

原 著

Mycobacterium tuberculosis, *M. africanum*, *M. bovis*
および *M. microti* の関係についての計数分類学的解析

東 村 道 雄・水 野 松 司・村 田 浩

国立療養所中部病院

受付 昭和 54 年 7 月 13 日

NUMERICAL ANALYSIS OF RELATIONSHIPS AMONG *MYCOBACTERIUM*
TUBERCULOSIS, *M. AFRICANUM*, *M. BOVIS*, AND *M. MICROTI*

Michio TSUKAMURA*, Shoji MIZUNO and Hiroshi MURATA

(Received for publication July 13, 1979)

A numerical analysis using 88 characters was carried out on 40 strains received as *Mycobacterium tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, and *M. microti* (Tables 1 and 2). The clustering was made by single-linkage method. The results showed that all 40 strains formed a cluster at a level of 95% of the matching coefficient (Fig. 1). Within this cluster, a subcluster consisting of *M. tuberculosis* strains, a subcluster consisting of *M. africanum* strains and *M. bovis* strains, and a subcluster consisting of *M. microti* strains could be distinguished, but a considerable number of *M. bovis* strains did not belong to any subcluster. The results obtained in the study supported Tsukamura's proposal that *M. tuberculosis* and *M. bovis* should be combined into one species, *M. tuberculosis*, the present names of the taxa being reduced to two subspecies, subsp. *tuberculosis* and subsp. *bovis* (Tsukamura, M.: Tubercle, 48: 311, 1967).

In view of the results, *M. africanum* is considered to be a variety of *M. bovis*. *M. microti* is closely related to *M. bovis*, but it is differentiated from *M. bovis* by its positive niacin production and positive nicotinamidase and pyrazinamidase activities (Tables 3 and 4).

(The authors express their appreciation to Prof. H.H. Kleeberg, Tuberculosis Research Institute, Pretoria, South Africa, for his kind supply of many strains used in the present study and for his permission of the publication of the study, in which his strains have been used.)

緒 言

Mycobacterium tuberculosis Lehmann and Neumann (1896)¹⁾, *M. bovis* Bergey et al. (1934)²⁾ および *M. microti* Reed (1957)³⁾ は互いに近縁関係をもつ菌種と考えられている⁴⁾。最近 Castets et al.⁵⁾ は、アフリカ人の結核患者から分離した抗酸菌が、*M. tuberculosis* と *M. bovis* の中間的性状を示すことを報告し、これを *M.*

tuberculosis の African type としたが、まもなく、これを *M. africanum* Castets, Rist and Boisvert (1969)⁶⁾ と命名した。Runyon, Wayne and Kubica⁷⁾ は、これを独立の菌種として承認し、Bergey's Manual 第8版(1974)に集載した。したがって、現在は“TB-complex”として、*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti* および *M. africanum* の4菌種の名があげられている。この中で、最も興味深いのは、*M. africanum* の分類学的位置である。*M. afri-*

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

canum の名は、上述のごとく Bergey's Manual 第8版に掲載されているが、これは同書の genus *Mycobacterium* の項を諸述した Runyon など⁷⁾の個人的意見とみなすべきで、必ずしも一般に公認された見解とはいえないであろう。Stanford and Grange⁸⁾ は免疫学的研究の結果から、上記4菌種を同一菌種 *M. tuberculosis* とすべきであると述べている。また、最近 David et al.⁹⁾ は、*M. tuberculosis*, *M. bovis* および *M. africanum* の菌株を用いて計数分類学的解析を行ない、*M. africanum* が *M. tuberculosis* と *M. bovis* の中間的性状を示すとともに、この3者が判然とした clusters に分かれなかつたと報告し、*M. africanum* を独立菌種とすることに否定的な見解を示した。われわれは今回、“TB-complex”の4菌種に属する菌株の解析研究を行なつた結果、*M. africanum* は *M. bovis* の a variety であるという結論に達したので、これを報告する。

実験材料および方法

使用した菌株は表1に示した。また検査した性状数は88で、表2に示した。検査方法を書いた文献は前報¹⁰⁾に示してある。

計数分類法 計数分類法の原理に従つて、各性状を等価とみなし、性状の検査結果を+、- (1または0)と表現し、matching coefficient (M value) を計算した。2菌株の M value は次式で計算した。

$$M(\%) = \{n_s / (n_s + n_d)\} \times 100\%$$

ここに、 n_s は2株の間で同一符号(+または-)を示した性状数、 n_d は異なる符号(+-)を示した性状数である。

使用菌株相互間の M values は、NEAC 2200, model 250 B, computer で計算し、single linkage 法¹¹⁾によつて dendrogram を作つた。

