

医学的に重要な細菌についての分類学 1

ブドウ球菌とレンサ球菌の分類・この10年の変遷

Taxonomic changes of the genera *Staphylococcus* and *Streptococcus* on this decade.

かわ むら よし あき
河 村 好 章
Yoshiaki KAWAMURA

はじめに

ブドウ球菌およびレンサ球菌は、臨床上分離頻度が高く、重要な菌群である。ブドウ球菌では *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (およびその薬剤耐性菌 MRSA, MRSE) が最も注目され、一方、レンサ球菌では *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* といった、古くから病原性菌として知られている菌種にばかり注意が払われることが多い。しかし現在では、これら菌種と並んで、日和見感染菌が臨床の場から分離されることが多い。これらの菌の中には薬剤耐性をすでに獲得しているものもあり、その薬剤感受性とともな正確な同定菌種名を要求されることもますます多くなっている。

一方、細菌分類学も、ここ 20 年ほどで劇的な変化があったと言ってもよいだろう。分類学は、古くは、その形態を重視し、次には発育条件や炭水化物の資化性などの生理・生化学性状を指標とし、さらに細胞壁組成・脂質成分分析といった化学分類指標が使われてきた。1960 年代より遺伝情報の根幹である DNA (RNA) を使った分類方法が台頭し始めた。しかしながら、その実施には (当時としては) 高度な技術と煩雑な実験プロセスをこなさなければならず、小規模な実験にとどまっていた。1980 年代後半になって分類学における 16S ribosomal RNA 塩基配列の比較の有用性が Woese ら¹⁾ により示された。ほぼ時を同じくして遺伝子増幅法、自動化された塩基配列決定装置が一般に広く使われるようになり、広範囲な微生物に適用されるようになった。

現在では、記載されている約 6000 種 (亜種を含む) のほほすべてについて 16S rDNA 塩基配列が分かっており、各菌種、属の系統発生位置の確認が簡単に行えるようになった。

このような背景を踏まえ、本項では、ブドウ球菌属とレンサ球菌属について、その分類がこの 10 年間で、どのように変わったかを紹介したい。

I. ブドウ球菌・レンサ球菌の分類学的位置の変遷

1986 年に出版された Bergey's manual of Systematic Bacteriology (vol. 2)²⁾ では、*Staphylococcus* 属はグラム陽性球菌の中の Family *Micrococcaceae* に *Micrococcus*, *Stomatococcus*, *Planococcus* 属と一緒に記載されていた。一方、*Streptococcus* 属はグラム陽性球菌の中で、Family name (科名) を規定せずに、other genera として *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus* 属や嫌気性球菌とともに記載されていた。

既述のごとく、この頃より、DNA を使った手法が盛んに使われるようになり、特に 16S rDNA 塩基配列を用いた系統分類学が著しい勢いで、そのデータを蓄積していった。そして、2001 年に Bergey's manual of systematic bacteriology second edition (vol. 1)³⁾ が出版された。Vol. 1 には、2000 年 3 月時点の情報を基に属以上 (科: Family, 目: Order, 綱: Class, 門: phylum) の分類群を 16S rDNA の情報を基に階層的に並べた Taxonomic outline of the Archaea and Bacteria が記載されている。

それによると *Staphylococcus* 属は、*Firmicutes* 門, “*Bacilli*” 綱, *Bacillales* 目, “*Staphylococcaceae*” 科に

属することとなった。1986年のBergey's manualで同じMicrococcaceae科に所属していたMicrococcus, Stomatococcus属はActinobacteria門に属しているので、“門”のレベルで異なっていることになる。表現形質では両者ともにグラム陽性、カタラーゼ陽性球菌となるが、DNAレベルではStaphylococcus属はGC%が低いグラム陽性菌(Firmicutes門)で、Micrococcus属のほうはGC%が高いグラム陽性菌(Actinobacteria門)になるので、分類の上位レベルで分かれることとなったのである。

II. ブドウ球菌の分類の変遷

Staphylococcus属菌種は1980年には*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*の他に10菌種4亜種が記載されていたが、その後1995年までの15年間で31菌種8亜種にまで増えた。さらに、この10年間で5菌種7亜種が新たに提案され、現在では36菌種19亜種が知られている。しかし、この10年間で提案された菌種を見てみると動物や発酵食品由来のものが多く、わずかに*S. hominis* subsp. *novobiosepticum*⁴⁾のみがヒトから分離されている。後述するようにわれわれが10年ほど前に実施したヒト由来株1230株のDNA-DNA hybridization法に基づく同定試験の結果、そのほぼすべて(1213株, 98.6%, 当時の30菌種のみを対象とした研究)が既存の菌種にあてはまったことから、ヒト由来のブドウ球菌属菌種は、あらかた見出されたのではないかとの感がある。今後も、環境や食品、動物などからはStaphylococcus属の新菌種が見出されるであろうが、ヒトの臨床材料からは、それほど頻繁に新菌種が見出されることはないだろう。

Staphylococcus属菌種の16S rDNA塩基配列に基づく系統樹を図1に示した。

“Staphylococcus caseolyticus”として知られていた菌種は系統的に他のStaphylococcus属菌種と離れていることが分かっていたが、1998年にMacrococcus属に移籍された⁵⁾。図1では、この*M. caseolyticus*を系統樹のout groupとして使用した。本系統樹では既存の菌種は、非常によくまとまっていることから、今後これらの菌種が他の属に移動するなど、分類体系が大きく変更されることはないと思われる。

Staphylococcus属菌種はDNA-DNA similarity (類

似度)に基づき、遺伝学的に大きく9つのグループに分けられることが知られていた³⁾。*S. epidermidis* (*S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. warnerii*, *S. hominis*, *S. sccharolyticus*を含む), *S. aureus*, *S. auricularis*, *S. saprophyticus* (*S. cohnii*, *S. xylosus*を含む), *S. simulans* (*S. carnosus*を含む), *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. sciuri* (*S. lentus*を含む), “*S. caseolyticus*”に代表される菌種グループである。図1には、現在知られている菌種亜種のほぼすべてが入っているが、16S rDNA塩基配列に基づく系統解析においても、ほぼ同様の菌種グループが形成されているのが見て取れる。このような系統関係についてはすでに指摘されており、さらに16S rDNAの類似度を基にすると、より細かく12のクラスターに分けることができるとしている⁶⁾。このようなクラスター分けについては、現在のところ広く承認されているわけではないが、生化学性状などから見た場合にも、各菌種グループのメンバーは類似点が多いので、Staphylococcus属内での位置関係を考察するには非常に都合がよいだろう。

表1を見ていただければ分かるように多剤耐性を占めず菌種は*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*などだけでなく、20菌種以上にわたって報告されている。これまで以上に正確な同定が必要であろう。

III. ブドウ球菌の同定

Staphylococcus属内の菌種の鑑別にはコアグラーゼ反応が最も多用されていることは異論の余地がないと思われる。しかしながら、コアグラーゼ反応陽性を示すのは厳密に言えば、*S. aureus* (の2亜種)だけではなく、*S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, *S. lutrae*の5菌種3亜種が知られている。このうちヒトから分離された報告のないものは比較的新しく記載された*S. lutrae*のみである。*S. delphini*はイルカから見出された菌種であるが、われわれは本菌を漁師の方のサンプル(臨床症状は未記録)から同定したことがある⁷⁾。いずれの菌種も当初の分離源にかかわらず分離されてくる可能性があることを考慮する必要がある。逆にコアグラーゼ反応陰性を示す*S. aureus*はわれわれが調べたヒト臨床由来株211株中17株(実に

