Candida 属細胞を破壊する桿菌 *Bacterium candidodestruens* Akiba et Iwata

に関する分類学的研究

秋葉 朝一郎 岩田 和夫

東京大学医学部微生物学教室

[受付: 10月14日 1953年]

前報¹⁾において著者は *Candida* 症患者²⁾より分離した gram 陰性赤色色素産生桿菌 (*Bacterium candidodestruens* Akiba et Iwata と命名) が, *Candida* 属細胞或は酵母細胞に侵入してこれを破壊するという特殊な現象について報告したが, 本報にはこの菌の分類学的検索の結果について報告する。

I. 形態学的性状

外形: 長さ $1.0 \sim 4.6 \mu$, 幅 $0.6 \sim 0.9 \mu$, 平均 $2.5 \times 0.7 \mu$ の桿菌で, 培養が古くなるに従つて多形態性を示すが, 異常形態は認められない。両端鈍円。通常単在するが, しばしば縦に2個連なるもの, 稀に多数集團をなして存在するものがある (Fig. 10—写真はすべて前報に掲載した)。

運動性: 極めて活潑で, かつ特徴的である。菌体をラセン状に波動させて頗る速かに前進し, 視野をみるまに通過してしまうものがあり, 或は位置を余り移動せずに活潑に運動しているもの, 稀に菌体の一端を中心として速かな円運動を続け, それを急に中止して前進運動に変るもの等がみられ, 特に *Candida* 属細胞と共存せしめるときの運動は一種独特であり, これは前報に記載した如く, 一見原虫的運動を想わせるものがある。

鞭毛: 菌体の一端に多くは6~8本の鞭毛を有する lophotrichate であるが, 1~2本の少数のものもあり, 又脱落せるものも多い。長さは菌体のその2~6倍である (Figs. 10, 11)。

芽胞: なし。

荚膜: なし。

染色: 単染色では比較的染りが悪いが, 両極は濃染し, この部分は無染色標本で暗く, ときに赤く輝いてみえる部分と一致し, 従つて色素はこの両極に存在するようである。火焰固定等の処置は, 菌体を著しく収縮せし

めるため, 双球菌の如き観を呈する。gram 陰性であるが, 両極は陽性に染まる場合が多い。非抗酸性である。

抵抗性: 加熱に対しては, 60°C 10分で死滅する。消毒剤に対しては, 石炭酸の場合, 80倍の溶液に10分間の接触により殺菌される。抗生物質に対しては, 本菌を分離した患者が各種抗生物質の大量投與をうけたため耐性となつたのか, 或は自然耐性株であるかは不明であるが, 一般に相当高度に耐性である。penicillin G kalium 塩, 1000 u/ml, dihydrostreptomycin 500 r/ml, aureomycin 50 r/ml にそれぞれ耐性であり, chloromycetin に対してはやゝ耐性度が低い, なお 10 r/ml で発育する。sulfa 剤は, この患者に投与されなかつたが, sulfathiazole に対しても相当耐性であつて, 10mg% で辛うじて阻止される。propionic acid に対しては, 1% でも発育が阻止されない。

培養: 通性嫌気性。至適温度は $30 \sim 35^{\circ}\text{C}$, 発育可能な温度は $10 \sim 40^{\circ}\text{C}$ 。色素の産生については, 後報に詳述するが, 37°C でもよく産生し, この点, 普通の色素産生菌とは異っているが, どちらかといえば, 幾分低温 $25 \sim 30^{\circ}\text{C}$ の方がよりよいようである。培地成分として, glucose その他の糖, 血液, 肝臓浸出液等は発育をより旺盛にする。

普通寒天平板培地上での発育は良好で, 直径 $2 \sim 3\text{mm}$ 正円形の集落。半球状に隆起し, 構造均質, 露滴状, 表面, 辺縁共に平滑 (Fig. 13)。赤色色素を産生するが, 培地中には滲透しない。glucose, lactose 等の糖加培地

AKIBA, Tomoichiro and IWATA Kazuo: Taxonomic Studies on a Certain Candida-destroying Bacterium (*Bacterium Candidodestruens* Akiba et Iwata). Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, University of Tokyo. —Jap. J. of Bact., 9(1), 1-4. 1954.

では、寒天と糖の含有量に應じて様々の swarming 現象を示す。寒天 2.5 %位では、平板の中心に菌を接種した場合、24 時間で、平板の直径の約 $\frac{2}{3}$ の直径を有する円形乃至橢円形の拡大を示し、その際周囲に幅 2~3mm の赤色の堤をつくり、中央部に着色しない、極めて薄い菌苔となり、その状態は、時間の経過と共に明瞭になり、菌の平板上での移動を物語っている (Fig. 15)。更に寒天含有量を 2 %位に減ずると 16~18 時間で、殆んど平板全面に及ぶ swarming を行い、その際の形状は海藻状或は銀杏の葉状で (Fig. 14)、特有の折り方を示す。更に 1.5 %位に減ずると、10 数時間以内に平板全体を完全に覆つてしまう。

