

A Case of Corneal Ulcer with Cephalosporium

Kaoru Ogikubo
Ophthalmological Clinic of
Shinshu University

A farmer, aged 42, suffered from a severe corneal ulcer in his right eye, which might be caused by a foreign body in the conjunctival sack.

The ulcer was disciform, densely infiltrated, covered with a yellow-white fur.

On the microscopical examination of the scraping from the ulcer, many hyphae-like structures were seen.

This organism which was planted and grown on Sabouraud's media, was identified as Cephalosporium, a species of the fungi.

When the cultivated organism was inoculated on the rabbit's cornea, the lesion was mild, and no fungi grew.

The etiology was also discussed.

角膜潰瘍の一症例より分離された Cephalosporium について

昭和33年4月1日受付

信州大学医学部細菌学教室 (主任: 田崎忠勝教授)

宮 島 吉 広 高 幣 常 郎
栗 田 邦 一 五 味 五 郎

緒 言

Cephalosporium (真菌類の一種) による症例の報告は主として皮膚科領域に関するものであり、眼科領域に於ては甚だ稀で Serra^①, Focosi^② 及び Bedell^③ の報告による3例、我が国に於ては僅かに百瀬・深道^④ による角膜潰瘍の一症例があるに過ぎない。

今度、我々も、一患者の角膜潰瘍病巣部より Cephalosporium を分離し、その起因菌なる事を推定し得たのでここに報告し、併せて二三の細菌学的考察を加えてみたい。

検査方法及び結果

I. 検査材料

患者: 42才男 (農業) 昭和31年11月16日焚火をしていて右眼に異物が入った感じがあり、これから角膜潰瘍を発症したという。

詳しい臨牀経過は別に本医学部眼科学教室の担当者、萩澤が報告する。

この右眼角膜潰瘍病巣の被苔 (豆腐粕様) を無菌的に採取し、以後の鏡検及び培養の材料とした。

II. 形態学的観察

1) 直接塗抹鏡検所見

上記の材料を、のせガラスに塗抹し、先ず無染色、弱拡大で鏡検したところ、可成り太い隔壁のある稀に分岐した菌糸が多数網目状をなして存在し、孢子と思われるものは確認できなかつたが、真菌類に属するも

のである事が推定された。

次に強拡大で染色鏡検してみたが菌糸のみで、他の細菌は全く認められなかつた。

その後潰瘍の存在する間数回被検材料をとり同様に鏡検したが、常に菌糸を証明する事が出来、他の菌は全く見られなかつた。又潰瘍の消失後には菌糸は全然認められなくなつた。

II) 初代分離培養

(サブローブドウ糖寒天斜面培養)

直接鏡検所見により真菌類が疑われたので、サブローブドウ糖寒天斜面に被検材料を塗抹し 25~27°C で培養したところ、発育は良好で最初斑点状に白色絨毛状の集落が発育し始め、培養3~4日で純培養の状態に斜面全体に拡大し、白色綿毛状の外観を呈する様になつた。

次に集落裏面の着色状態を見ると、培養2日で黄褐色となり、培養4日目には褐紫色~暗紫色を呈するようになった。

III) サブローブドウ糖寒天巨大培養

培地の中心の1点に菌を移植して培養し、1個の大きな集落をつくらせて観察したが、この培養に於ても斜面培養と同様に発育は良好で、培養3日で集落は白色綿毛状 (直径約1.5cm) を呈し、集落裏面は淡黄褐色に着色し培養1週間後直径約6cmに増大して白色綿毛状の然も年輪状に時に放射状に発育する集落が得

られ、集落裏面の着色は暗褐色～褐紫色を示す様になった。

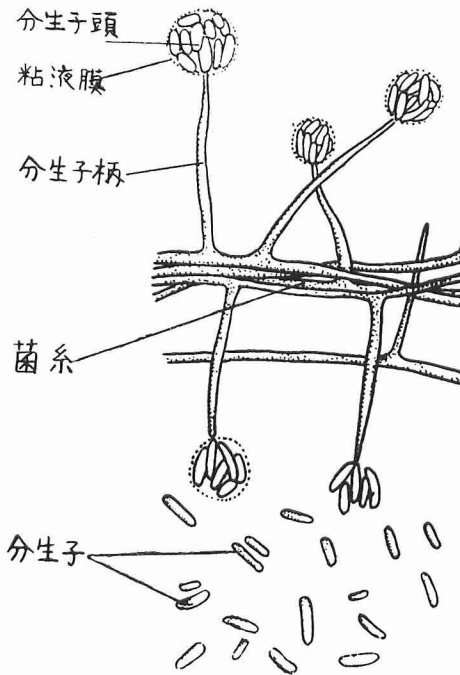
IV) 培養温度の差による発育状態の相違

上記の斜面、巨大培養共に 25°C に於ては上述の如く発育は良好であるが、37°C では発育状態が至つて悪く菌糸の成長発育は接種部周辺に僅かに拡がる程度であつた。