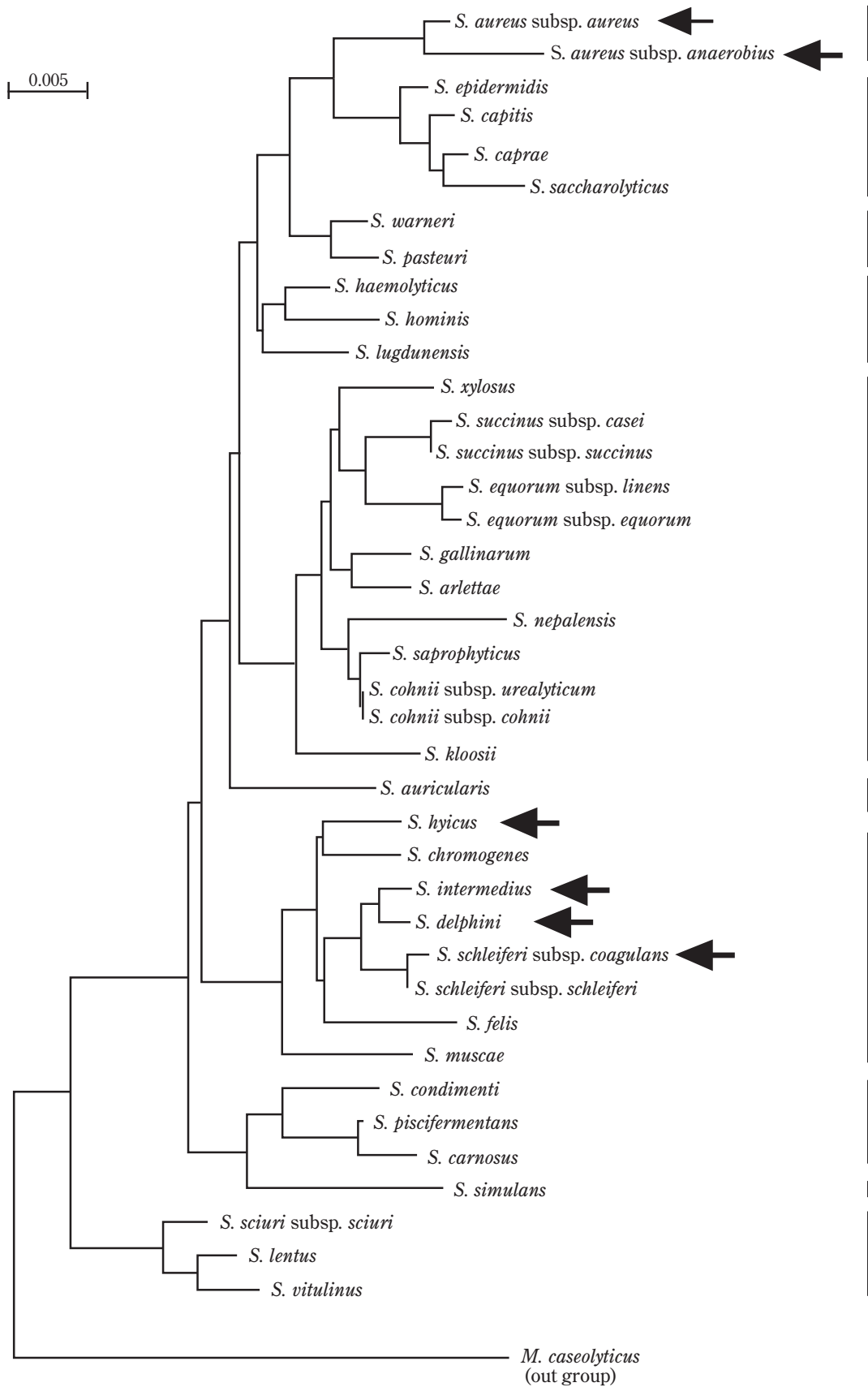


図1 *Staphylococcus* 属菌種の系統関係
16S rDNA 塩基配列の比較に基づき作成した (NJ法)。
矢印はコアグラーゼ陽性菌種を示す。
右のバーは菌種グループを示す。

表1 現在の *Staphylococcus* 属の全分類群 (36 菌種 19 亜種)

種名	発表時の分離源	ヒトからの分類	多剤耐性の報告	記載年	他
1 <i>S. arlettae</i>	動物	△* ¹	○* ²	1985* ³	
2 <i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	ヒト, 動物	○	○	1980	COAG: +, clump: +* ⁴
<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	ヒツジ	○		1985	COAG: +, clump: -, Anaerobic
3 <i>S. auricularis</i>	ヒト	○		1983	
4 <i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	ヒト	○	○	1980	
<i>S. capitis</i> subsp. <i>ureolyticus</i>	ヒト	○		1991	
5 <i>S. caprae</i>	動物	○	○	1983	
6 <i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	ソーセージ	×		1982	
<i>S. carnosus</i> subsp. <i>utilis</i>	醗酵ソース	×		1998	
7 <i>S. chromogenes</i>	ブタ, ウシ	△		1987	<- <i>S. hyicus</i> subsp. <i>chromogenes</i> * ⁵
8 <i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	ヒト	○	○	1980	
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i>	ヒト, サル	○		1991	
32 <i>S. condimentii</i>	醤油搾りかす	×		1998	
9 <i>S. delphini</i>	イルカ	△		1988	COAG: +, clump: -
10 <i>S. epidermidis</i>	ヒト	○	○	1980	
11 <i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>	動物	△		1985	
<i>S. equorum</i> subsp. <i>linens</i>	チーズ	×		2003	
12 <i>S. felis</i>	ネコ	×		1989	
33 <i>S. fleurettii</i>	チーズ	×		2000	
13 <i>S. gallinarum</i>	ニワトリ, 動物	△		1983	
14 <i>S. haemolyticus</i>	ヒト	○	○	1980	
15 <i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	ヒト	○	○	1980	
<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	ヒト	○	○	1998	
16 <i>S. hyicus</i>	ブタ, 動物	△	○	1980	COAG:d, clump: -
17 <i>S. intermedius</i>	動物	△	○	1980	COAG: +, clump:d
18 <i>S. kloosii</i>	動物	○	○	1985	
19 <i>S. lentus</i>	ヤギ	○	○	1983	<- <i>S. sciuri</i> subsp. <i>lentus</i>
20 <i>S. lugdunensis</i>	ヒト	○		1988	clump: +
34 <i>S. lutrae</i>	カワウソ	×		1997	COAG: +, clump: -
21 <i>S. muscae</i>	ハエ	×		1992	
35 <i>S. nepalensis</i>	ヒマラヤヤギ	△		2003	
22 <i>S. pasteurii</i>	ヒト, 動物, 食品	○		1993	
23 <i>S. piscifermentans</i>	醗酵魚	×		1992	
24 <i>S. saccharolyticus</i>	ヒト	○		1984	Anaerobic
25 <i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	ヒト	○	○	1980	
<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>	ウシ	△		1996	
26 <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	ヒト	○	○	1988	COAG: -, clump: +
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	イヌ	○		1990	COAG: +, clump: -
27 <i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i>	ネズミ, 動物	○	○	1980	
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>	ウシ	△	○	1997	
<i>S. sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i>	ネズミ	△	○	1997	
28 <i>S. simulans</i>	ヒト	○	○	1980	
36 <i>S. succinus</i> subsp. <i>succinus</i>	琥珀	×		1998	
<i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>	チーズ	×		2003	
29 <i>S. vitulinus</i>	食肉 (ウシ, ニワトリ, ヒツジ)	△		1994	<- <i>S. vitulus</i> (sic)* ⁶
30 <i>S. warneri</i>	ヒト	○	○	1980	
31 <i>S. xylosus</i>	ヒト	○	○	1980	
<i>S. pulvereri</i> -> <i>S. vitulinus</i>	ヒト	△		1995	2004年に統合された
<i>S. caseolyticus</i> -> <i>Macrococcus caseolyticus</i>	ヒト, 動物	×		1998	属の移動が提案された

*1 ヒトからの分離頻度が多いものに○, 報告の有るものに△, 報告がないものには×を付けた。

*2 薬剤耐性の報告があるもの / *mec* 遺伝子保有の報告が有るものに○を付けた。

*3 1996年以降に記載された菌種は網かけをした。

*4 COAG: コアグラージェ, clump: クランピングファクター。

*5 <-は亜種であったものが, 独立した種になったことを示す。

*6 ラテン語文法として正しい綴りに修正された。sic とは原文の誤った綴りを示す。

8%)も存在していた。コアグラーゼ反応を重要視しすぎると、これらの菌株は *S. haemolyticus* (溶血性が顕著な菌株の場合) や *S. epidermidis* (トレハロース, マンニトールの反応が陰性/微弱の場合), *S. hominis* (その他の場合) などと誤同定されてしまう (表2)。 *S. aureus* の同定には, コアグラーゼ反応のみならず他の性状も確認しないとすなわぬ誤同定を招いてしまうだろう。

コアグラーゼ陰性の菌種の同定については, われわれが1998年に1つの報告をしているので, その要約を紹介したい⁷⁾。われわれが1230株のブドウ球菌と思われる菌株を収集し, その正確な同定をDNA-DNA hybridization法により行ったところ, 表3のような分離頻度が明らかとなった。この中で *S. caprae* は1983年にヤギのミルクから分離された菌株から作られた菌種であり⁸⁾, 動物サンプルからの分離が主で, ヒトからの分離は非常にまれであるとされていた。ところが, DNA-DNA hybridization法による正確な同定の結果, コアグラーゼ陰性の菌種の中で *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* に継ぐ第3位を占め, その分離頻度は全体の約10%にも達しているという新事実が明らかとなった。そこで, それまで同定できなかった理由を探るため, 生化学性状

を再確認したところ, フルクトースからの酸の産生 (FRU) およびマンニトールからの酸の産生 (MAN) 試験の成績が Bergey's manual (1986)²⁾ および原著記載⁸⁾ の段階で間違っていることを見出した。すなわち, それまでの記載では *S. caprae* のFRUおよびMANの反応が陰性と既述されていた。そのため, 溶血性を示しFRU, MANともに陽性反応を示すと *S. haemolyticus*, 溶血性が弱く, FRU陽性, MAN陰性の場合, *S. hominis* と誤同定されていたことが分かった (表3)。この修正記載については分類の公式ジャーナルである Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 誌にも引用された⁹⁾。現在の *S. caprae* の正式な記載では, フルクトースおよびマンニトールからの酸の産生はともに陽性である。現在市販されている同定キットや同定システムの中には, まだこの点を加味していないものもあり, 自動的に同定確率は10%ほど低いものとなっているだろう。