菌種相互間の関係の計数的解析法 各菌種について、Liston, Wiebe and Colwell¹²⁾の方法により“hypothetical median organism (HMO)”を作り、4菌種の HMO に対する各菌株の M value を計算した。各菌種の占める dimension は、先報の Tsukamura¹³⁾の方法により、 $(\bar{x} \pm 1.7s)$ とした。ここに、 \bar{x} は各菌種に属する菌株の HMO に対する M values の平均値、 s は、その標準偏差である。菌種 A の HMO に対して、菌種 A の菌株の M values を測定した場合、 $(\bar{x}_A - 1.7s_A)$ より上の領域には、A の菌株の95%が含まれる。菌種 A の HMO に対して、菌種 B の菌株の M values を測定した場合は、 $(\bar{x}_B + 1.7s_B)$ より下の領域には、B の菌株の95%が含まれる。したがつて2菌種の比較で、 $(\bar{x}_A - 1.7s_A) > (\bar{x}_B + 1.7s_B)$ の関係が証明できれば、この2つの菌種は5%以下の overlap をもつこととなり、明瞭に区別しえる2つの独立菌種といえる。この方法は、文献13)にはじめて発

表し、次いで文献14, 15)に理論的根拠を説明した。

この検査は、菌種 A の HMO に対してと、菌種 B の HMO に対してと、2通りに行なえるから、双方の HMO について overlap が示された場合は、その2菌種は明瞭には分離できないことになる。

実験結果

“TB-complex”の菌株相互間の関係を dendrogram として示す (Fig. 1)。研究に使用した全菌株は、M value 95%で1つの cluster を形成し、85%の線で他の遅発育性抗酸菌(注)とつながつた。この大きい cluster の中で、*M. tuberculosis* の9株は判然とした subcluster を形成する。*M. microti* も *M. tuberculosis* ほどではないが、不明瞭ながら subcluster を形成しているようにみえる。これに対して、*M. bovis* と *M. africanum* とは判然と分離できない(注。本研究は、元来、他の遅発育性抗酸菌とともに1973年に実施した。この中の TB-complex の菌株の大部分は Dr. H.H. Kleeberg, Tuberculosis Research Institute, Pretoria, South Africa から1972年に受取つた。TB-complex の菌株は International Working Group for Mycobacterial Taxonomy (IWGMT) の共同研究のためのものであつた。ところが、IWGMT の共同研究の報告が1973年に Dr. Kleeberg により Group 内の非公式会合で発表された後、正式には原著論文とはなつていない。そのため、われわれは、1976年に、TB-complex の部分を除外して、「遅発育性抗酸菌の計数分類学的研究」¹⁰⁾として発表した。今回、TB-complex 菌株について、Dr. Kleeberg および IWGMT の general secretary の Dr. L.G. Wayne の了承を得たので、本報告を発表することにした。したがつて、本報の Fig. 1 の85%の矢印は、前報¹⁰⁾の TB-complex 部につながる)。

次に *M. tuberculosis* の HMO に対する *M. tuberculosis* 自身の M value 平均値は、 $(99.11 \pm 0.93)\%$ で、*M. tuberculosis* の dimension の下限 $(\bar{x} - 1.7s)$ は、 $(99.11 - 1.7 \times 0.93)\% = 97.53\%$ と計算される。これに対して、*M. tuberculosis* の HMO に対する他の菌種の M value 平均値は、*M. africanum* $(93.27 \pm 1.35)\%$ 、*M. bovis* $(90.33 \pm 1.97)\%$ 、*M. microti* $(92.67 \pm 1.21)\%$ で、これらの菌種の dimension の上限 $(\bar{x} + 1.7s)$ は、それぞれ 95.57%, 93.68%, 94.73%であつて、*M. tuberculosis* の下限97.53%より低い。したがつて *M. tuberculosis* の dimension は、他の菌種の dimension と overlap を示さない。したがつて *M. tuberculosis* は、他の菌種と区別されると考えてよい(表3)。

