

## 今村賞受賞記念講演

## 抗酸菌の分類と命名

東村道雄

国立療養所中部病院

受付 昭和52年5月2日

Commemorative Lecture of Receiving Imamura Memorial Prize

## CLASSIFICATION AND NOMENCLATURE OF MYCOBACTERIA

Michio TSUKAMURA\*

(Received for publication May 2, 1977)

## 1. Numerical classification of mycobacteria

The numerical classification introduced to the field of microbiology by Sneath was first applied by Bojalil and his associates to the study of mycobacteria. However, the number of characters used by them remained 30. It was much less than 50 which were considered as appropriate to obtain reliable results (Sneath; Lockhart). The present author carried out numerical classification first using a large number of characters. As the result of this study, the genus *Mycobacterium* was divided into two subgenera, which approximately corresponded to slowly growing mycobacteria and rapidly growing mycobacteria. The subgenera were divided by the following characters: (1) growth rate; (2) tolerance to picric acid; (3) tolerance to nitrite; (4) ~ (6) utilization of succinate, malate and fumarate as sole carbon source.

According to the results of our studies, the following taxa were regarded as independent species:

A. Slowly growing mycobacteria. *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. gastri*, *M. simiae*, *M. asiaticum*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* complex, *M. nonchromogenicum*, *M. triviale*, *M. shimoidei*, *M. szulgai*.

B. Rapidly growing mycobacteria. *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* (*M. chelonae* subsp. *chelonae*), *M. abscessus* (*M. chelonae* subsp. *abscessus*), *M. thermoresistibile*, *M. vaccae*, *M. chitae*, *M. parafortuitum*, *M. rhodesiae*, *M. obuense*, *M. agri*, *M. aichiense*, *M. chubuense*, *M. gilvum*, *M. duvalii*.

Among the above, *M. nonchromogenicum*, *M. thermoresistibile*, *M. chitae*, *M. parafortuitum*, *M. obuense*, *M. rhodesiae*, *M. agri*, *M. shimoidei*, *M. chubuense* and *M. aichiense* were proposed by Tsukamura or Tsukamura and his associates. *M. szulgai* was proposed by Marks, Jenkins and Tsukamura in 1972.

## 2. Tests useful for differentiation among mycobacteria

(1) Tests useful for differentiation of *M. tuberculosis* and *M. bovis* from other mycobacteria:

(a) salicylate medium, (b) para-nitrobenzoic acid medium.

(2) Tests useful for differentiation between slowly growing and rapidly growing mycobacteria:

(a) picric acid (0.2%) - Sauton agar, (b) nitrite (0.1%) - Sauton agar.

\* From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

(3) Test useful for differentiation between pathogenic and non-pathogenic species of Group II and Group III mycobacteria: ethambutol (5 $\mu$ g/ml)-Ogawa egg medium.

(4) Tests useful for differentiation of *M. fortuitum*, *M. chelonae* and *M. abscessus* from other mycobacteria: (a) PAS degradation test, (b) salicylate degradation test.

(5) NH<sub>2</sub>OH·HCl-Ogawa egg medium (0.125, 0.25 and 0.5 mg/ml).

(a) No growth at 45°C and growth on NH<sub>2</sub>OH (0.5 mg/ml) show that the test strains belong to either *M. fortuitum*, *M. chelonae* or *M. abscessus*. Hence, all pathogenic ones of Group IV are distinguished by these characters.

(b) *M. xenopi* and *M. gastri* of Group III are susceptible to 0.25 mg/ml NH<sub>2</sub>OH, whereas *M. avium* complex and *M. nonchromogenicum* complex are resistant to this.

(c) *M. kansasii* is susceptible to 0.25 mg/ml whereas *M. marinum* is resistant to it.