(表2には, その他の菌種についても, われわれの経験をもとに誤同定した/しやすいと思われる菌種をリストした。参考にさせていただければ幸いです。)

本項では, 詳しく触れないが, 現在市販の同定キットの同定精度はおおむね80%以上はあると思

表2 ヒト臨床からの *Staphylococcus* 属菌種の分離頻度 (1230株のDNA-DNA hybridization法による同定結果)

種名	株数	分離頻度 (%)	生化学性状による同定法で誤同定しやすいと思われる菌種名
<i>S. epidermidis</i>	385	31.3	<i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i>
<i>S. aureus</i>	286	23.3	<i>S. haemolyticus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. capitis</i>
<i>S. haemolyticus</i>	150	12.2	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. warneri</i> ,
<i>S. caprae</i>	132	10.7	<i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. warneri</i>
<i>S. simulans</i>	54	4.4	<i>S. haemolyticus</i> , <i>S. epidermidis</i>
<i>S. hominis</i>	49	4.0	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. haemolyticus</i>
<i>S. capitis</i>	48	3.9	<i>S. hominis</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. epidermidis</i>
<i>S. saprophyticus</i>	44	3.6	<i>S. haemolyticus</i> , <i>S. warneri</i>
<i>S. warneri</i>	27	2.2	<i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i>
<i>S. lugdunensis</i>	16	1.3	<i>S. haemolyticus</i>
<i>S. sciuri</i>	6	0.5	<i>S. xylosus</i>
<i>S. cohnii</i>	3	0.2	—
<i>S. gallinarum</i>	2	0.2	—
<i>S. auricularis</i>	2	0.2	—
<i>S. delphini</i>	1	0.1	<i>S. aureus</i>
<i>S. xylosus</i>	1	0.1	—
<i>Rothia mucilaginosa</i> ^{*1}	7	0.6	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i>
<i>Staphylococcus</i> spp. ^{*2}	17	1.4	<i>S. xylosus</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. epidermidis</i>
Total	1230	100.0	

* 1 旧名 *Stomatococcus mucilaginosa*

* 2 われわれが試験した30菌種のいずれとも強く反応しなかった。新しく記載された菌種に該当, あるいは新菌種候補株と考えている。

表3 *Staphylococcus caprae* の生化学性状の修正

反応名	<i>S. caprae</i> の性状*1	Bergey's manual による記載		
		<i>S. caprare</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. hominis</i>
溶血性 (ウシ血液)	d(53)	(+)*2	(+)	-w
硝酸塩の還元反応	+ (90)	+	d	d
フルクトースからの酸の産生	+ (100)	-	d	+
マンニトールからの酸の産生	+ (95)	d(-)*3	d	-
リボースからの酸の産生	- (0)	+	d	-
マルトースからの酸の産生	+ (100)	d	+	+
ラクトースからの酸の産生	+ (95)	+	d	d
サッカロースからの酸の産生	d(27)	-	+	(+)
トレハロースからの酸の産生	+ (90)	+	+	d
β-グルコシダーゼ活性	- (0)	-	d	-
β-グルクロニダーゼ活性	- (0)	-	d	-
アルギニンの加水分解反応	+ (100)	+	+	d
ウレアーゼ活性	+ (90)	+	-	+

*1 DNA-DNA hybridization 法により正確に同定した 60 株 (ヒトの臨床株) のデータ

*2 + : 陽性率 90% 以上, - : 陽性率 10% 以下, d: 陽性率 11 ~ 89%, (+) : 反応が遅い, -w : 陰性あるいは弱い反応を示す。

*3 Bergey's manual の一覧表では "d" と記述されているが, 本文中 (および原記載論文) には "-" であると記述されている。

われる。現在までに記載されている各菌種の性状には, 明らかな過ちや疑わしい性状もほぼないと思われる。よって通常の同定は, 新しいデータをしっかり反映している同定キットを使うかぎり, そう大きな問題はないと思われる。ただし疑問に思う反応があったり, 非典型的な性状がある場合には, 改めて全体のデータを注意深く眺めなおしてみたり, 必要があれば遺伝的手法など, 異なった方法でのアプローチを試みることも重要だろう。

IV. レンサ球菌の分類の変遷

Streptococcus 属菌種は Bergey's manual が出版された 1986 年には 35 菌種 2 亜種であった²⁾。Bergey's manual では, これを大きく pyogenic, oral, enterococci, lactic, anaerobic, other の 6 グループに分けて記載していたが, その後分類の見直しが行われ, enterococci, lactic と呼ばれていた菌群は, 新たに創設された *Enterococcus* 属, *Lactococcus* 属に移籍された^{10,11)}。さらにその後, anaerobic group の 3 菌種も他属に移籍になった^{12,13,14)}。1989 年に, それまで栄養要求性レンサ球菌 (nutritionally variant streptococci : NVS) と呼ばれていた菌群から "*S. defectiva*" と "*S. adjacens*" という菌種が提案された¹⁵⁾ が, これも新属 *Abiotrophia* に移籍された¹⁶⁾ ("*A. adiacens*" は, さらに *Granulicatella* 属に移籍された¹⁷⁾)。

このように *Streptococcus* 属からは多数の菌種が他属あるいは新属に移動している (図 2)。このことを見ても *Streptococcus* 属菌種の分類が難しく, 混乱していたことがうかがえよう。

Streptococcus 属内の各菌種のグルーピングについても, これまでに多くの提案がなされている。1937 年には Sharman らが大きく pyogenic, viridans, enterococcus, lactic というグループを提唱したが, 1978 年には Jones らが pyogenic, pneumococci, oral, fecal, lactic, anaerobic, other という新たなグルーピングを提唱した。1982 年には Bridge and Sneath が pyogenic, parapyogenic, thermophilic, viridans, paraviridans, enterococcal, lactic というグループを提唱した¹⁸⁾。そして Bergey's manual には上述の 6 グループ名が提唱されており, 混沌としていた。しかも同じ菌種であっても所属するグループが異なっている例が多数見受けられた。例えば *S. pneumoniae* は提案者により viridans group, pneumococci group, pyogenic group に入っていたり, *S. bovis* が faecal group, paraviridans group, other に属していたり, という具合である。*Streptococcus* 属の分類をより明瞭にするため, 属内各菌種の系統関係をはっきりさせ, 加えてそれまで厳格な区別なしに使われてきた非承認の通称名と正式な菌種名をはっきり区別することが必要であった。

そこでわれわれは *Streptococcus* 属菌種の 16S

Bergey's manual (1986)		Current nomenclature (2005)
Genus <i>Streptococcus</i>		Genus <i>Streptococcus</i>
pyogenic	→	pyogenic group
oral	→	mitis group
		anginosus group
		salivarius group
		bovis group
		mutans group
other	→	other
		new species group
enterococci	→	<i>Enterococcus</i>
lactococci	→	<i>Lactococcus</i>
nutritionally variant		
<i>S. defectivus</i>	→	<i>Abiotrophia defectiva</i>
<i>S. adjacens</i>	→	<i>Abiotrophia adiacens</i>
anaerobic		(-> <i>Granulicatella adiacens</i>)
<i>S. morbillorum</i>	→	<i>Gemella morbillorum</i>
<i>S. hansenii</i>	→	<i>Ruminococcus hansenii</i>
<i>S. parvulus</i>	→	<i>Atopobium parvulum</i>
<i>S. pleomorphus</i>	→	Unknown

図2 *Streptococcus* 属菌種の他属への移籍および属内菌種グループの変更

rDNA塩基配列に基づく系統樹を作成し、*Streptococcus* 属菌種は大きく分けて6つのクラスター、すなわち pyogenic group, mitis group, anginosus group, salivarius group, bovis group, mutans group に分けられることを報告した¹⁹⁾。この6クラスターのグループ分けおよびその名称については、国際命名委員会のレンサ球菌-ブドウ球菌小委員会においても承認された²⁰⁾。図3には現在の *Streptococcus* 属菌種のほとんどを含む系統樹を示した。

表4には、現在知られている *Streptococcus* 属菌種のすべてをリストした。2005年9月現在で、60菌種12亜種が知られている。ここ10年は毎年新菌種、新亜種の提案がなされており、たった10年で29菌種(亜種含む)もの新メンバーが記載されるという激しい勢いである。新メンバーを加えても、基本的には上述の16S rDNAに基づく系統樹の6クラスターのいずれかに所属させることができるので、以下各クラスター別に、その特徴および分類学的変更等について記述した。

なお、表4には非承認の通称名や俗名の情報を右端に加えた。特に同定が困難な菌群に多くの非承認名が付けられている。これらの名称は分類学的にいかなる地位ももっていない。無用な混乱を招かないためにも、これらの名称は使用すべきではない。