同様に、*M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti* の HMO に対して菌種間の overlap の有無をしらべていくと、*M. tuberculosis* だけは他のいずれとも overlap がなない。*M. microti* は、*M. microti* の HMO に対して検定

Table 1. Strains Used in the Present Study

Species name as received	Strain No.	Source	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	05001	H37Rv; S. Ata	
	05002	Aoyama-B; S. Ata	
	E 6383	TC 1; H. H. Kleeberg	
	E 6384	TC 5; H. H. Kleeberg	
	E 6385	TC 6; H. H. Kleeberg	
	E 6387	TC 9; H. H. Kleeberg	
	E 6394*	TC 21; H. H. Kleeberg	
	E 6661	TC 13; H. H. Kleeberg	
	E 6662	TC 15; H. H. Kleeberg	
	E 7193	M. Tsukamura	
	<i>Mycobacterium africanum</i>	E 6393	TC 20; H. H. Kleeberg
		E 6549	TC 41; H. H. Kleeberg
		E 6554	TC 57; H. H. Kleeberg
		E 6558	TC 67; H. H. Kleeberg
E 6560		TC 73; H. H. Kleeberg	
E 6664		TC 37; H. H. Kleeberg	
E 6565		TC 88; H. H. Kleeberg	
E 6567		TC 93; H. H. Kleeberg	
E 6683		TC 74; H. H. Kleeberg	
E 6689		TC 84; H. H. Kleeberg	
<i>Mycobacterium bovis</i>	06001	Ravenel; K. Shoji	
	06002	Denken; K. Konno	
	E 6386	TC 7; H. H. Kleeberg	
	E 6388	TC 11; H. H. Kleeberg	
	E 6396	TC 24; H. H. Kleeberg	
	E 6402	TC 30; H. H. Kleeberg	
	E 6537	TC 3; H. H. Kleeberg	
	E 6541**	TC 18; H. H. Kleeberg	
	E 6544	TC 34; H. H. Kleeberg	
	E 6771	TC 51; H. H. Kleeberg	
	E 6675	TC 58; H. H. Kleeberg	
	E 6678	TC 65; H. H. Kleeberg	
	E 6689	TC 83; H. H. Kleeberg	
	<i>Mycobacterium microti</i>	E 6392	TC 19; H. H. Kleeberg
		E 6398	TC 26; H. H. Kleeberg
E 6400		TC 28; H. H. Kleeberg	
E 6668		TC 48; H. H. Kleeberg	
E 6677		TC 62; H. H. Kleeberg	
E 6691		TC 89; H. H. Kleeberg	

* This strain did not appear as *M. tuberculosis* (See Fig.1).

** This strain did not seem to belong to *M. bovis* (See Fig.1).

S. Ata, Nagoya University, Nagoya.

H. H. Kleeberg, Tuberculosis Research Institute, Pretoria, South Africa.

K. Shoji, Osaka University, Osaka.

K. Konno, Tohoku University, Sendai.

すると、*M. africanum* および *M. bovis* と overlap があるが *M. africanum* および *M. bovis* の HMO に対して検定すると overlap がない。したがって一応、独立の菌種としてよいと思われる。これに対して、*M. africanum* と

M. bovis とは、*M. tuberculosis* および *M. microti* とは分離できるが、*M. bovis* と *M. africanum* 相互間では、2方向の検定でともに overlap があつて互いに分離できない(表3)。なお以上の検定では、*M. tuberculosis* として