### 1. 計数分類法 (numerical classification) による抗酸菌の分類と命名

1957年に Sneath は、各性状を等価とみなして菌株間の性状の類似度を比較する方法で、微生物の分類を行なう方法を発表した。抗酸菌の分野で、最も早く、この方法を用いたのは、Bojalil et al. (1962) であつたが、使用した性状数は30で、理論的に必要とされる性状数50以上(Sneath, Sokal & Sneath, Lockhart)には達しなかつた。著者および協同研究者は、この有効性状を満足する条件で、抗酸菌では、初めて計数分類法を行なつた(1966)<sup>1)</sup>。これは、微生物全部に関しても、日本では最初であつた。

ひき続き行なわれた一連の研究で、抗酸菌の分類は、かなりの進歩をとげた。著者が得た結論の概要は次のごとくである。

#### (1) 抗酸菌の亜属の設定

抗酸菌は、その発育速度によつて、遅発育性抗酸菌 (slowly growing mycobacteria) と迅速発育性抗酸菌 (rapidly growing mycobacteria) に2大別されていたが、著者の研究によれば、この2群は、単に発育速度だけでなく、次の性状によつても分けられることがわかつた<sup>12)</sup>。すなわちピクリン酸耐性、NaNO<sub>2</sub> 耐性、コハク酸、リンゴ酸、フマル酸のC源としての利用能で、前者は(-)、後者は(+)の性状を示す。この結果に基づき、著者は、抗酸菌を2亜属に分けることを提唱した<sup>2)</sup>。

(2) 遅発育抗酸菌では、次の菌種が独立した菌種と認められる<sup>13)</sup>。*Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. simiae*, *M. gastri*, *M. asiaticum*, *M. szulgai*, *M. gordonae*, *M. shimoidei*, *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* complex, *M. nonchromogenicum*, *M. triviale*, *M. xenopi*.

(3) 迅速発育性抗酸菌では、次の菌種が、独立した菌種と認められる<sup>14)5)</sup>。*M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*(*M. chelonae* subsp. *chelonae*),

*M. abscessus*(*M. chelonae* subsp. *abscessus*), *M. chitae*, *M. vaccae*, *M. flavescens*, *M. thermoresistibile*, *M. parafortuitum*, *M. obuense*, *M. rhodesiae*, *M. gilvum*, *M. duvalii*, *M. aichiense*, *M. chubuense*, *M. agri*.

#### (4) 新菌種の命名

以上の菌種の中で、著者の関係したものは *M. nonchromogenicum*, *M. thermoresistibile*, *M. parafortuitum*, *M. chitae*, *M. obuense*, *M. agri*, *M. rhodesiae*, *M. aichiense*, *M. chubuense* および *M. shimoidei* である。

この中で、*M. nonchromogenicum* Tsukamura (1965) は、すでに国際的に承認され、Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 第8版 (1974) に掲載されている。また、*M. thermoresistibile*, *M. chitae*, *M. parafortuitum* も、最近の斎藤肇教授を班長とする国際共同研究で承認の運びとなつた。

Group II の病原菌 *M. szulgai* Marks, Jenkins & Tsukamura (1972) も、米国その他で追試され、ほぼ承認の運びとなりつつある。

### 2. 計数分類法の理論

計数分類法で、(1)各性状を等価とみなす理論的根拠、(2)いかなる性状を選択すべきか、(3)いくつの有効性状を用いば、信頼すべき結果が得られるかの問題は、この方法の生死に関する重要な問題である。これについては、Sneath, Sokal & Sneath の論文があるが、著者も微力ながら、この問題の理論づけに努力してきた。ここでは詳細を述べないのので、文献をあげるにとどめる<sup>16)~8)</sup>。また、菌種の記載に有用な方法として、“hypothetical mean organism” の提唱も行なつた<sup>9)</sup>。

### 3. 抗酸菌の分類・同定に有用な性状

(1) 結核菌を他の抗酸菌から区別する方法。(a) サリチル酸培地(SS 培地)<sup>10)</sup>、(b) パラニトロ安息香酸培地(PNB 培地)<sup>11)</sup>。結核菌は、これらの培地に発育しない