V. Pyogenic group

このグループにはβ溶血を示す菌種を中心とし14菌種5亜種が含まれている。菌種同定に Lancefield の抗原型が多用されるが、厳密にはA群には *S. pyogenes* の他にも *S. castoreus*, *S. anginosus*, *S. constellatus* subsp. *constellatus*, *S. orisratti* が存在し、またB群も *S. agalactiae* の他に *S. halichoeri* という菌種が存在する。*S. anginosus*, *S. constellatus* を除き、ヒトの臨床とは縁が薄いので、ヒトの臨床に限って考えれば抗原型別はまだ有用であろう。

S. dysgalactiae については、いったん菌種としての地位を失うなどの分類学的変遷があったが、現在は2亜種が正式に承認されている。ヒトの臨床と関連深いのは *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*²¹⁾ である。劇症様の連鎖球菌症を引き起こす事例が報告されている²²⁾。

“*S. difficilis*”, “*S. shioli*” という菌種(ともに魚類に病原性あり)が提案されていたが、それぞれ *S. agalactiae*, *S. iniae* と同一菌種であることが分かり、その菌種に組み込まれた^{23,24)}。

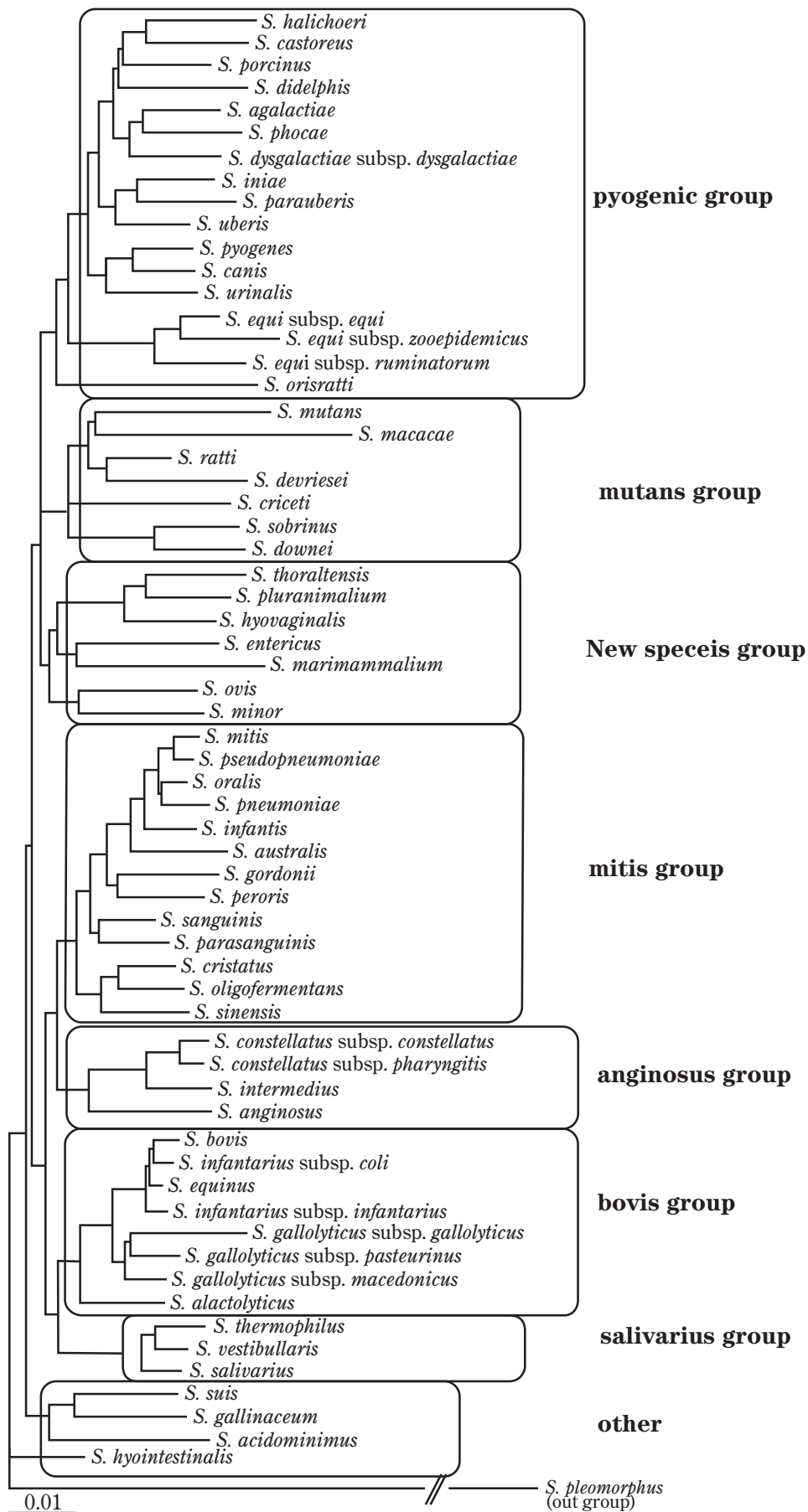


図3 *Streptococcus* 属菌種の系統関係およびグループ名 16S rDNA 塩基配列の比較に基づき作成した (NJ法)。

表4 現在の *Streptococcus* 属の全分類群 (60 菌種 12 亜種)

グループ名	種名	Lancefield 血清型	主要分離源	発表 年*1	旧名, 通称名 (非承認) 等
1	<i>S. pyogenes</i>	A	ヒト, サル	1884	GAS*2
2	<i>S. agalactiae</i>	B	ヒト, 動物, ミルク	1896	GBS, <- <i>S. difficilis</i> *3
3	<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i>	C	ウマ	1888	
	<i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	C	動物	1985	
	<i>S. equi</i> subsp. <i>ruminantium</i>	C	ヤギ, ヒツジ	2004	
4	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	C, L	ミルク	1983	
	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	C, G	ヒト, 動物	1996	
5	<i>S. canis</i>	G	ウシ, イヌ	1986	
6	<i>S. iniae</i>	-	イルカ, 魚	1976	<- <i>S. shiloi</i>
7	<i>S. porcinus</i>	E, P, U, V	ブタ, ミルク	1985	
8	<i>S. uberis</i>	- , E, P, G	ウシ	1932	
9	<i>S. parauberis</i>	- , E, P	ウシ	1990	" <i>S. uberis</i> - 2"
10	<i>S. phocae</i>	- , C	アザラシ	1994	
11	<i>S. didelphis</i>	-	オポッサム	2000	
12	<i>S. urinalis</i>	-	ヒト	2000	
13	<i>S. halichoeri</i>	B	アザラシ	2004	
14	<i>S. castoreus</i>	A	ビーバー	2005	
15	<i>S. mitis</i>	- , K, O	ヒト	1906	<i>S. mitior</i>
16	<i>S. oralis</i>	-	ヒト	1982	<i>S. mitior</i> , <i>S. sanguis</i> II, BiotypeB-serotypeII
17	<i>S. pneumoniae</i>	ND	ヒト, 動物	1884	
18	<i>S. gordonii</i>	H, -	ヒト	1989	<i>S. sanguis</i> I, BiotypeA-serotypeIII
19	<i>S. cristatus</i>	ND	ヒト	1991	tufted fibrils, <i>S. crista</i> (sic)*4
20	<i>S. sanguinis</i>	H, -	ヒト	1946	<i>S. sanguis</i> I, BiotypeA-serotypeI, <i>S. sanguis</i> (sic)
21	<i>S. parasanguinis</i>	- , F, G, C	ヒト	1990	<i>S. parasanguis</i> (sic)
22	<i>S. peroris</i>	-	ヒト	1998	
23	<i>S. infantis</i>	-	ヒト	1998	
24	<i>S. australis</i>	-	ヒト	2001	
25	<i>S. sinensis</i>	-	ヒト	2002	
26	<i>S. oligofermentans</i>	-	ヒト	2003	
27	<i>S. pseudopneumoniae</i>	-	ヒト	2005	
28	<i>S. anginosus</i>	- , F, A, C, G	ヒト	1906	milleri group
29	<i>S. constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i>	- , F, A, C	ヒト	1924	milleri group, <i>S. anginosus</i> -constellatus
	<i>S. constellatus</i> subsp. <i>pharyngitis</i>	C	ヒト	1999	
30	<i>S. intermedius</i>	-	ヒト	1925	milleri group, <i>S. MG-intermedius</i>
31	<i>S. mutans</i>	- , E	ヒト, 動物	1924	
32	<i>S. rattus</i>	-	ヒト, ラット	1977	<- <i>S. mutans</i> subsp. <i>rattus</i> , <i>S. rattus</i> (sic)
33	<i>S. sobrinus</i>	-	ヒト	1983	<- <i>S. mutans</i> subsp. <i>sobrinus</i>
34	<i>S. ferus</i>	-	ラット	1983	<- <i>S. mutans</i> subsp. <i>ferus</i>
35	<i>S. criceti</i>	-	ヒト, ハムスター	1977	<- <i>S. mutans</i> subsp. <i>cricetus</i> , <i>S. cricetus</i> (sic)
36	<i>S. downei</i>	-	サル	1988	<- <i>S. mutans</i> serotype h
37	<i>S. macacae</i>	-	サル	1984	
38	<i>S. orisratti</i>	A	ラット	2000	
39	<i>S. devriesei</i>	-	ウマ	2004	
40	<i>S. bovis</i>	D	ヒト, 動物, ミルク	1919	
41	<i>S. equinus</i>	D	ウマ	1906	
42	<i>S. alactolyticus</i>	D	ブタ, ニワトリ	1985	<- <i>S. intestinalis</i>
43	<i>S. infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i>	D, -	ヒト, 食品	2003	
	<i>S. infantarius</i> subsp. <i>coli</i>	D, -	ヒト	2003	
44	<i>S. lutetiensis</i>	D, -	ヒト	2002	
45	<i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>gallolyticus</i>	D, -	動物, ヒト	1996	<- <i>S. caprinus</i>
	<i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>macedonicus</i>	D, -	チーズ	2003	<- <i>S. waius</i> , <- <i>S. macedonicus</i>
	<i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>pasteurinus</i>	D, -	ヒト	2003	<- <i>S. pasteurinus</i>
46	<i>S. salivarius</i>	K, -	ヒト, 動物	1906	
47	<i>S. thermophilus</i>	-	ミルク	1919	
48	<i>S. vestibularis</i>	-	ヒト	1988	
49	<i>S. acidominimus</i>	-	ウシ, ミルク	1922	
50	<i>S. suis</i>	R, S, RS, T	ブタ	1987	
51	<i>S. hyointestinalis</i>	-	ブタ	1988	
52	<i>S. gallinaceum</i>	-	ニワトリ	2002	
53	(New species group)	-	ブタ	1997	
54	<i>S. hyovaginalis</i>	-	ブタ	1997	
55	<i>S. thoraltensis</i>	-	ブタ	1997	
56	<i>S. pluranimalium</i>	-	動物, ウシ	1999	
57	<i>S. ovis</i>	-	ヒツジ	2001	
58	<i>S. entericus</i>	-	ウシ	2002	
59	<i>S. minor</i>	-	イヌ, ネコ, ウシ	2004	
59	<i>S. marimammalium</i>	C	アザラシ	2005	
60	other genus*5	-	ヒト, ニワトリ	1979	