Table 2. Characters Used for the Study of Strains

1. Strong acid-fastness	45. Growth at 45°C
2. Weak or partial acid-fastness	46. Growth at 52°C
3. Presence of rod forms	47. Glucose as C source
4. Clumping of bacillary forms	48. D-Mannose as C source
5. Fragmenting mycelium	49. Sucrose as C source
6. Permanent mycelium	50. n-Propanol as C source
7. Rough colonies	51. n-Butanol as C source
8. Pigmented colonies in dark	52. iso-Butanol as C source
9. Photochromogenicity	53. Propylene glycol as C source
10. Growth after 3 days	54. D-Galactose as C source
11. Tolerance to 0.1% NaNO ₂ (Sauton agar)	55. L-Arabinose as C source
12. Tolerance to 0.2% picric acid (Sauton agar)	56. D-Xylose as C source
13. Resistance to rifampicin (25 µg/ml)	57. L-Rhamnose as C source
14. Resistance to 0.2% p-aminosalicylate	58. Trehalose as C source
15. Resistance to NH ₂ OH·HCl (125 µg/ml)	59. Inositol as C source
16. Resistance to NH ₂ OH·HCl (250 µg/ml)	60. Minnitol as C source
17. Resistance to NH ₂ OH·HCl (500 µg/ml)	61. Sorbitol as C source
18. Resistance to thiophene-2-carboxylic acid hydrazide (10 µg/ml)	62. Acetate as C source
19. Resistance to 0.5 mg/ml salicylate	63. Citrate as C source
20. Resistance to 0.5 mg/ml p-nitrobenzoic acid	64. Succinate as C source
21. Niacin production	65. Malate as C source
22. Tween hydrolysis (at 7 days)	66. Pyruvate as C source
23. Tween hydrolysis (at 14 days)	67. Benzoate as C source
24. α-Esterase	68. Malonate as C source
25. β-Esterase	69. Fumarate as C source
26. Acid phosphatase (simple method, 3 hours)	70. Acid from glucose
27. Catalase (semiquantitative)	71. Acid from D-mannose
28. β-Galactosidase	72. Glucose as C source (glutamate-N)
29. Nitrate reduction (Method of Tsukamura, 24 hours)	73. Acetate as C source (glutamate-N)
30. Three day-arylsulfatase	74. Succinate as C source (glutamate-N)
31. Two week-arylsulfatase	75. Pyruvate as C source (glutamate-N)
32. Salicylate degradation	76. Growth on Sauton agar
33. p-Aminosalicylate degradation	77. L-Glutamate as simultaneous C and N sources
34. Acetamidase	78. L-Serine as simultaneous C and N sources
35. Benzamidase	79. D-Glucosamine hydrochloride as simultaneous C and N sources
36. Urease	80. Acetamide as simultaneous C and N sources
37. Isonicotinamidase	81. Benzamide as simultaneous C and N sources
38. Nicotinamidase	82. Monoethanolamine as simultaneous C and N sources
39. Pyrazinamidase	83. Trimethylene diamine as simultaneous C and N sources
40. Salicylamidase	84. Benzamide as N source
41. Allantoinase	85. Nicotinamide as N source
42. Succinamidase	86. Nitrate as N source
43. Growth at 28°C	87. Nitrite as N source
44. Growth at 37°C	88. Resistance to ethambutol (5 µg/ml)

The methods used are described in "Identification of Mycobacteria", by M. Tsukamura, a publication of the Research Laboratory of the National Chuba Hospital, Obu, Aichi 474, Japan, p.1-75, 1975.

Unless noted otherwise, utilization of carbohydrates was tested in the presence of ammoniacal nitrogen (No.47 to No.69).

Unless noted otherwise, the tolerance and resistance tests were carried out in the Ogawa egg medium.