斜面培地における発育も、平板培地と同様極めて旺盛で速かである (Fig. 13)。培養が古くなると、amine 臭に似た悪臭を発し、特に alcohol を添加したとき著しい。

寒天高層培地に穿刺培養すると、表面にはよく発育し、色素を産生するが、深部での発育は極めて悪い。ガスの産生はみられない。

液状培地でも発育良好で、均等に濁濁し、漸次沈渣が著しくなる。その沈渣は最初灰白色乃至淡褐色であるが後に赤変する。色素は作りにくく、最初表面管壁に沿つて赤色輪が形成されるのみであるが、漸次液全体が赤変してくる。菌膜は相当培養が古くならねば形成されず、しかも薄くて、振盪により、たやすくこわされる。色素は菌体内に有し、培地中には全く排出されぬようで Berkefeld 或は Seitz の濾過管で、赤色の菌液を濾過するに、濾液は全く赤色調を有しない。

じやがいも培地では発育、色素産生共に旺盛で、金属性光沢を有する。

血液寒天培地では、発育は極めて旺盛であるが、色素の産生は悪い。溶血作用はみられない。

II) 生化学的性状

catalase の産生：catalase 作用は極めて顯著で、泡沫の発生は頗る旺盛で、かつ永く続く。

硝酸塩の還元作用：なし。

色素の還元：methylen blue は還元脱色される。中性紅に対しても還元が行われるが、比較的緩徐で、程度も著しくない。

糖類の分解：分解されるものとしては、glucose, fructose, galactose, mannose, sucrose, maltose, trehalose, glycerol, adnitol, mannitol, sorbitol, salicin 等。分解されないもの、xylose, arabinose, rhamnase, lactose, dextrin, starch, inulin, glycogen, dulcitol,

esculin 等。

以上を糖類別にみると、単糖類では作用をうけるものと受けないものと半々であり、二糖類では lactose 以外は分解され、多糖類はいずれも作用されず、多價 alcohol では dulcitol 以外は分解される。分解されない糖類中にも極めて微弱の分解を示すが如く感じられるものもあるが、糖を含みぬ対照の peptone 水 (BTB を指示薬とした) でも、Duhram 管の附近、特にその内部においては若干の黄変がみられるので、大体その程度のものは陰性とみなした。しかも時間の経過と共に、赤色々素の産生が著しくなり、判定の妨げとなつた。なおいずれの糖においても visible gas の発生は認められず、蟻酸ソーダブイヨン培地においても、それは全く認められなかつた。

Voges-Proskauer 反應：陽性。

Methyl-red 試験：陰性。

sodium citrate 試験：陽性。

尿素分解試験：陰性。

trimethylamine oxide 還元試験：陽性。

gelatin 液化作用：極めて顯著。漏斗状に溶解し、赤色の沈渣を生じ、3~4 日間で、中試験管全体の培地を液化してしまう。

牛乳凝固：著明

血清液化：人凝固血清に穿刺培養すれば、深赤色の色素を深部に向い産生して行き、液化せしめる。

indole 反應：陰性。peptone 水全体が赤変するので Chamberland 濾過管で濾過した液について行つた。

硫化水素の産生：陰性。

III) 血清学的性状

本菌を分離した患者の死亡 3 週前の血清と本菌との凝養反應は、2 時間値、50 倍(+), 24 時間値、100 倍(±)であり、剖検時、心血より分離した血清とのそれは、2 時間値、200 倍(+), 24 時間値、400 倍(±)で、いずれも微細な凝集であつた。

IV) 病原性

37°C 18 時間ブイヨン培養の菌液 0.1 ml を 12~15 g のマウス腹腔内に接種すると、10 時間前後で、敗血症の状態で死ぬ。0.01 ml 注射では大部分耐過する。全身各臓器、殊に大腸において充血性の変化が強い。モルモットについても大体同様の所見がみられ、やはり相当大量 (0.5~1.0 ml) を接種しないと斃れない。

考 察

以上記載した諸性状中、本菌株の特徴とみなす可きは群毛性の鞭毛によつて極めて活潑な運動を行うこと、両

極性染色を示すこと、普通寒天培地に 37°C でよく発育し、培地中に拡散しない赤色色素を産生すること、swarming 現象を呈すること、各種の糖類より酸を生ずるが、ガスを生じないこと、gelatin 液化作用、catalase 作用の顕著なこと、実験動物に病原性を示すこと等であろう。なお各種の抗菌性物質に対して抵抗性が強いのは治療中に獲得した耐性であるか、自然耐性であるかは断定し難いが、後者とみるのが妥当と思われる。

