

喀痰から分離したカンジダ属に就いて

琉球衛生研究所 細菌部

新城長重

1. 緒言

各種の優秀な化学療法剤、就中広スペクトル抗生物質の普及に伴い、各種感染性疾患の治療に著明な効果があつたことは周知の通りである。然かし近年、耐性菌の出現、過敏症の問題及び菌交代現象の一環と思われる真菌症等が漸増していることは事実である(1)。

カンジダ属は真菌に属し、人体寄生性の菌種は主に人体の気道、消化管及び其の他に常在すると云われております(1)、或る菌種はカンジダ症(モニア症)の病原体となり得るものである。現在、抗生物質療法の普及発展に伴い、カンジダによる疾患も増加する傾向にあると推定されるので、著者は昨1960年3月から喀痰中に於ける人体寄生性と云われる下記七種のカンジダ属の菌種について検索を始め、その分離及び同定を試みた。以下に1960年3月から12月迄8ヶ月間の結果を報告する。

検索菌種(2), (3)

1. *Candida albicans* (Robin) Berkhout 1853,
2. *Candida guilliermondii* (Castellani)
Langeron et Guerra 1912,
3. *Candida krusei* (Castellani) Berkhout 1910,
4. *Candida Parakrusei* (Ashford) Langeron t
Talice 1928,
5. *Candida Pseudotropicalis* (Castellani)
Basgal 1911,
6. *Candida stellatoidea* (Jones et Martin)
Langeron et Guerra 1937,
7. *Candida tropicalis* (Castellani) Berkhout
1910,

2. 実験方法

1) 検体：結核菌の塗抹又は培養検査、又はその他の細菌の薬剤感受性試験等、各種の細菌検査のため主に那覇市内の各種病院から又は直接当衛生研究所に提出された喀痰を用いた。

2) 使用培地

- 「北研」カンジダ分離用培地,
Sabouraud Glucose Agar (以下S. G. A.)
Sabouraud Glucose Bouillon (以下S. G. B.)
血液寒天
普通寒天
Gorodokowa Agar
馬鈴薯寒天

糖培地

- 2% Glucose-Pepton Media
2% Lactose-Pepton Media
2% Maltose-Pepton Media
2% Sucrose-Pepton Media

3) 喀痰からの菌の分離には「北研」カンジダ分離用培地及びS. G. A. 平板を用いて分離し、S. G. A. 斜面に純培養とし同定試験に供した。

4) 菌種同定：分離菌株からS. G. A. 平板、S. G. B.、血液寒天平板、普通寒天斜面に夫々菌を移植し生物学的性状を検査した。

即ち

I S. G. A. 平板2枚に夫々菌を画線培養並びに巨大培養を行い、十日間集落の形態を観察した。その間に画線培養したものから弧立集落一個を釣菌し Gorodokowa 培地に接種し子嚢形成の有無を検し、子嚢を形成したものはカンジダ陰性とし、この実験から除外した。

II S. G. B. に菌を接種し7日間皮膜形成及び発育状態を観察した。

III 血液寒天二枚に夫々菌を画線培養並びに巨大培養し、10日間集落の形態及び色調を観察した。

VI 普通寒天に2~3代菌を継代培養した後、滅菌生理食塩水で菌浮遊液を作り、それぞれ1白金耳ずつ上記4種の糖培地に接種し、培地表面に滅菌パラフィン(固形パラフィン5:流動パラフィン1)を重層し、2週間に亘つて酸の形成及びガスの発生を調べた。尚馬鈴薯寒天を用いて室温でSlide-Cultureを行い、仮性菌糸及び分芽胞子の形態や厚膜胞子形成の有無を調べた。