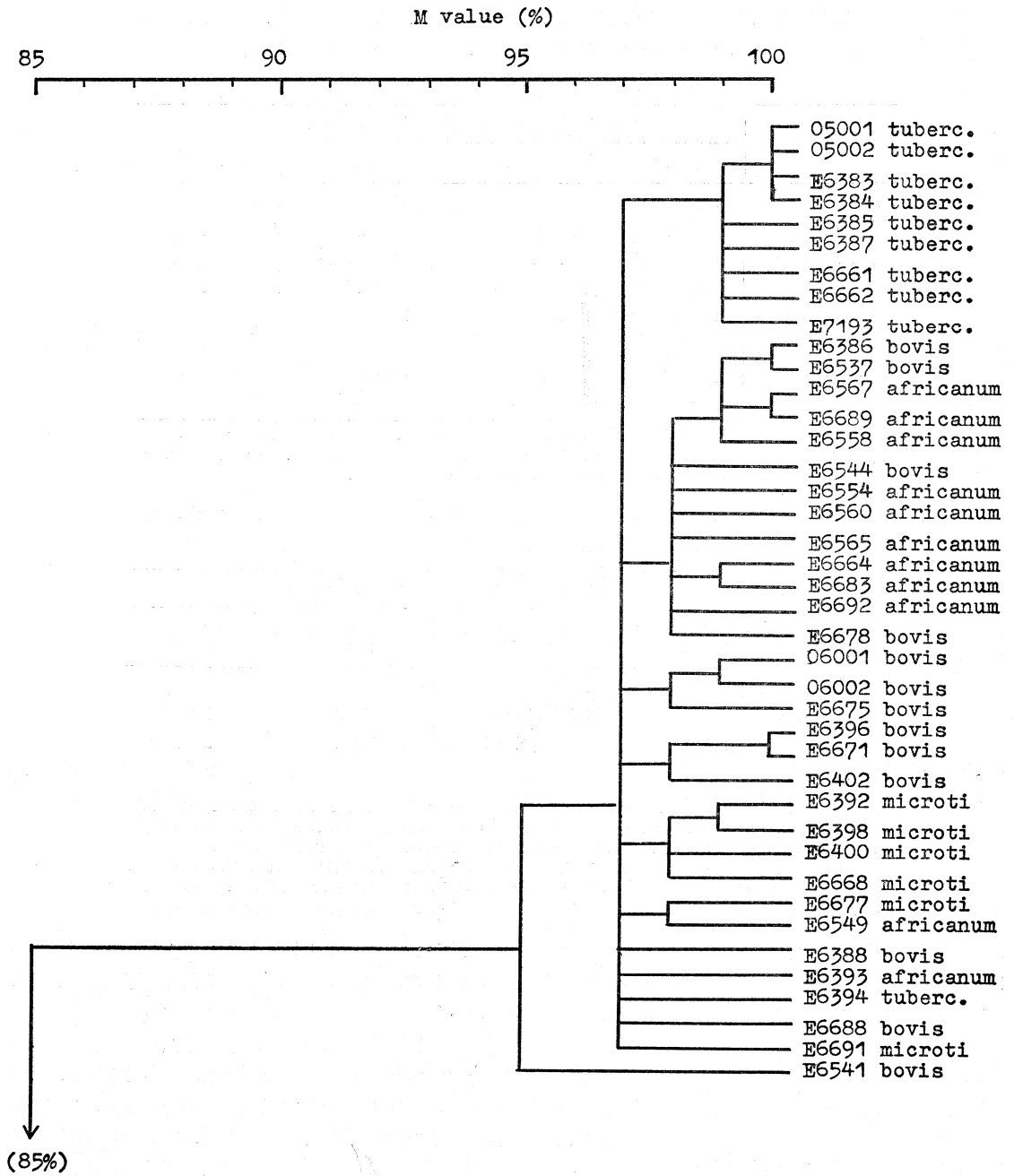


Fig. 1. Dendrogram.

受取つたが outsider と思われる E 6394 と, *M. bovis* として受取つたが, 同じく outsider と思われる E 6541 は除外した。

前に *M. tuberculosis* の HMO に対する *M. tuberculosis* 自身の M values の分布の下限を97.53%としたが, 小数点以下を切り上げて98%以上の範囲に入る菌株をみると, *M. tuberculosis* 自身の9株は, 9株全部がこの範囲に入るが, 他の菌種で, この範囲に入るものはない。これ

に対して, *M. africanum* HMO に対する *M. africanum* 自身の M values の分布の下限は95%である。そして *M. africanum* の11株中10株が, この範囲に入る。そして *M. bovis* 12株中8株も, この範囲の M values を示し, この8株は *M. africanum* と区別できない。逆に *M. bovis* の HMO についても, *M. bovis* の下限以上に入る菌株は, *M. bovis* 12株中11株, *M. africanum* 11株中7株であつて, この面でも *M. bovis* と *M. africanum* を区別でき

Table 3. M values of Strains of *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, and *M. microti* to the Hypothetical Median Organism (HMO) of the Species and Their Standard Deviations

Species	Mean of M values of strains to the HMO of:			
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. africanum</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. microti</i>
<i>M. tuberculosis</i> n=9	99.11±0.93 (97.53)	92.33±0.87 (93.81)	91.22±0.83 (92.63)	91.44±0.73 (92.68)
<i>M. africanum</i> n=11	93.27±1.35 (95.57)	97.36±1.63 (94.59)	95.27±1.49 (97.80)	90.73±1.95 (94.05)
<i>M. bovis</i> n=12	90.33±1.97 (93.68)	95.25±1.86 (98.41)	97.00±1.54 (94.38)	91.75±1.91 (95.00)
<i>M. microti</i> n=6	92.67±1.21 (94.73)	92.67±0.82 (94.06)	92.00±0.63 (93.07)	97.17±2.23 (93.38)

"n" is the number of strains. The numbers in brackets show the values ($\bar{x}-1.7s$) or ($\bar{x}+1.7s$). The former value was estimated for species to its own HMO, and the latter for species to other HMO. " \bar{x} " is the mean of M values, and s is the standard deviation.