V) 異なる時期に於ける分離培養所見

同一角膜潰瘍病巣から第1回の分離培養と第2回の分離培養(その期間20日間)を行つたが、2回共に全く同様な集落が得られ、他の細菌は全然認められなかつた。

図1 Cephalosporium のシエーマ



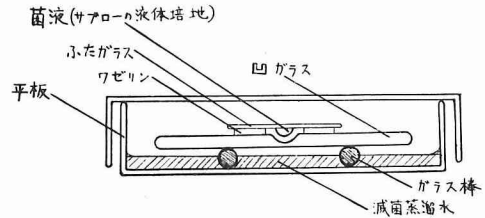
VI) 懸滴培養

この方法によると、菌糸が成長発育して胞子の出来るまで自然の状態を順を追つて直接顕微鏡下で観察出来るという利点があり、また一方この我々の分離した菌は培地より釣菌のとき、菌糸を移動させると非常に破損し易いと云う欠点がある。以上二つの理由により、懸滴培養法で直接形態を観察した。

培養方法は、我々の考案した次の方法を用いた。即ち、通常の懸滴標本作製の要領で行い、培養液としてサブローブドウ糖ブイオンを用い培養期間中培地の乾燥を防ぐために(真菌類は乾燥に対しては抵抗が弱い

ので)、平板の底面に滅菌蒸留水を入れて培地の乾燥を防いだ(図2参照)。鏡検はふたガラスの上から直接行はれた。

図2 懸滴培養法



培養温度は 25~27°C に保ち、培養期間は 3~5 日が最も鏡検には良好のように思われた。

次にその鏡検所見を順次記述すると、

(1) 菌糸 (Hyphae): 巾 3~3.5μ

菌糸は匍行性で、屢々二叉に分岐して隔壁を有し、菌糸内所々に顆粒状物が見られ、又培地周辺部では菌糸は比較的中が狭く、隔壁間は長く、顆粒も比較的小く、分生子(胞子)の形成は主にこの周辺部の菌糸に見られ、培地の中央では菌糸は巾広くなり、隔壁間は短くなる。又所々に見られる顆粒が紅色の色素を有している場合もある。

(2) 分生子柄 (Conidiophore): 35~60μ × 3.5μ

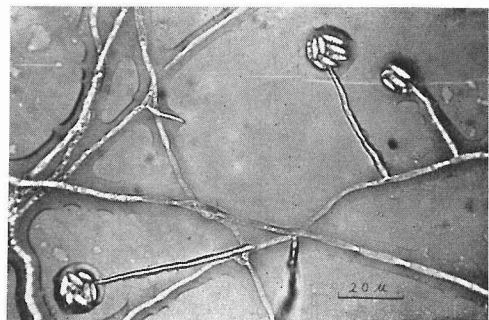
菌糸から直角又は鋭角を以て分岐するが、分生子柄そのものは分岐せず、隔壁を有するものが多く、その先端は次第に細くなり分生子に連なる。

(3) 分生子 (Conidia): 7~12μ × 2.5~4.5μ

分生子柄の先端に数ヶ~10数ヶづつ着いて直径 14~20μ の球状小頭 Conidial head を形成し、分生子は比較的規則正しく併列するものが多く、時に不規則に集るものもある。分生子の形態は紡錘形、長楕円形で単房性である。

Conidial head の周囲には粘液膜(或は粘着物質)を認める(図3参照)。

図3



(4) 厚膜胞子 (Chlamydospore)

稀に分生子柄の先端或は菌糸間に介在して壁の厚い茶褐色の球状物が見られる事がある。厚膜胞子ではないかと考えられる。

Ⅲ. 同 定

上述の培養及び鏡検所見に於て、白色綿毛状の集落形成、菌糸及び分生子柄の形態、及び Cephalosporium に特有な分生子の多数集合して小球状の集団 (Conidial head) を形成している状態、及びその周囲に明らかな粘液膜が認められる事から本菌は Cephalosporium 属の菌であると同定された。

