

Cryptococcus neoformans の新しい同定法について

竹 尾 漢 治

クリプトコッカス症の原因菌である *Cryptococcus neoformans* は菌体がカプセルによっておおわれている。このカプセルは、本菌の病原性に重要な役割を果していることが知られている。

1. 本菌は白血球に貪食され難い。
2. 細菌、真菌性疾患に一般にみられる組織反応が、クリプトコッカス症の場合にはみられない。
3. カプセルを産生しない状態で生育させた菌は、白血球に貪食される。
4. X線照射によりカプセルを失なった突然変異株は、白血球に貪食され、病原性を示さない。

猶、このカプセル物質は菌の培養、動物寄生状態を問わずたえず放出されている。(参照 G. Bulmer and M. Sans, J. Bacteriol., **94**, 1480 (1967) *ibid*, 1475 *ibid* **95**, 5 (1968))

我々はこのカプセルの性質の研究の中で、カプセル最内層部分が塩基性色素で特徴的に染色されることを見出した。この染色は、本菌の手軽な同定に有用である。

真菌を無固定で低濃度のメチレンブルー溶液に浸すと、少数の死菌が濃青に染まるが、大部分の生菌は色素をとらない。ところがサブロー培地に生育させた *C. neoformans* は、0.006% メチレンブルーにより、小型の不染の菌、少数の濃青に染色された菌以外は、環状にうす紫から赤紫に染まりメタクロマシイを呈した。この環状染色はリットマン培地その他種々の条件下で生育させた場合にもみられたが、カプセル非酸性培地に発育させた菌には全然みられなかった。環状染色を示す部分は墨汁標本によるカプ

セル像との比較から、カプセル最内層と考えられた。この染色は、トルイジンブルー、アズール A・B 等の塩基性色素によってもみられたが、トリパンブルー、エオシン Y などの酸性色素は菌を全然染めなかった。更に菌は、0.02 M クエン酸バッファ PH 3.4 を含むメチレンブルー溶液でも同様に染色されたが、色調は弱まった。カプセルを構成している多糖類は、マンノース、キシロース、ガラクトース、グルクロン酸などから成り立っていることがわかっているが、更に硫酸又はリン酸エステルを含んでいることが推察される。

以上の性質を菌の簡単な同定に用いようと考えた。本菌の同定法としては、

- (1) 墨汁によるカプセル顕示
- (2) 澱粉様物質の産生
- (3) ムチカルミン染色
- (4) Urease test
- (5) 37°C 生育、マウスに対する病原性
- (6) Creatinine を唯一の炭素源とした培地での生育

などが知られているが、いずれも特異性に乏しいか手軽でない。〔参照 A. Rose and J. Harrisn, The Yeasts 1. P. 143-155 (1969) Academic press, J. Lodder, The yeasts. A. taxonomic study, P. 1088-1145 (1970) Academic press〕

種々の菌株をサブロー培地に四日間、30°C 及び 37°C で培養し、発育した菌の少量を0.006% メチレンブルーに混合し検鏡した。

C. neoformans は試供14株中カプセル非産性変種 *Var. uniguttulatus* 1株を除いて全て環状染色を示した。

一方, *C. alibidus*, *C. diffluens*, *C. laurentii*, *C. luteolus*, *C. terreus*, それに *Torulopsis* 二種, *Rhodotorula* 二種の使用株計11株はいずれもカプセルを産生していたが, 環状染性を示さなかった。他種の *Toruloposis* や *Candida*, *Pichia* 及び *Saccharomyces* もこの条件では環状染性や表面染性を示さなかった。*Toricosporon margartifelum* は, ジャガイモ酵母培

地では環状染性を示したが, サブロー培地では示さなかった。又トルイジンブルーやアズール色素を使うと他の物質によるメタクロマシクが現われることがあった。

以上のことから, サブロー培地に四日間培養した菌をメチレンブルー溶液に浸して検鏡することが, 本菌の同定に有用であることがわかった。