が、他の抗酸菌は発育する。したがって、「非定型抗酸菌」の screening に便利な方法である。PNB 培地は、英国および日本で実用化されている。

(2) 遅発育抗酸菌と迅速発育抗酸菌を区別する方法。

(a) ピクリン酸培地 (0.2%)<sup>12)</sup>。(b) NaNO<sub>2</sub> 培地 (0.1%)<sup>13)</sup>。前者は発育(-)、後者は発育(+ )である。この両者を発育速度だけで区別することは誤りが起こりやすい。したがって、これらの培地を使用して、同定の第一歩を確実なものとしなければならない。

(3) Group II および Group III 抗酸菌の病原菌種と非病原菌種を区別する方法。(a) エタンプトール培地 (EB 5μg/ml)<sup>14)15)</sup>。前者は発育(+), 後者は(-)。

(4) *M. fortuitum* (大部分), *M. chelonci* および *M. abscessus* を他の抗酸菌から区別する方法。(a) PAS 分解試験<sup>16)17)</sup>, (b) サリチル酸分解試験<sup>16)17)</sup>。これらの菌種は、PAS (0.2%) 含有小川培地に接種すると、培地を真黒にする。Sodium salicylate (0.1%) 含有 Sauton 寒天でも、同じ現象がみられる。

(5) NH<sub>2</sub>OH 培地<sup>18)</sup>。小川培地に NH<sub>2</sub>OH·HCl を 125, 250, 500μg/ml に含有させた培地で、種々の菌種の区別に有用である。Group IV で、45°C 発育(-), NH<sub>2</sub>OH 500μg/ml 耐性の菌は、*M. fortuitum*, *M. chelonci*, *M. abscessus* の病原性3菌種に限る。Group III では、*M. xenopi* および *M. gastri* が NH<sub>2</sub>OH 250μg/ml 感性、他の菌種は耐性 (通常 500μg/ml にも耐性)。Group I では、*M. kansasii* は NH<sub>2</sub>OH 250μg/ml 感性、*M. marinum* は耐性。

(6) *M. kansasii* の光合成によつて生成する色素は

β-carotene および lycopene、特に前者が主であることを決定した。この光合成には酸素が必要なことも報告した<sup>19)</sup>。

## 文 献

- 1) Tsukamura, M.: J. Gen. Microbiol., 45 : 253, 1966.
- 2) Tsukamura, M.: Tubercle, 48 : 311, 1967.
- 3) Tsukamura, M.: Int. J. Syst. Bacteriol., 26 : 409, 1976.
- 4) Tsukamura, M.: Int. J. Syst. Bacteriol., 25 : 329, 1975.
- 5) Tsukamura, M. and Mizuno, S.: J. Gen. Microbiol., 98 : 311, 1977.
- 6) Tsukamura, M.: Jap. J. Microbiol., 11 : 213, 1967.
- 7) Tsukamura, M.: J. Gen. Microbiol., 95 : 207, 1976.
- 8) Tsukamura, M.: Jap. J. Microbiol., 20 : 357, 1976.
- 9) Tsukamura, M. & Mizuno, S.: Jap. J. Microbiol., 12 : 371, 1968.
- 10) Tsukamura, M.: Amer. Rev. Resp. Dis., 86 : 81, 1962.
- 11) Tsukamura, M. & Tsukamura, S.: Tubercle, 45 : 64, 1964.
- 12) Tsukamura, M.: Amer. Rev. Resp. Dis., 92 : 491, 1965.
- 13) Tsukamura, M. & Tsukamura, S.: Amer. Rev. Resp. Dis., 98 : 505, 1968.
- 14) Tsukamura, M.: Tubercle, 50 : 51, 1969.
- 15) 東村道雄: 結核, 45 : 237, 1970.
- 16) Tsukamura, M.: Jap. J. Tuberc., 9 : 70, 1961.
- 17) Tsukamura, M.: J. Gen. Microbiol., 41 : 317, 1965.
- 18) Tsukamura, M.: J. Bacteriol., 90 : 556, 1965.
- 19) Tsukamura, M.: J. Biochem., 51 : 169, 1962.