尙、眼科の協力を得て家兎角膜接種試験を、(1) 角膜の表皮を乱切して後菌塊を擦入する方法、(2) 角膜実質内に菌液を注入する方法、(3) 角膜深部に搔把して後菌塊を擦入する方法、及び、(4) 角膜を弁状に剝離して菌塊を封入する方法、の4法を用いて行つたが、何れも病変は軽度で、損傷部の治癒するまで毎日分泌物の直接鏡検を行つたが、多核白血球を見た他には菌糸及び胞子の存在は認められず、これら分泌物からの逆培養は何れも陰性に終つた。

考 按

Cephalosporium (以下 Cephal. と略す) 属は自然界に可成り広く存在しているようで、腐土、腐葉、動物の糞等から分離報告^{⑤⑥}されている。

一方、Cephal. による症例報告では主に皮膚科疾患^{⑦⑧}特に白癬様疾患が多く、その他、破潰性結節、足菌腫^{⑨⑩}、角膜真菌症^{①②③④}等が見られ、世界で約20種の Cephal. が報告されている。

他方、我々は直接鏡検により網目状の菌糸を毎回証明する事が出来て、真菌類である事が推定され、その間他の細菌は全く見られず、又潰瘍の消失後は検出されなくなつた事、及び、培養所見に於て 25°C 近辺の低温度に於て發育の良好な綿毛状の集落が得られた事、然も2回にわたる分離培養に於て全く同様な集落が得られ、然も他の菌は發育せず純培養の状態を得られた事。

以上の点から起因菌は真菌である事が推定された。

又、Cephal. は、成雷^⑪によると、集落が綿毛状で白色、淡紅色ないし紅褐色に着色し、栄養菌糸は匍匐性で、分生子柄は菌糸から直立し、隔壁なく、分岐せず、先端に向い細くなり、分生子は分生子柄の先端に順次1個ずつ発生するが直ちに離脱することなく、互に粘着して小球状の集団をなし、分生子の形は卵形、楕円形或いはバナナ形である、と記載されている。我々の分離した菌も白色綿毛状の集落で、集落裏面が暗褐色～褐紫色に着色し、又 Cephalosporium 属に特有

な分生子の集団 (Conidial head) 及び明らかな粘液膜を確認し得た。

尙 Cephal. と鑑別すべきものに Hyalopus, Fusarium, Verticillium, Acremonium 等が考えられるが、Hyalopus については Lindau^⑫によると、分生子の互に粘着している期間が Cephal. より長いもので Cephal. との間には殆んど相違が認められないので両属を統一すべき事を提唱している。

Acremonium^⑬は分生子が互に粘着する事なく、先のもは順次離脱する。

Fusarium^⑭は集落外観は Cephal. に似ているが、分生子柄が輪生状で、分生子の形は大きく鎌状を呈して両端が尖り多数の隔壁を有している。

Verticillium^⑮も集落外観は矢張 Cephal. に似ているが、分生子柄が輪生状、梗子の存在、分生子は楕円形で群をなすが容易に離れる。

以上の特徴から明らかな如く、鑑別は容易で、我々の分離した菌は Cephal. であると同定された。

一方、Cephal. 属の中には多くの菌種が含まれていることは勿論であるが、菌種の決定をすることは現段階では不可能と思われる。即ち、集落の外観、菌糸、分生子柄、分生子の形態等によりある程度は分類し得ようが、未だ万人に承認された分類法の報告は見られない。

こゝで我々が角膜潰瘍より分離した Cephal. について諸家の報告例と比較検討を加えてみると百瀬・深道^④の角膜真菌症から分離した Cephal. に類似しているが、集落裏面は暗褐色～黒色を呈し、分生子は紡錘形時にバナナ型、家兎眼接種試験に於て病原性を有し逆培養陽性であつた事等の点で幾分異なるように思われる。Serra^①の角膜真菌症から分離した Cephal. は集落が培養初期に赤色を呈する事、分生子が多形性である事、動物に病原性を有する事等で異なり、又 Bedell^②の角膜真菌症から分離した Cephal. は第2回目の培養で見られたもので起因菌としては疑わしい。近年高橋^⑩の爪真菌症から分離した Cephal. は分生子が全部屈曲してバナナ型を呈する点で明らかに異なる。以上のことより我々の分離した Cephal. は同じ Cephal. 属の中ではあるが、これらとは別な菌種であろうと考えられる。

尙、Cephal. は自然界に可成り広く存在し、通常は病原性がなく Saprophytic と考えられている^⑦。従つて Cephal. により発症するには菌が変異により菌力を増強するか、個体の抵抗力が減弱するか (損傷等)、或はその両者が成立する事が必要であると考えられる。