*1 1996年以降に発表されたものに網かけをした。

*2 イタリアック体で書いていないものは非承認名 (通称名など)。

*3 <-は同一菌種であることが分かり, 命名上の優先菌種に含まれたことを示す。

*4 ラテン語文法として正しい綴り字に修正された。sicとは原文の誤った綴り字を示す。

*5 clostridia とより近縁な系統関係にあり, いずれ *Streptococcus* 属から移籍されると思われる。

VI. Mitis group

このグループには *S. pneumoniae* を含む α 溶血性の 7 菌種が含まれていたが、その後新菌種の提案が続き、現在では 13 菌種に拡大している。Bergey's manual では *S. pneumoniae* は pyogenic group に含まれていたが、16S rRNA による系統解析で明らかに mitis group に含まれることが示された。

このグループに属する菌種は、その同定が非常に難しいことでも知られている。*S. mitis* は 1906 年にすでに記載されているが 1993 年になって、それまで使われていた基準株の表現形質が原記載と一致していないことが分かり、新基準株に変更になった²⁵⁾。そのことで分類同定に余計な混乱を発生させてしまったということは容易に推察できよう。さらに *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pneumoniae* の 3 菌種は互いに 16S rRNA 塩基配列が 99% 以上同一である、DNA-DNA hybridization 法でも基準株間で 40～55% の相同値を示す^{19,26)} など、遺伝的にも特に近縁

であることがわかっている。*S. gordonii*, *S. cristatus*, *S. sanguinis*, *S. parasanguinis* などの各菌種は、生化学性状試験、DNA-probe 法などにより、鑑別することができた²⁷⁾。一方、*S. mitis*, *S. oralis*, *S. pneumoniae* の 3 菌種はこれらの手法では鑑別できなかった。精密な DNA-DNA hybridization 法を実施すれば鑑別は可能である(図 4)が、多くの分離株に適応するのは困難である。種々検討の結果、superoxide dismutase (*sodA*)²⁸⁾ 遺伝子の塩基配列の比較がこの目的に合致することを見出した。*sodA* の塩基配列から系統樹を作成することにより、2001 年発表の新菌種まで含めた 10 菌種を明瞭に鑑別することができている²⁹⁾。*S. sinensis*, *S. oligofermentans* については *sodA* のデータがないが 16S rDNA においても鑑別可能なので、それより進化速度の早い *sodA* で十分に鑑別可能であると思われる。

2005 年に *S. pneumoniae* 様であるがオプトヒンに耐性 (CO₂ 培養時) を示し、胆汁溶解性が陰性である一群の菌株に対して *S. pseudopneumoniae* という新菌種が提案された³⁰⁾。DNA-DNA hybridization 法

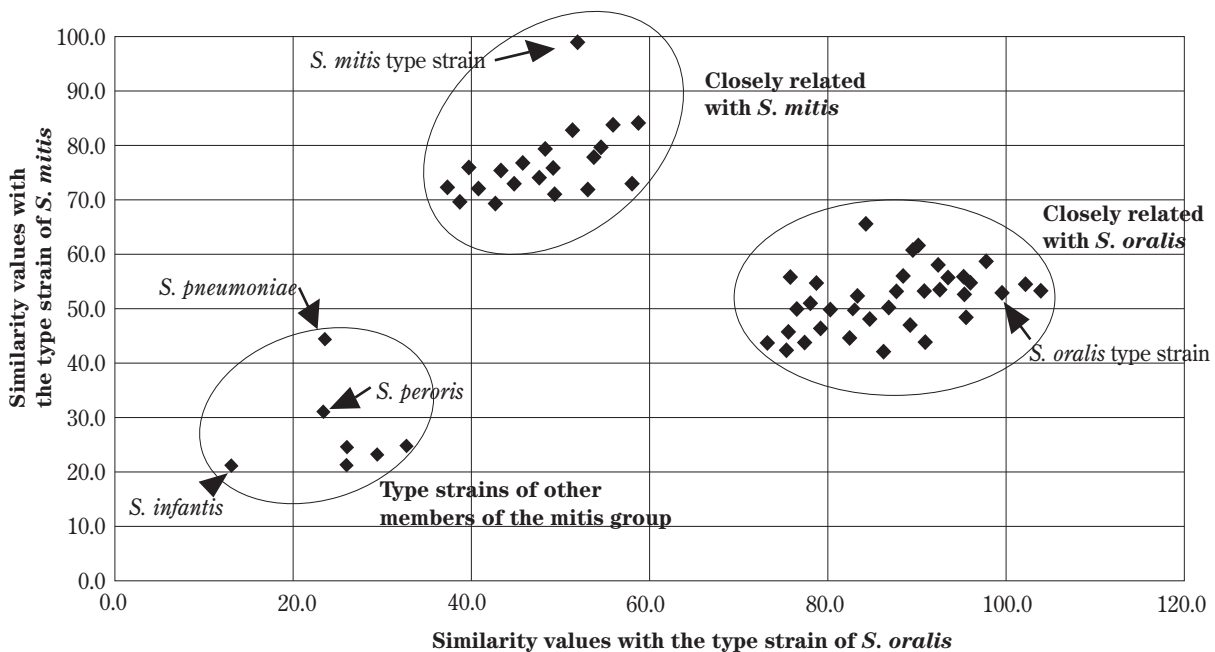


図 4. DNA-DNA hybridization による *S. mitis*, *S. oralis* の同定結果

相対類似度ではなく、絶対類似度を測定する方法を行った。

横軸に *S. oralis*^T (基準株) に対する類似度、縦軸に *S. mitis*^T (基準株) に対する類似度を取り、個々の分離株の基準株に対する類似度をプロットした。

一群の分離株は *S. mitis*^T と 70～90% の類似度を示し、*S. oralis*^T とは 38～60% の類似度を示した。これらの菌株群は *S. mitis* と同定できる(図中央上の方の円で囲った所)。

別の菌株群は *S. oralis*^T と 70～100% の類似度を示し、*S. mitis*^T とは 40～66% の類似度を示した(図右中央の円で囲った所)ので、*S. oralis* と同定した。

S. pneumoniae や他の mitis group 菌種は左下の円の部分に位置しており、明らかに区別することができている。

により他菌種と鑑別可能であるとしているが、種々の遺伝学的方法（pneumolysin, autolysin 特異 PCR や 16S rDNA, *sodA* による系統解析）では、鑑別できないとのデータを示している。今年の日本細菌学会総会では4種の house keeping 遺伝子を結合させた配列での系統解析の結果が発表³¹⁾されており、各菌種がよく鑑別できていたが、*S. pneumoniae* と *S. pseudopneumoniae* は菌種レベルの差がないように見受けられた。この新菌種に関しては、独立した菌種とするのが妥当であるか、いささか疑念を持っている。

