	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
d	1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
e	2	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
f	1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Type a: Bostrom-D-35; Type b: Forbes-84, P-16, P-18; Type c: P-21, P-24; Type d: Nagai (PJ-1); Type e: Nagai-H (NJ-11), Kato; Type f: P-1.

Table 4. Utilization of Carbohydrates by *M. terrae* in the Presence of Acetamide as Sole Nitrogen Source

Type	Number of strains	Growth on a medium containing									
		G	F	S	A	C	Si	M	P	Mo	Fa
a	11	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
b	6	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
c	2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
d	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Type a: NCTC 10424, ATCC 19531, ATCC 19532, 1713, 1718, 1719, 1722, 1725, 1726, 1730, 329; Type b: 1715, 1723, 1728, 301, 315, 338; Type c: 1714, 1724; Type d: 1712, 1726, 1717, 1720, 1727, 1729, 318, 348, 361, 362.

Table 5. Utilization of Carbohydrates by *M. avium* in the Presence of Acetamide as Sole Nitrogen Source

Type	Number of strains	Growth on a medium containing									
		G	F	S	A	C	Si	M	P	Mo	Fa
a	1	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
b	1	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
c	1	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
d	1	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
e	4	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
f	1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
g	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Type a: Flamingo; Type b: Kirchberg; Type c: Sheard; Type d: Av 59 A 479; Type e: 4110, 4121, 11755, Jueki; Type f: 3717; Type g: A 71, Nagoya-59, SA-16, W-297, W-300.

Table 6. Utilization of Carbohydrates by *Scotochromogens* in the Presence of Acetamide as Sole Nitrogen Source

Type	Number of strains	Growth on a medium containing									
		G	F	S	A	C	Si	M	P	Mo	Fa
a	5	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+
b	4	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
c	1	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
d	2	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
e	1	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+
f	2	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
g	1	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
h	3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
i	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Type a: Nagashima, Kubota, Okubo, Matsumoto, Tomimaga; Type b: P-5, P-6 Aruga, Aoki; Type c: Nakagawa; Type d: Ishii, Goto; Type e: Morishima; Type f: Takahashi, Komatsu; Type g: Ezaki; Type h: Watanabe, Suzuki-S, Aratani; Type i: Ito, Waseda, Fukaya.

Table 7. Utilization of Carbohydrates by *Nonphotochromogens* in the Presence of Acetamide as Sole Nitrogen Source

Type	Number of strains	Growth on a medium containing									
		G	F	S	A	C	Si	M	P	Mo	Fa
a	28	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
b	2	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
c	4	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
d	5	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
e	8	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-

Type a: Ichihara, Ueda, Hasegawa, Niikura, Iwai, Saito (NJ-18), Yamaki, Saito (NJ-16), Hatsuno, Minamisawa, Hashimoto, Shimamoto, Terai, Shirokashi, Tanaka-Y, Kekka, Kanayubi, Onari, Matsubara, Suhara, Sakatani, Toyama, Chikaoka, Uchida, N 121326, Chikira No. 174, Wakamatsu No. 1, Tomida; Type b: Tanaka-S, N 100616; Type c: Tagami, Kurosawa, P-40, P-42; Type d: Suzuki-Y, Okayama, Mitsui (NJ-14), P-48, P-51; Type e: Saito (NJ-24), Iijima, Gamoh, Munaishi, P-41, P-54, Ohno (SJ-4), Fukushima (SJ-11).

Table 8. Utilization of Carbohydrates by *M. fortuitum* in the Presence of Acetamide as Sole Nitrogen Source

Type	Number of strains	Growth on a medium containing										Number of strains showing positive acetamidase
		G	F	S	A	C	Si	M	P	Mo	Fa	
a	68	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	68
b	16	+	+	-	+	-	+	+	+	-	±	11
c	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7

Type a (utilizes acetamide without carbohydrate) : 302, 313, 330, 334, 335, 1262-1310, 1701-1710, NCTC 1542, R 520, R 720, R 963; Type b (utilizes acetamide in the presence of carbohydrates) : 306\*, 308, 1261, ATCC 11440\*, ATCC 14467\*, R 395, R 478, R 490\*, R 596, R 681, R 820, R 965, R 967, R 1028, R 1202\*, R 1208; Type c (does not utilize acetamide even in the presence of carbohydrates except for glycerol) : NCTC 946, R 12\*, R 13\*, R 48\*, R 448, R 449\*, R 640\*, R 644\*, R 645, R 646\*, R 723\*, R 945\*, R 962, R 1025, R 1206, R 1277.