本症例も角膜に軽度の損傷があり、そこに Cephal. の発育に適する条件が具つて発病したと考えるべきであると思う。

因に、我々の行つた家兎角膜接種試験が陰性に終つたのは、動物の選定が悪かつたのか、接種方法に欠陥があつたのかは分らない。

尚、我々は人結膜嚢内に於ける真菌類の検索を行っているが、現在のところ、健康眼及び患眼合せて200眼(検査人員100名で全員両眼を検査)について真菌は20眼(10%)に見られ、中 Cephal. は認められていない。又農業者は48眼中真菌は11眼(約23%)で、その他の職業者の152眼中真菌9眼(約6%)と較べて明らかに農業従事者に高い真菌保有率を示すことが判明した。

結 語

角膜潰瘍の一症例から次の様な一真菌が分離され、菌検査の結果 Cephalosporium と同定された。

1) 患者の角膜潰瘍部の被苔を直接鏡検して、多数の網目状の菌糸が反覆して見出され、他の細菌は全く認められなかつた。

2) 被苔をサブローブドウ糖寒天に培養し、発育の良好な白色綿毛状、裏面褐紫色の集落が純培養の状態を得られた。

3) 懸滴培養を行つて、自然な発育状態を有する菌糸、分生子柄、紡錘状長楕円形の分生子、粘液膜に囲まれた小球状の分生子頭を詳しく観察した結果、Cephalosporium と同定され、本角膜潰瘍の起因菌である事が推定された。

稿を終るにあたり、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた田崎教授に厚く感謝の意を表する。尚、絶大なる御援助、御協力を賜つた眼科学教室、加藤教授並に荻窪氏に、又、貴重なる菌株の分与並に有益なる御助言を載いた長尾研究所、椿啓介博士に深謝する。

本論文の要旨は、昭和32年12月8日、第13回中信用医学会に於て発表した。

文 献

- ①Serra, G. M.: Zbl. für Ophth., 23: 111, 1930.
 ②Focosi, M.: Zbl. für Ophth., 29: 95, 1933. Zbl. Bakt I, 132: 237, 1934. ③Bedell, A. J.: Exo. Med. Ophth., 2: 95, 1933. ④百瀬博文・深道義尚: 眼臨, 49: 10, 1955. ⑤Lindau, G.: Rabenhorsts Kryptogamen-Flora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz, 2te Aufl., Abt. VIII Fungi imperfecti: 103, 1907. ⑥Gilman, J. C.: A Manual of Soil Fungi, 1945, The Iowa State College Press. ⑦Dodge, C. W.: Medical Mycology, 1935, Mosby, St. Louis. ⑧Kambayashi,

T.: Botanic Magazine (Japan), 51: 436, 1937.

⑨Morikawa, T.: Mycopathologia, 2: 60, 1939.

⑩高橋吉定: 臨床皮泌, 3: 282, 昭24. ⑪高橋吉定・黒田和夫: 皮性誌, 63: 462, 昭28. ⑫Leão, A., & Lobo, J.: Compt. rend. soc. biol., 117: 203, 1934. ⑬Carrión, A. L.: Mycologia, 2: 165, 1940. Mycologia, 43: 522, 1951. ⑭Weidman, F. D., & Kligman, A. M.: J. Bact., 50: 491, 1945.

⑮高橋吉定・樋口謙太郎: 日本皮膚科全書, 10巻2, 医真菌症・分芽菌症, 昭31. ⑯中村敬三・秋葉朝一郎: 細菌学各論(II), 昭30. ⑰Connant, N. F., Smith, D. T., Baker, R. D., Callaway, J. L., & Martin, D. S.: Manual of Clinical Mycology, 2nd ed., 1954, Saunders, Philadelphia. ⑱Tubaki, K.: Studies on the Japanese Hyphomycetes (II) Fungicolous Group: 32, 1955.

On a Cephalosporium isolated from Corneal Ulcer

Yoshihiro Miyajima, Tsunero Takahei, Kuniichi Kurita and Gorō Gomi

Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. T. Tazaki)

A Strain of Cephalosporium which has been isolated from corneal ulcer scrapings of a farmer, showed the following biological properties:

1) On the direct microscopic examination of corneal ulcer scrapings, many slender hyphae were always found.

2) Colonies grown on Sabouraud's glucose agar media were dense, floccose, white, but brownish-purple on their reverse side.

3) On slide cultures, oblong and single-celled conidia, were observed the size of which was about $7\sim 12 \times 2.5\sim 4.5\mu$. They formed spherical conidial head at the tip of a slender, unbranched conidiophore.

From these findings, this organism was identified as a Cephalosporium and was considered as an etiological factor for the corneal ulcer of the patient.