分離同定方法を第1図に要約する。

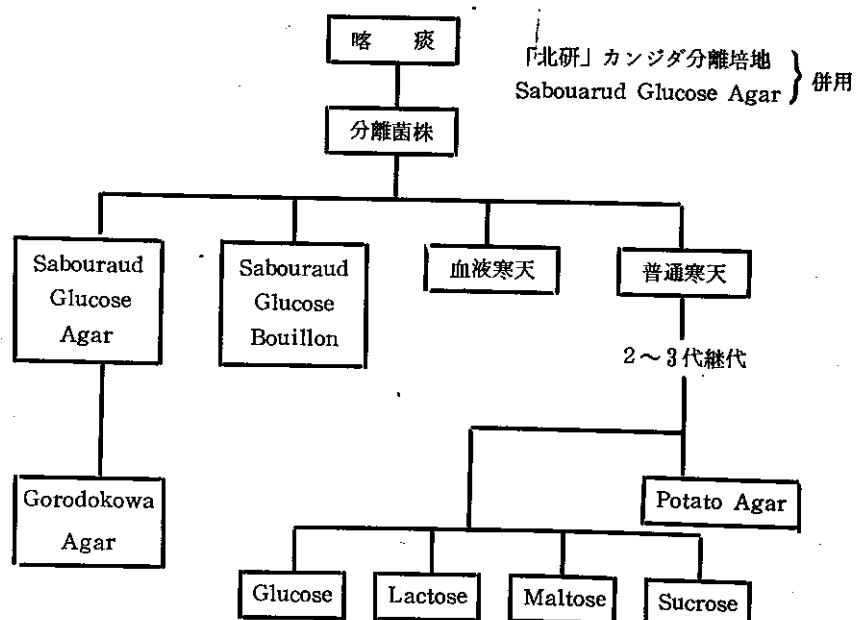
尚同定は生物学的方法によつてのみ行い、同定に当つてはMartin et al. のカンジダ属の主要菌種検索表を用いた。(2), (3)

3. 実験成績

1960年3月から12月迄の実験成績を纏めて第II表に示す。

即ち、92検体の中50検体(54.4%)からカンジダが分離された。菌種別の割合を示すと C. stellatoidea が20株で40%を示して一番多く、次に C. tropicalis が10株で20%、C. albicans が8株で16%、C. krusei と C. parakrusei が夫々4株で8%、又 C. guilliermondii

第1図 生物学的性状検査方法



第II表 検査結果

1960年1月～12月

C. stellatoidea 20 (40%)		
C. tropicalis 10 (20%)		
C. albicans 8 (16%)	50菌株 (54.4%)	
C. krusei 4 (8%)		92 検体
C. parakrusei 4 (8%)		
C. guilliermondii 2 (4%)		
C. pseudotropicalis 2 (4%)		
其の他の真菌	22 (28.9%)	
陰 性	20 (21.7%)	

とC. pseudotropicalisが夫々2株で4%を示している。上記7種以外の真菌はすべてその他の真菌として纏めたその分離菌株数は22株で全検体中の28.9%を示した。尚真菌を分離し得なかった検体は20個で全検体の21.7%を示した。

4. 考察及び結論

今回の実験成績をこれまでの研究者の咽喉頭からのカ

ンジダ属の検出率と比較すると⁽⁴⁾、第III表のようになる。1951年以後では美甘氏の64.8%から坂元氏の25%迄約40%の差があり、著者のデーターも他の研究者のそれより比較的高率を示している。然しかしこれは92検体からの検出率であり、これで大凡を決定することは自ら無理を伴うので、尚多数の検体に就いて比較研究してみたい。

菌種別の検出率に就いても同様であるので茲に坂上氏のデーター⁽⁴⁾と対照して第IV表を掲げておくに留める。

尚カンジダ属の抗原構造や病原性の問題は今回の実験では触れなかつたが、現在、追求中であり、その詳細は別紙で報告する。

第III表 咽喉頭からのCandida属の検出率比較

Tanner	(1927)	10 %	
Todd	(1937)	14.7	
Young	(1951)	48.8	
美 甘	(1953)	64.8 (抗生素質、使用群)	
"	"	53.2 (" " 非使用群)	
坂 元	(1954)	25	
山 下	(1956)	21.85 (真菌 25.8%)	
坂 上	(1960)	37.06 —	
新 城	"	54.4 (真菌 28.9%)	