\* lacked acetamidase.

水化物の利用パターンという面からみれば、上記5者は互いに類似性が高いといえる。またこのパターンからみれば、*M. kansasii*, *M. avium*, *scotochromogens* のパターンにはかなりバラツキがあるのに、*M. terrae* と nonphotochromogens は比較的少数の型にまとめられる(表3~7)。

東村, 東村<sup>7)</sup>は前に glutamate を N 源としたさいの炭水化物利用パターンから、nonphotochromogens を A, B, C の3型に分けたが、この型と本報で示した a~e の型とは関連性があるごとく思われた。すなわち A 型のものには c, d, e 型が多いのに、B 型および C 型のものは大部分が a 型を示した。

*M. fortuitum* は 100 株について検討したが、acetamide を N 源としての炭水化物の利用パターンは 3 型に分類できた(表8)。すなわち (a) acetamide を炭水化物なしで分解し利用できるもので、68 株がこれに属し、全株が acetamidase 陽性である。(b) 炭水化物なしでは acetamide を利用できないが、glucose, fructose, acetate, succinate, malate, pyruvate (および fumarate) のいずれかが存在すれば、acetamide を N 源として利用できるもので、被検 100 株中 16 株がこれに属した。acetamidase は陽性のものと陰性のものがある。表示してないが subspecies *runyonii* はこの型に入る(表1参照)。(c) 上記 10 種の炭水化物のいずれを添加しても acetamide を N 源として利用できないもので、被検 100 株中 16 株がこの型に属した。ただし glycerol が存在すれば acetamide を N 源として利用できる。この点が前述の *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. marinum*, *M. novum*, *M. microti* と異なる。後の 5 者は glycerol があつても acetamide を N 源として利用できない。

### 結 論

抗酸菌 330 株について acetamide を N 源とした場合の 10 種炭水化物 (glucose, fructose, sucrose, acetate, citrate, succinate, malate, pyruvate, malonate, fumarate) の発育への利用を観察し、次の結論を得た。

1) acetamide を N 源としたときの 10 種炭水化物の利用により、抗酸菌を 3 群に大別できた。第 I 群; *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. marinum* (上記 10 種の炭水化物および glycerol のいずれを添加しても acetamide を利用できない); 第 II 群; *M. kansasii*, *M. terrae*, *M. avium*, *scotochromogens*, nonphotochromogens, *M. thermoresistibile*, *M. fortuitum* の一部 (炭水化物なしでは acetamide を利用できないが、上記 10 種の炭水化物のいずれかの添加によつて acetamide を利用できる); 第 III 群; *M. fortuitum* の大部分, *M. phlei*, *M. smegmatis* (炭水化物を添加しなくても acetamide を分解し、これを同時に N 源および C 源として利用できる)。

2) acetamide を N 源としたときの 10 種炭水化物の利用パターンでは、*M. kansasii*, *M. terrae*, *M. avium*, *scotochromogens*, nonphotochromogens は互いに類似性が高く、他の抗酸菌と区別された。このパターンにより上記 5 者の間を区別することは困難であつた。

3) *M. fortuitum* はこのパターンにより 3 型に区分された。

### 文 献

- 1) Long, E. R. : Amer. Rev. Tuberc. 5 : 857, 1922.
- 2) Kondo, S. : Biochem. Z. 153 : 302, 1924.
- 3) Merrill, M. H. : J. Bact. 21 : 361, 1931.
- 4) Gordon, R. E. & Mihm, J. M. : J. Gen. Microbiol. 21 : 736, 1959.
- 5) Bojalil, L. F., Cerbón, J. & Trujillo, A. : J. Gen. Microbiol., 28 : 333, 1962.
- 6) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed., edited by R. S. Breed, E. G. D. Murray & N. R. Smith, Williams & Wilkins, Baltimore, U. S. A., p. 694, 1957.
- 7) 東村道雄・東村純雄 : 医学と生物学, 72 : 342, 1966.
- 8) Bönicke, R. ; Bull. Union Internat. Tuberc., 32 : 13, 1962.
- 9) 東村道雄 : 医学と生物学, 71 : 110, 1965.
- 10) 東村道雄 : 医学と生物学, 72 : 292, 1966.
- 11) 東村道雄 : 医学と生物学, 72 : 187, 1966.
- 12) 東村道雄 : 医学と生物学, 73 : 27, 1966.