VII. Anginosus group

このグループには *S. anginosus*, *S. constellatus* subsp. *constellatus*, *S. constellatus* subsp. *pharyngitis*, *S. intermedius* の3菌種2亜種が含まれている。

ミレリーグループ (milleri group) という名称が長く使われてきたが、時にグループ名ではなく、菌種名のごとく表記されることがある（特にヨーロッパ諸国では独立した菌種であると考えている研究者もいる）など、その分類に混乱をきたす可能性があったため、anginosus group という名称を新たに提唱し、国際命名委員会でも承認を受けた²⁰⁾。

Anginosus group の3菌種は1987年にDNA相同試験で差が認められないとの理由から1菌種 (*S. anginosus*) に統合され、その後1991年にWhileyらにより改めて元の3菌種に分けられたという経緯がある^{32,33)}。その際に3菌種の鑑別に有用な性状も発表され、その分類同定に一応の決着がついた³⁴⁾。1999年に*S. constellatus*に1亜種が追加されたが、実は*S. anginosus*に類縁のDNA-similarityを示す別の菌株群が存在していることも提示されている³⁵⁾。この菌株群については新亜種を記載する必要がある（分類群として独立していないと同定の対象として考慮されず同定不能株として処理されてしまうことが危惧される）ので、発表者のWhiley博士に新亜種提案を強く奨めたが、現在までに亜種としての正式な提案はされていない。

このグループにはさまざまな俗名、通称名のような物が付けられている（表4）。このグループの菌株は嫌気培養あるいは炭酸ガス培養で非常に発育が促進されることから、微好気性連鎖球菌 (microaer-

obic streptococci) と称されることがある。また Minut-colony forming beta-hemolytic streptococci という名称は、Lancefield血清型A, C, F, G（あるいは血清型別不能）を持っているが、*S. pyogenes* (Group A streptococci) と違い、非常に小さいコロニーを作る菌群の名称で現在のanginosus group（ほとんどは*S. anginosus*）とほぼ同一であると考えてよい。アメリカでよく使われる *Streptococcus MG-intermedius* (*S. Milleri* Group-intermedius) は現在の*S. intermedius*に相当する。また、*S. anginosus-constellatus*と表現されているものは現在の*S. constellatus*に相当する。

VIII. Mutans group

このグループは当初*S. mutans*およびその亜種あるいは一血清型として知られていた菌群が、独立した菌種として提案された7菌種で構成されていた。2000年以降2菌種が動物から見出されたので、現在は9菌種存在する。ヒト口腔内からは*S. mutans*が最もよく分離され、次いで*S. sobrinus*が、まれに*S. rattii*, *S. cricetus*が分離されるとの報告がある³⁶⁾。周知のごとく*S. mutans*は齲食の原因菌として重要であり、特に歯科領域で、その病原性などに関する研究が盛んである。

IX. Bovis group

このグループはLancefield D群抗原をもつが6.5% NaCl存在下で発育しない、いわゆる“non-enteric group D streptococci”と呼ばれていた菌群で、*Enterococcus*属に移籍されなかった菌種から構成されている。臨床的には*S. bovis*は大腸ガンとの関連がとりざたされている³⁷⁾が、分類学的には、ここ10年間で最もホットに議論されてきたグループである³⁸⁻⁴⁴⁾。このグループは大きく6つのDNA-similarity groupから成ることがすでに分かっていた。DNA group-1, 5, 6については古くから菌種が明らかになってきたが、DNA group-2, 4についてはさまざまな紆余曲折（菌種提案や菌種の合併、非合法名の提案やいったん消滅した亜種の復活など）があり、その結果、現在はgroup-2に1菌種3亜種、group-4に2菌種2亜種が提案されている（図5）。しかし、

DNA group 3 に対応する菌種はまだ決定されていない。既存の菌種も含め、まだ分類学的検討の余地があるグループである。

X. Salivarius group

このグループには3菌種が含まれる。*S. salivarius* は名前のごとく、口腔内の唾液より分離された菌種であるが、その病原性は時に心内膜炎を起こす程度である。*S. salivarius* はレバン、グルカンなどの菌

体外多糖を産生することが特徴であるが、他の α 溶血性 streptococci もグルカンなどを産生することが知られており、Mitis-salivarius 培地上のコロニーの判別も容易でないことがある。

XI. Other

S. acidominimus, *S. suis* は他の菌種とそれほど近縁な関係にないことが報告されていた。16S rDNA による系統解析でも、この菌種は明確なグループを

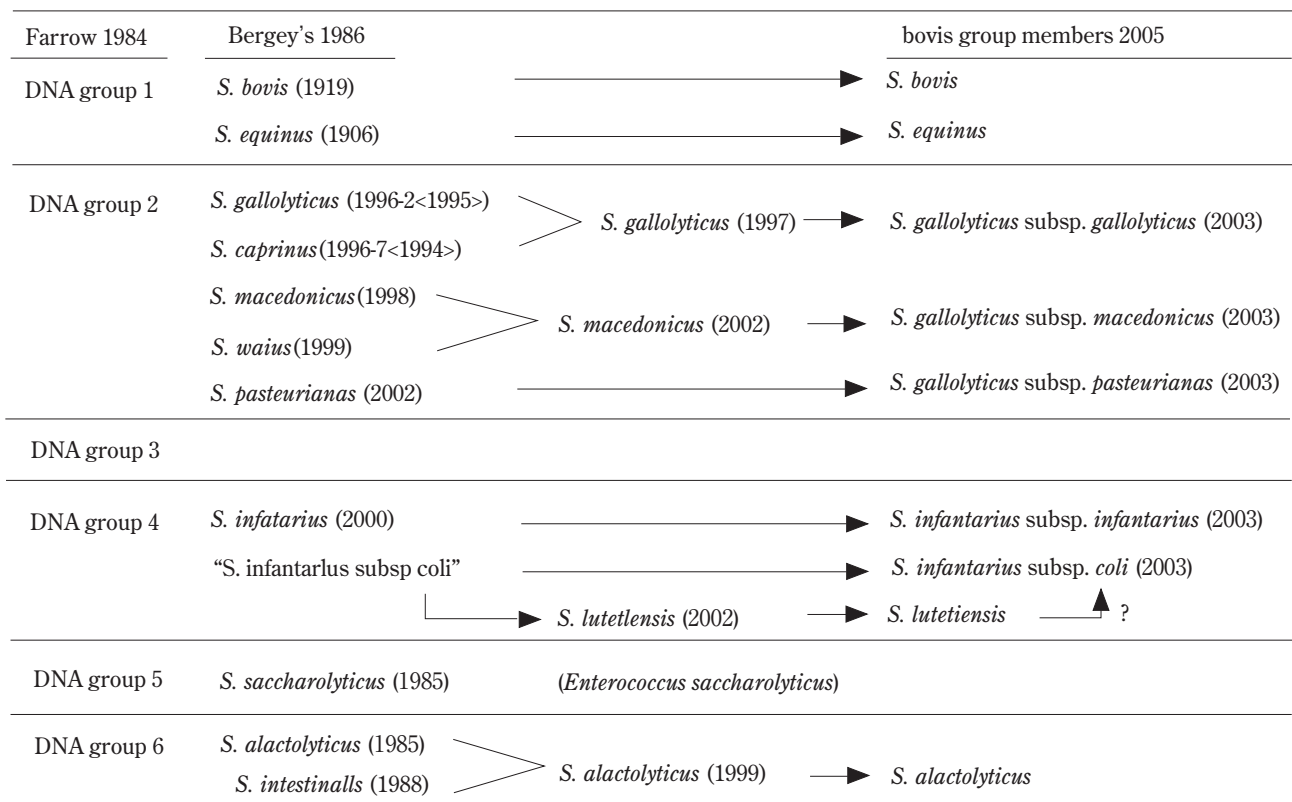


図5 Bovis group 菌種の分類の変遷

Bovis group 内の DNA group 1 には *S. bovis*, *S. equinus* があり、現在も菌種として存在している。DNA group 5 には *S. saccharolyticus* があったが、1991年に *Enterococcus* 属に移籍された。DNA group 6 には *S. alactolyticus* と *S. intestinalis* があったが、同一菌種であることが分かり、1999年に統一された。DNA group 3 に相当する分類群はまだ提案されていない。

DNA group 2 に相当する菌種として *S. gallolyticus* と *S. caprinus* が別々の研究者により発表されたが同じ菌のことであることが分かり、1997年に *S. gallolyticus* に統一された。その後 *S. macedonicus*, *S. waius* という菌種も提案されたが、これも同一菌種であることが分かり *S. macedonicus* に統一された。2002年に *S. pasteurianus* という菌種が発表されたが、2003年にこれらの菌種はお互いに亜種レベルの関係であることが明らかにされ、*S. gallolyticus* の3亜種に統合された。