Table 4. Number of Strains of Various Species Which enter the Range Higher than the Limit, ($\bar{x}-1.7s$), of Species

Species	The lower limit of species (M value, %)			
	<i>M. tuberculosis</i> 98%	<i>M. africanum</i> 95%	<i>M. bovis</i> 95%	<i>M. microti</i> 94%
<i>M. tuberculosis</i>	9/9			
<i>M. africanum</i>		10/11	7/11	1/11
<i>M. bovis</i>		8/12	11/12	2/12
<i>M. microti</i>				5/6

The lower limit of species is ($\bar{x}-1.7s$), where \bar{x} is mean of M values of strains of a species to its own HMO, and s is its standard deviation. These limits have been calculated as 98%, 95%, 95%, and 94%, respectively, for *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, and *M. microti*.

For example, when compared with the HMO of *M. africanum*, 10 of 11 strains of *M. africanum* showed the M values higher than this limit, 95%, and 8 of 12 strains of *M. bovis* also showed such M values, whereas none of the strains of *M. tuberculosis* and *M. microti* showed such M values.

ない。これに対して、*M. tuberculosis* および *M. microti* は *M. bovis* および *M. africanum* から区別できる(表4)。

"TB-complex" の4菌種の性状を表5に示す。

考 察

Runyon et al.⁷⁾ は、*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* を4つの独立した菌種として、Bergey's Manual 第8版に採択している。これに対して、David et al.⁹⁾ は、最近 *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis* は連続した存在であるとしている。本報で行なった計数分類学的解析の結果は、*M. tuberculosis* は独立した菌種、*M. microti* は *M. africanum* および *M. bovis* に近い一応独立した菌種と認められるが、*M. africanum* と *M. bovis* とは分離しがたく同一菌種と認めるべきものと思われた。しかし *M. tuberculosis* および *M. microti* とは区別できる。したがって *M. africanum* は独立菌種とは認めがたく、*M. bovis* の a variety と考えるべきであると思われる。

以上の結果から、"TB-complex" の中には、*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti* の3菌種が存在することになる。

しかしながら、前報¹⁰⁾ の他の遅発性抗酸菌の dendrogram と本報の dendrogram をつないでみると、"TB-complex" は95%-line で一つの明確な cluster を作っている。他の菌種と比較すると、"TB-complex" 自体が他の抗酸菌の菌種に相当することが分かる。この考えで命名を行なうと、*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti* の3菌種は、*M. tuberculosis* の亜菌種に格下げされるべきである。しかし3名式の命名は実用的に面倒であるから、区別しうる taxa をすべて菌種とするという考えに従えば、この3者を菌種として差支えない。

歴史的にみると、Bergey's Manual 第6版¹⁶⁾では、*M. tuberculosis* と *M. bovis* とは、おのおの *M. tuberculosis* var. *tuberculosis* および *M. tuberculosis* var. *bovis* とされていたものが、Bergey's Manual 第7版¹⁷⁾で独立の菌種とされたものである。分類学的には、この両者は近縁の

Table 5. Characters of Test Strains

Character	The percentage of strains showing positive reaction			
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. africanum</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. microti</i>
Number of strains tested	9	11	12	6
1. Strong acid-fastness	100	100	100	100
2. Weak acid-fastness	100	100	100	100
3. Rod form	100	100	100	100
4. Clumping (cord formation)	100	64	58	67
7. Rough colonies	89	36	42	100
18. Resistance to thiophene-2-carboxylic acid hydrazide	100	0	0	0
21. Niacin	100	91	25	100
24. α -Esterase	100	91	100	100
25. β -Esterase	100	82	100	100
29. Nitrate reduction	100	0	8	0
31. Two week-arylsulfatase	0	55	83	83
36. Urease	100	82	100	100
38. Nicotinamidase	100	36	0	100
39. Pyrazinamidase	100	18	0	83
41. Allantoinase	0	0	33	50
43. Growth at 28°C	0	9	25	67
44. Growth at 37°C	100	100	100	100
72. Glucose as C source (glutamate-N)	0	0	33	50
73. Acetate as C source (glutamate-N)	11	0	25	83
74. Succinate as C source (glutamate-N)	0	0	8	0
75. Pyruvate as C source (glutamate-N)	44	0	75	67
76. Growth on Sauton agar	0	0	8	0

Remark. Strain E 6541 received as received as *M. bovis* and strain E 6394 received as *M. tuberculosis* are not contained in the table, as these do not seem to belong to the species as received.