第IV表 各菌種の検出率比較

坂上 (1960)	新城 (1960)
C. albicans 89.6%	C. stellatoidea 40%
C. krusei 6	C. tropicalis 20
{C. guilliermondii } 1.7	C. albicans 16
{C. stellatoidea } 1.7	{C. krusei } 8
C. tropicalis 0.9	{C. parakrusei }
{C. parakrusei } 0	{C. guilliermondii } 4
{C. pseudotropicalis } 0	{C. pseudotropicalis } 4

5. 文 献

- 1) 正吉良夫: Modern Media, 3 (5) pp. 108. 1957
- 2) Martin, D. S., et al.; J. Bact., 34, 99, 1937.
- 3) Martin, D. S., et al.; ibid, 39, 609, 1940.
- 4) 坂上俊治: 長崎大学風土病紀要、2, (2), 113, 1960,
- 5) Conant, N. F. et al.: Manual of Clinical Mycology, 2nd Ed., 1954.

土壤より分離せる抗菌性放線菌 (予報)

琉球衛生研究所 細菌部

具志頭朝昭

緒 言

自然界に於ては、生物の間に激しい生存競争が繰返されている。下等生物の間にも一方の微生物が他の微生物の発育を抑制する代謝物質を産生し、これを抑圧させ繁栄を奪い取るといった生存の斗争が常に行われていることは周知の通りである。伝染病死体を土中に埋めると、その中の病原体は比較的早くほろんで、失くなつてしまうという事は古くから知られていた。1889年にDoehleが行つた炭疽菌と一種の球菌の実験以来、多くの研究者により、Streptomycin、Chloramphenicol、Aureomycin、Terramycin 等150種以上の抗生物質が発見されている。現在知られている抗生物質生産原は、カビ類、酵母類、放線菌類、細菌類等の微生物、高等植物及び動物組織から見出されている。今回、これ等抗生物質生産原中、特に土壤中の放線菌を対象として、琉球各地の土壤より分離し、その分離菌株に就いて、如何なる抗菌性物質が産生されるかを目的として、初めに金武村の土壤より分離をこころみ、若干の成績を得たので茲に予報として報告する。

実験方法

1) 分離方法

土壤500mgを2.5mlの滅菌蒸溜水で稀釀し1%glucose 加普通寒天培地 (pH5.4) へ1白金耳塗 抹して30°C48時

間培養後、叢生した放線菌集落を上記の斜面培地と、Stephenson-Whetham 培地中のN-原である $(NH_4)_2 PO_4$ を酵母エキス (1000ml) に対して 10g) に変えものへ移植し、液面を広くするために傾斜して30°Cで静置培養した。

2) 抗菌性物質産生測定方法

a) からかじめ Test Organisms (T.O) として、Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Sarcina lutea, Bacillus sp. を普通寒天培地へ、Candida albicans を Sabouraud 寒天培地へ植えそれぞれのブイヨン培養液を作りそれから菌液各 1ml 宛を夫々の寒天培地に混釀培養した。次いで、混釀平板培養基上に内径 0.5cm、高さ 1.0cm のガラス円筒を置き、その内へ被検液を 0.1ml 分注して 37°C、24時間培養後阻止帯の有無及びその径を測定した。

b) Stephenson-Whetham の変法培地中に産生された抗菌性物質の時間的变化を知るために、24, 48, 72, 96, 120 時間毎に培養液を探つて調べた。

c) T.O. には当所で分離した菌株を用いたので、あらかじめ、これらの薬剤耐性の有無をディスク法で測定した。その結果は下表の通りで C. albicans 以外は、5 種薬剤に対して感受性を示した。

	P. C. 0.5u/disk	Erythromycin 0.58/disk	Di-hydroSM- 2.08/disk	C M 58/disk	T M 58/disk	
E. coli	+	+	卅	卅	卅	
Staph. aureus	+	卅	+	廿	卅	
Sar. lutea	卅	卅	+	卅	卅	
Bacillus sp	+	+	卅	+	+	(1961年1月)
C. albicans	-	-	-	-	-	