一方、DNA group 4 に相当する菌種としては、2000年に *S. infantarius* が記載された。実は、このときに著者らは *S. infantarius* subsp. *infantarius* と *S. infantarius* subsp. *coli* を提案していたのだが、subsp. *coli* の基準株を指定しないというミスを犯し、subsp. *coli* は正式名として登録されなかった（自動的に subsp. *infantarius* もなくなり、菌種としての *S. infantarius* のみが登録された）。2年後の2002年に別の著者により "*S. infantarius* subsp. *coli*" に相当する菌株群に対して *S. lutetiensis* という名の菌種を作るという提案がなされた。一方、2000年に "*S. infantarius* subsp. *coli*" を提案していた著者らは2003年に基準株を指定して再度 *S. infantarius* subsp. *coli* を提案した。論文中では *S. lutetiensis* との関係について触られていないが、同一の分類群に異なった名称が付けられていることは明らかである。今後両分類群を統一するような提案が出されるであろう。

形成していないことがわかり、特にグループ名を付けなかった。新菌種 *S. gallinaceum* も発表当初から、この2菌種との類縁関係が指摘されており、othersのグループに入った。

S. hyointestinalis は当初 pyogenetic group に所属させていたが、他の pyogenetic group のメンバーとは若干疎遠な系統位置に存在していることが分かってきた¹⁹⁾。今回ほぼすべての *Streptococcus* 属菌種を使った系統解析で pyogenic group とは離れていることが分かったので、本文では others のグループに仮に入れた。その詳細な系統位置については、さらに検討する必要があるだろう。

S. suis は Lancefield の血清型 R, S, T と反応すると一般に記述されているが、D, E, N などとも交差反応を起こすなど多様である。*S. suis* として括っている菌種には複数の新菌種候補が含まれていると考えており、今後の検討課題である。

今年になって中国で *S. suis* を原因とするヒトの感染が見つかり話題を呼んだ⁴⁵⁾。215人の感染が報告され39人が死亡した。基本的にはヒト-ヒト感染は起こさず、感染ブタ（または豚肉）との濃厚な接触でのみ伝達が起こるようである。また食用の豚肉は適切に調理すればリスクはないとの報告がある。原因株の病原性の強弱等は不明であり、Toxic shock syndrome との関連も指摘されている。*S. suis* のゲノム DNA のうち 20～30% は機能不明であるので、疫学的検討とともに、今後解析が必要となるう。

XII. New species group

1997年以降発表された動物由来の新菌種で、他のグループには入らなかった7菌種が1つのクラスターを形成しているのは興味深い。動物からは、これからも新菌種が報告されてくると思われるので、その動向を見ながら、それら菌種を第7番目のグループとしてまとめるべきか否かを検討したいと考えている。

おわりに

細菌の菌種の定義は“DNA/DNAハイブリッド形成試験において70%以上の類似度 (similarity) を示し、デルタ Tm 値 (ハイブリッドの温度安定性

を図る指標) が5℃以下の幅に入る菌株の集まり”であると公式に定義されている⁴⁶⁾。現在最もよく使われている16S rDNA塩基配列と菌種の定義との関連については“16S rDNA塩基配列が97%以下の一致率 (homology) しかない菌株の組み合わせでは別菌種として扱ってよいが、それ以上の homology がある場合にはDNA/DNAハイブリッド形成試験のデータで菌種名を確認する必要がある”ということになっている⁴⁷⁾。97%以上の一致率を示す組み合わせでは、同一菌種の場合も別菌種の場合も存在するので、菌種の異同は分からないのである。

2002年に国際微生物命名委員会の“細菌の菌種の再評価に関する特別委員会”が新しいレポートを発表した⁴⁸⁾。菌種の評価に関する種々の提言が行われているが、有望な方法 (技術) として“5つ以上の house keeping gene (普遍的な遺伝子) のデータを収集し、菌種の定義、他菌種との鑑別に役立てよう”というものが提案されている。これを受けて、近年16S rDNA以外の遺伝子を使った系統解析が以前にも増して盛んに行われるようになった。現在、分類同定に問題を残しているグラム陽性球菌の *Staphylococcus* 属、*Streptococcus* 属にも、これら新手法が取り入れられ、菌種同定のみならず、生物としての特徴付けができるようになればと願っている。

文 献

- 1) Woese, C.R.: Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51 : 221-271, 1987.
- 2) Schleifer, K.H.: Gram-positive cocci. 999-1103. In Sneath, P.H.A. and Holt, J.G. (eds), *Bergey's manual of systematic bacteriology Vol.2*. Baltimore, Williams & Wilkins Co. 1986.
- 3) Garrity, G.M and Holt, J.G.: The road map to the manual. 119-166. In Garrity, G.M. (eds), *Bergey's manual of systematic bacteriology 2nd edition, vol.1*. New York, Springer-Verlag. 2001.
- 4) Kloos, W.E., George, C.G., Olgiate, J.S., Van Pelt, L., McKinnon, M.L., Zimmer, B.L., Muller, E., Weinstein, M.P., and Mirrett, S.: *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus* subsp. nov., a novel trehalose- and N-acetyl-D-glucosamine-negative, novobiocin- and multiple-antibiotic-resistant subspecies isolated from human blood cultures. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48: 799-812, 1998.
- 5) Kloos, W.E., Ballard, D.N., George, C.G., Webster, J.A., Hubner, R.J., Ludwig, W., Schleifer, K.H., Fiedler, F., and

- Schubert, K.: Delimiting the genus *Staphylococcus* through description of *Macrococcus caseolyticus* gen. nov., comb. nov. and *Macrococcus equiperfcicus* sp. nov., and *Macrococcus bovicus* sp. no. and *Macrococcus carouselicus* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. **48**: 859-877, 1998.
- 6) Takahashi, T., Satoh, I., and Kikuchi, N.: Phylogenetic relationships of 38 taxa of the genus *Staphylococcus* based on 16S rRNA gene sequence analysis. Int. J. Syst. Bacteriol. **49**: 725-728, 1999.
 - 7) Kawamura, Y., Hou, X.G., Sultana, F., Hirose, K., Miyake, M., Shu, S.E., Ezaki, T.: Distribution of *Staphylococcus* species among human clinical specimens and emended description of *Staphylococcus caprae*. J Clin Microbiol. **36**: 2038-2042, 1998.
 - 8) Devriese, L.A., Poutrel, B., Kilpper-Balz, R., and Schleifer, K.H.: *Staphylococcus gallinarum* and *Staphylococcus caprae*, two new species from animals. Int. J. Syst. Bacteriol. **33**: 480-486, 1983.
 - 9) Euzby, J.: List of Changes in Taxonomic Opinion no.1. Notification of changes in taxonomic opinion previously published outside the IJSEM. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **55**: 7-8, 2005.
 - 10) Schleifer, K.H., Kilpper-Balz, R.: Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb.nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. **34**: 31-34, 1984.
 - 11) Chleifer, K.H., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Balz, R., Collins, M.D., Fischer, W.: Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. Syst. Appl. Microbiol. **6**: 183-195, 1985.
 - 12) Collins, M.D., Wallbanks, S.: Comparative sequence analyses of the 16S rRNA genes of *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus rimae* and *Streptococcus parvulus*: Proposal for the creation of a new genus *Atopobium*. FEMS Microbiol. Lett. **95**: 235-240, 1992.
 - 13) Ezaki, T., Li, N., Hashimoto, Y., Miura, H., Yamamoto, H.: 16S ribosomal DNA sequences of anaerobic cocci and proposal of *Ruminococcus hansenii* comb. nov. and *Ruminococcus productus* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. **44**: 130-136, 1994.
 - 14) Kilpper-Balz, R., Schleifer, K.H.: Transfer of *Streptococcus morbillorum* to the genus *Gemella* as *Gemella morbillorum* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. **38**: 442-443, 1988.
 - 15) Bouvet, A., van de Rijn, I., McCarty, M.: Nutritionally variant streptococci from patients with endocarditis: Growth parameters in a semisynthetic medium and demonstration of a chromophore. J. Bacteriol. **146**: 1075-1082, 1981.
 - 16) Kawamura, Y., Hou, X.G., Sultana, F., Liu, S., Yamamoto, H., Ezaki, T.: Transfer of *Streptococcus adjacens* and *Streptococcus defectivus* to *Abiotrophia* gen. nov. as *Abiotrophia adjacens* comb. nov. and *Abiotrophia defectiva* comb. nov., respectively. Int. J. Syst. Bacteriol. **45**: 798-803, 1995.
 - 17) Collins, M.D., and Lawson, P.A.: The genus *Abiotrophia* (Kawamura et al.) is not monophyletic: proposal of *Granulicatella* gen. nov., *Granulicatella adiacens* comb. nov., *Granulicatella elegans* comb. nov. and *Granulicatella balaeopterae* comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. **50**: 365-369, 2000.
 - 18) Schleifer, K.H., and Kilpper-Balz, R.: Molecular and Chemotaxonomic approaches to the classification of Streptococci. Enterococci, and lactococci: A review. Syst. Appl. Microbiol. **10**: 1-19, 1987.
 - 19) Kawamura, Y., Hou, X.G., Sultana, F., Miura, H., Ezaki, T.: Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus*. Int. J. Syst. Bacteriol. **45**: 406-408, 1995.
 - 20) Subcommittee on the taxonomy of staphylococci and streptococci.: Minutes of subcommittee meeting, Paris, 1996. Unpublish.
 - 21) Vandamme, P., Pot, B., Falsen, E., Kersters, K., Devriese, L.A.: Taxonomic study of Lancefield streptococcal groups C, G, and L (*Streptococcus dysgalactiae*) and proposal of *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* subsp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. **46**: 774-781, 1996.
 - 22) Hashikawa, S., Inuma, Y., Furushita, M., Ohkura, T., Nada, T., Torii, K., Hasegawa, T., and Michio Ohta, M.: Characterization of Group C and G Streptococcal Strains That Cause Streptococcal Toxic Shock Syndrome. J. Clin. Microbiol. **42**: 186-192, 2004.
 - 23) Kawamura, Y., Itoh, Y., Mishiam, N., Ohkusu, K., Kasai, H., and Ezaki, T.: High genetic similarity of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus difficilis*: *S. difficilis* Eldar et al. 1995 as a junior synonym of *S. agalactiae* Lehmann and Neumann 1896 (Approved Lists 1980). Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **55**: 961-965, 2005.
 - 24) Eldar, A., Frelie, P.F., Assenta, L., Varner, P.W., Lawhon, S., Bercovier, H.: *Streptococcus shiloi*, the name of an agent causing septicemic infection in fish, is a junior synonym of *Streptococcus iniae*. Int. J. Syst. Bacteriol. **45**: 840-842, 1995.
 - 25) Judicial Commission.: Opinion 66. Designation of strain NS51 (=NCTC 12261) in place of strain NCTC 3165 as the type strain of *Streptococcus mitis* Andrewes and Horder 1906. Int. J. Syst. Bacteriol. **43**: 391, 1993.
 - 26) Adnan, S., Li, N., Miura, H., Hashimoto, Y., Yamamoto, H., Ezaki, T.: Covalently immobilized DNA plate for lumino-metric DNA-DNA hybridization to identify viridans streptococci in under 2 hours. FEMS. Microbiol. Lett. **106**: 139-142, 1993.
 - 27) Kawamura, Y., Hou, X.G., Sultana, F., Liu, S., Shu, S., Ezaki, T.: Differentiation of alpha-hemolytic streptococci by 16S rRNA based species-specific probes. 13th Lancefield international symposium on streptococci and streptococcal diseases, Paris, France, 1996.
 - 28) Poyart, C., Berche, P., Trieu-Cuot, P.: Characterization of superoxide dismutase genes from gram-positive bacteria