もので、Tsukamura¹⁸⁾は計数分類学的研究の結果から、この両者を *M. tuberculosis* subsp. *tuberculosis* および *M. tuberculosis* subsp. *bovis* とすべきであると提唱した。しかし現在は、3名式呼称の不便さを考えると、現行のままの命名で、両者を“TB-complex”の一員とした方がよいと思つている。

本報では、*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti* の4者が、“TB-complex”というべき一群を形成することを示したが、この結果は、Stanford and Grange²⁾の免疫学的研究の結果と一致する。

結 論

M. bovis と *M. africanum* とは互いに overlap があり、同一菌種と認めるべきである。したがつて *M. africanum* は独立菌種とは認めがたく、*M. bovis* の a variety とすべきである。

M. tuberculosis, *M. bovis*, *M. microti* は互いに密接に関連し、*M. tuberculosis* complex (TB-complex) と呼ぶべきである。この3者の中で、*M. bovis* と *M. microti* の2者は関係深く、*M. tuberculosis* は、より判然と区別で

きる存在である。

菌株を提供され、その発表を許可された Dr. H. H. Kleeberg, Tuberculosis Research Institute, Pretoria, South Africa に謝意を表する。

文 献

- 1) Lehmann, K.B. and Neumann, R.O.: Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik., 2: 363, 1896.
- 2) Bergey, D.H., Breed, R.S., Hammer, B.W., Huntoon, F.M., Murray, E.G.D. and Harrison, F.C.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 4th edition, p.537, The Williams and Wilkins, Baltimore, 1934.
- 3) Reed, G.B.: In "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 7th edition, edited by R.S., Breed, E.G.D. Murray and N.R. Smith, p.703, The Williams and Wilkins, Baltimore, 1957.
- 4) Runyon, E.H. et al.: Zentralblatt f. Bakteriologie, I Orig., 204: 405, 1967.
- 5) Castets, M., Boisvert, H., Grumbach, F., Brunel,

- M. and Rist, N.: *Rev. Tuberc. et Pneumol.*, 32: 179, 1968.
- 6) Castets, M., Rist, N. and Boisvert, H.: *Méd. Afr. Noire*, 16: 321, 1969.
 - 7) Runyon, E.H., Wayne, L.G. and Kubica, G.P.: In "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 8th edition, edited by Buchanan *et al.*, p.686, The Williams and Wilkins, Baltimore, 1974.
 - 8) Stanford, J.L. and Grange, J.M.: *Tubercle*, 55: 143, 1974.
 - 9) David, H.L., Jahan, M.T., Jumin, A., Grandry, J. and Lehman, E.H.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 28: 467, 1978.
 - 10) Tsukamura, M.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 26: 420, 1976.
 - 11) Sokal, R.R. and Sneath, P.H.A.: *Principles of Numerical Taxonomy*, W.H. Freeman, San Francisco, 1963.
 - 12) Liston, J., Wiebe, W. and Colwell, R.R.: *J. Bacteriol.*, 85: 1061, 1963.
 - 13) Tsukamura, M.: *Jap. J. Tuberc. & Chest Dis.*, 17: 18, 1971.
 - 14) Tsukamura, M.: *J. Gen. Microbiol.*, 95: 207, 1976.
 - 15) Tsukamura, M.: *Jap. J. Microbiol.*, 20: 375, 1976.
 - 16) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 6th edition, edited by Breed, R.S., Murray, E. G.D. and Hitchens, A.P., p.875, The Williams and Wilkins, Baltimore, 1948.
 - 17) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th edition, edited by Breed, R.S., Murray, E. G.D. and Smith, N.R., p.695, The Williams and Wilkins, Baltimore, 1957.
 - 18) Tsukamura, M.: *Tubercle*, 48: 311, 1967.