かくの如き諸性狀から Begey's Manual of dleterm. inative Bacteriology (sixih edition, 1948) による分類学上の位置を検討してみるに、結局 Family XII. Bacteriaceae, Genus I. Bacterium, VIII. Gram-negative. Miscellaneous species, A. Produce a pink to red chromogenesis, I. Motile aa. Gelatin liquefied. の位置に該当する。Bergey's Manual p. 599 (以下頁数のみを記す)。この群に属する菌として、Bacterium rubidum (p. 641) が挙げられている。これは 1891 年 Eisenberg によつて最初記載され、Bacillus rubidus と命名されたものであるが、1897 年 Chester により Bacterium rubidus (cis) とに記載され、また Levine and Soppeland は buttermilk から分離し、Serratia rubida として報告した菌であるが、Eisenberg の記載した菌とは 2, 3 の点で異るといわれる。この菌は著者の分離した菌と類似する点も少くないけれども、前者は屢々長い連鎖を作るといわれ、発育が遅く、37°C ではよく発育せず、産生する色素が赤褐色であること等から、明かに異なる菌である。なお従来孢子を作らない gram 陰性桿菌で、Bacillus 属におかれていたものが少数あるが、それに関する Appendix I の 1. Produce a pink to red chromogenesis, A. Motile に Gruber の発見した Bacillus lactorubefaciens (p. 644) があるが、gelatin 液化作用を有せぬこと、色素産生上の相異等、異なる点が多い。

その他、色素産生の性質を含め、形態学的・生物学的性狀において、ある程度類似しているものは多い。例えば Chromobacterium 属の II. A. に属する Chromobacterium ianthinum (p. 232), Serratia 属の I. A. に属する Serratia marcescens (p. 479~481), Serratia indica (p. 481) がある。その他赤色色素産生桿菌としては、Athiorhodaceae 科の Rhodopseudomonas 属 (p. 861-866) にみられるが、種々の点において非常に遠いものである。但し、Chromobacterium 属 (p. 231) は一應考慮に入れるべきで、上述の如き菌株は、殊に類似点が多い。しかしこの属の色素は紫色であり、alcohol

に溶けるが、水、Chloroform には不溶とされ、著者の菌の色素は赤色で、水に不溶であるが、Alcohol, Chloroform には易溶である等の相異がある。従つて赤色色素産生菌の編入をこの属に許すならば、著者の菌は、この属の II 群に位置せしめることも可能となる訳であるが、不自然であろう。

色素は産生しないが、形態学的、生化学的性狀において類似するものに、Proteus 属の菌群がある。これらは gram 陰性運動性桿菌で、Swarming 現象を示し、又 glucose, sucrose を分解するが、lactose を分解しない等の点で類似し、特に mannitol を分解して酸を形成する II. A (p. 486) に、位置としてはかなり近いが、その他の点では異なる所が多い。

以上の諸性狀を総括的に眺めるならば、著者の分離した菌は、Serratia 属 1. A. 群と、Proteus 属 II. A 群との中間の性狀を具備した菌とみなすことができよう。

なお両極性染色を示す桿菌で、人及び動物に病原性を有する等の点では、Pasteurellae 族の Malleomyces 属 (p. 555-6) が類似するが、もとより培養とその他の性質が非常に異っている。

かくて、著者の分離した菌株は、過去の記載に該当するものがない。そこで本菌が Bacterium 属に入ること Candida 属の酵母様細胞を破壊する特徴を有することのために、Bacterium candidodestruens Akiba et Iwata と命名したわけである。尤も Candida 細胞のみならず、Saccharomyces 属の細胞をも破壊するけれども、最初に Candida albicans の細胞に対して破壊する現象を見出したので、その点を生かしたいと思うのである。

本菌株は既述の如く、Candida 症患者の口腔より 2 回と剖検時とに分離されたにすぎないが、分離をより精密頻繁に行えば、もつと屢々検出されたものと思われるし、剖検時に心血及び諸臓器より検出せられたこと、また凝集反應の成績等に鑑み、本症における混合感染菌として死に至る迄度々証明せられた S. paratyphi A と共に、なんらかの病的役割を演じていたものかとも考えられる。しかし本菌の自然界における分布が不明である現在、気道常在菌の二次的感染か、生体外から侵入したものは判らない。

結 論

汎発性 Candida 症患者の喀痰その他より、Candida 属及び Saccharomyces 属の細胞を攻撃破壊する作用をもつた、gram 陰性、孢子非形成、運動性を有する桿菌を分離し、主としてその生物学的性狀を記載した。

Bergey's Manual による分類学的検索の結果 *Bacterium* 属, VIII, A. I. aa. に位置するが, 従来記載せられた菌種に該当するものを見出しえず, 新種であることを確認し, *Bacterium candidodestruens* Akiba et Iwata を命名する所以を述べた。

本研究は真菌症研究班の文部省科学研究費の援助を得て行つたことを感謝する。

文 献

- 1) 秋葉, 岩田: ある種の桿菌が *Candida* 属細胞に胞侵入してこれを破壊する現象について, 日本細菌学雑誌 8(9), 951-960, 1953.
- 2) 高木, 六城, 東, 山根, 岩田, 奥平: パラチフス A に合併せる汎発性モニリア症の一例, 東京医学雑誌, 60 卷, 5-6 号, 1953. 361-2 頁