- by polymerase chain reaction using degenerate primers. FEMS Microbiol. Lett. **131**: 41-45, 1995.
- 29) 河村好章, 三島徳子, 磯貝恵美子, 高尾亜由子, 中山礼子, 白井弘幸, 伊藤葉子, 大楠清文, 前田伸子, 石橋克禮, 江崎孝行: ベーチェット病患者由来菌株の分類学的解析 - *sodA* 遺伝子部分塩基配列の比較による菌種同定の有用性の再確認 - . 第13回 Lancefield レンサ球菌研究会, 東京. 2004.
 - 30) Arbique, J.C., Poyart, C., Trieu-Cuot, P., Quesne, G., Carvalho, M.G.S., Steigerwalt, A.G., Morey, R.E., Jackson, D., Davidson, R.J., and Facklam, R.R.: Accuracy of Phenotypic and Genotypic Testing for Identification of *Streptococcus pneumoniae* and Description of *Streptococcus pseudopneumoniae* sp. nov. J. Clin. Microbiol. **42**: 4686-4696, 2004.
 - 31) 星野倫範, 藤原卓, Poulsen, K., and Killian, M.: 4種のハススキーピング遺伝子を用いた菌血症由来レンサ球菌の遺伝系統学的分類. 第78回日本細菌学会総会, 東京. 2005.
 - 32) Whiley, R.A., and Hardie, J.M.: DNA-DNA hybridization studies and phenotypic characteristics of strains within the "Streptococcus milleri group". J. Gen. Microbiol. **135**: 2623-2633, 1989.
 - 33) Whiley, R.A., and Beighton, D.: Emended descriptions and recognition of *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, and *Streptococcus anginosus* as distinct species. Int. J. Syst. Bacteriol. **41**: 1-5, 1991.
 - 34) Whiley, R.A., Fraser, H., Hardie, J.M., Beighton, D.: Phenotypic differentiation of *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* strains within the "*Streptococcus milleri* group". J. Clin. Microbiol. **28**: 1497-1501, 1990.
 - 35) Whiley, R.A., Hall, L.M.C., Hardie, J.M., and Beighton, D.: A study of small-colony, beta-haemolytic, Lancefield group C streptococci within the anginosus group: description of *Streptococcus constellatus* subsp. *pharyngis* subsp. nov., associated with the human throat and pharyngitis. Int. J. Syst. Bacteriol. **49**: 1443-1449, 1999.
 - 36) Hamada, S., Hasuda, N., Kotani, S.: Isolation and serotyping of *Streptococcus mutans* from teeth and feces of children. J. Clin. Microbiol. **11**: 314-318, 1980.
 - 37) Klein, R.S., Recco, R.A., Catalano, M.T., Edberg, S.C., Casey, J.I., Steigbigel, N.H.: Association of *Streptococcus bovis* with carcinoma of the colon. N. Engl. J. Med. **297**: 800-802, 1977.
 - 38) Osawa, R., Fujisawa, T., Sly, L. I.: *Streptococcus gallolyticus* sp. nov.; gallate degrading organisms formerly assigned to *Streptococcus bovis*. Syst. Appl. Microbiol. **18**: 74-78, 1995.
 - 39) Sly, L. I., Cahill, M. M., Osawa, R., Fujisawa, T.: The tannin-degrading species *Streptococcus gallolyticus* and *Streptococcus caprinus* are subjective synonyms. Int. J. Syst. Bacteriol. **47**: 893-894, 1997.
 - 40) Tsakalidou, E., Zoidou, E., Pot, B., Wassill, L., Ludwig, W., Devriese, L. A., Kalantzopoulos, G., Schleifer, K. H., Kersters, K.: Identification of streptococci from Greek Kasser cheese and description of *Streptococcus macedonicus* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. **48**: 519-527, 1998.
 - 41) Schlegel, L., Grimont, F., Collins, M. D., Régnault, B., Grimont, P. A. D., Bouvet, A.: *Streptococcus infantarius* sp. nov., *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* subsp. nov. and *Streptococcus infantarius* subsp. *coli* subsp. nov., isolated from humans and food. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **50**: 1425-1434, 2000.
 - 42) Manachini, P. L., Flint, S. H., Ward, L. J. H., Kelly, W., Fortina, M. G., Parini, C., Mora, D.: Comparison between *Streptococcus macedonicus* and *Streptococcus waius* strains and reclassification of *Streptococcus waius* (Flint et al. 1999) as *Streptococcus macedonicus* (Tsakalidou et al. 1998). Int J Syst Evol Microbiol, **52**: 945-951, 2002.
 - 43) Poyart, C., Quesne, G., Trieu-Cuot, P.: Taxonomic dissection of the *Streptococcus bovis* group by analysis of manganese-dependent superoxide dismutase gene (*sodA*) sequences: reclassification of "*Streptococcus infantarius* subsp. *coli*" as *Streptococcus lutetiensis* sp. nov. and of *Streptococcus bovis* biotype II.2 as *Streptococcus pasteurianus* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. **52**: 1247-1255, 2002.
 - 44) Schlegel, L., Grimont, F., Ageron, E., Grimont, P. A. D., Bouvet, A.: Reappraisal of the taxonomy of *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species: description of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* subsp. nov., *S. gallolyticus* subsp. *macedonicu*. Int J Syst Evol Microbiol. **53**: 631-645, 2003.
 - 45) CDC news : Outbreak associated with *Streptococcus suis* in pigs in China. 2005.
http://www.wpro.who.int/media_centre/news/news_20050816.htm
 - 46) Wayne, L.G., Brenner, D.J., Colwell, R.R., Grimont, P.A.D., Kandler, O., Krichevsky, M. I., Moore, L.M., Moore, W.E.C., Murray, R.G.E., Stackebrandt, E., Starr, M.P., and Truper, H.G.: Report of the ac hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. Int. J. Sys. Bacteriol. **37**: 463-464, 1987.
 - 47) Stackebrandt, E. Goebel, B.M.: Taxonomic note; A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. Int. J. Syst. Bacteriol. **44**: 846-849, 1994,
 - 48) Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G.M., Grimont, P.A.D., Kampf, P., Maiden, M.C.J., Nesme, X., Rossello-Mora, R., Swings, J., Truper, H.G., Vauterin, L., Ward, A.C., and Whitman W.B.: Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. Int J Syst Evol Microbiol, **52**: 1043-1047, 2002.