

## 牛の乳房炎と関連した *Candida guilliermondii* の病原性の検討

岡本嘉六・斉野慎一・雨宮淳三

(獣医公衆衛生学教室)

平成元年8月10日 受理

### Pathogenicity of *Candida guilliermondii* Isolated from Bovine Udder and Sawdust

Karoku OKAMOTO, Sin-ichi SAINO and Junzo AMEMIYA

(Laboratory of Veterinary Public Health)

#### 緒 言

抗生物質の多用と並行して、*Candida* 属による真菌性乳房炎の発生が数多く報告されるようになって<sup>3,7,9,10,17,19,22</sup>いる。著者らは乳牛とそれを取り巻く環境中の *Candida* 属の分布を調べ、乳房炎の起因性が明確な *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* などとともに、*C. guilliermondii* が高頻度に分布しており、しかも敷料のオガクズ中で増殖していることを見出した<sup>2,14</sup>。*C. guilliermondii* は、牛の膣や精液中で増えて繁殖障害を起こすとともに<sup>20,21</sup>、全身性に感染する症例も知られている<sup>18</sup>。ヒトでは、制癌剤などによる免疫抑制状態で全身感染する日和見性真菌の一つとしてしばしば分離されている<sup>1,5,10</sup>。しかしながら、この菌の病原性について実験的に検討した報告はそれほど多くはない<sup>4,6,8,12,13,15,16,23</sup>。本研究では、牛の乳房炎罹患乳腺とオガクズに由来する *C. guilliermondii* のマウスにおける病原性を *C. albicans* と比較検討した。

#### 材料と方法

*C. guilliermondii* の乳房炎由来株としては、鹿児島市食肉センター (M1, M2) と宮崎県高崎と畜場 (M3, M4) で採取した廃用乳牛の乳房炎罹患乳腺、ならびに長崎県大村市の農家の乳房炎乳 (M5) から分離された計5株を用いた。オガクズ由来株としては、東市来K農場 (S1, S2)、鹿児島県育成牧場 (S3)、長崎県大村市の農家 (S4, S5) で使用中のオガクズから分離された計4株を用いた。対照としては *C. albicans* IAM 4888株を用いた。これらの新鮮培養菌を生理食塩水で洗浄し、適

量濃度に調整した後、0.1mlをマウス (ddy, 雄, 4週令, 体重18~20g) の尾静脈内に接種した。マウスには、接種3日前にヒドロコルチゾン (サクシゾン, 日研化学) を腹腔内投与しておいた。

菌接種後10日間は体重を測定し、健康状態を観察した。11日目から15日目の間にマウスを安楽死させ、肉眼的病変を調べるとともに、腎臓のスタンプ標本と薄切標本を作成し、HE染色とPAS染色を施して組織学的観察を加えた。さらに、腎臓・肝臓・肺臓の一部を無菌的に採取し、乳鉢で磨り潰した後、その希釈液をカンジダGE培地 (日水製薬) に塗布した。37℃で2日間培養後、典型的な集落を数え、臓器1g中の菌数を算定した。

得られた成績は、類別変数については $\chi^2$ 検定法、順位変数についてはWilcoxonの順位和による検定法により統計処理した。

#### 結 果

***C. albicans* の感染実験**：接種菌数が $10^4$ 個の群では死亡例はなかったが、 $10^5$ 個群、 $10^6$ 個群ではコルチゾン量と並行して死亡率が高くなった (表1, 図1)。コルチゾン量が100mg/kgでは、 $10^6$ 個群の死亡率が36%に留まり、150mg/kg群では、76%のマウスが死亡した。また、150mg/kgコルチゾン量でも、 $10^5$ 個群では13日目に初めて死亡したのに対し、 $10^6$ 個群では5日目から10日目の間に死亡した。実験期間中のマウスの体重は死亡例では急激に減少し、10日目の生残マウス増体量についてみると、接種菌数の増加とともに体重の減少または抑制が明らかであったが、コルチゾンの影響は統計的に認められなかった (図2)。

Table 1. Examination of the inoculum number of *Candida albicans* and the dose of cortisone for the experimental infection with *Candida* spp. in mice\*<sup>1</sup>

No. of cells	Cortisone (mg/kg)	No. of mouse	No. of death (%)	Body weight gain (g)* <sup>2</sup>			
				<-2.5	~0	~2.5	>2.5
10 <sup>4</sup>	100	11	0		2	6	3
	150	11	0		3	7	1
10 <sup>5</sup>	100	6	1 (16.6)		3	1	1
	150	5	2 (40.0)	1	1	3	
10 <sup>6</sup>	50	5	1 (20.0)	2		2	
	100	11	4 (36.4)	3	1	3	
	150	11	8 (72.7)		2	1	

\*<sup>1</sup>: The mouse was intraperitoneally injected cortisone 3 days before the intravenous inoculation of *Candida*, and weighed throughout the experimental period.

\*<sup>2</sup>: The difference between the body weight at the inoculation and that at 10th day. Figures in the table show the number of mouse in each category.

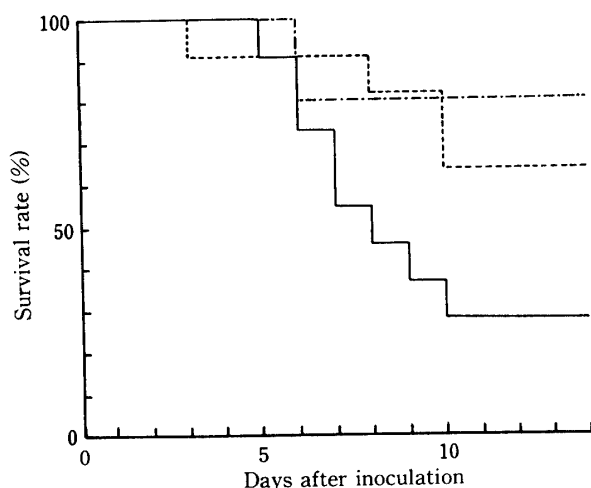


Fig. 1. The course of the mouse inoculated with 10<sup>6</sup> cells of *C. albicans*. Pretreated with 50 (---), 100 (.....), or 150 (—) mg/kg of cortisone 3 days before the inoculation.

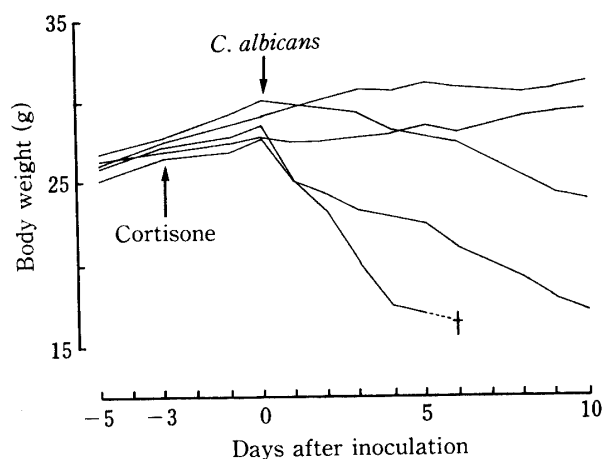


Fig. 2. The progress of body weights in the group treated with 50 mg/kg of cortisone before the inoculation of 10<sup>6</sup> cells of *C. albicans*.

各臓器からの回収菌数についてみると、腎臓からは最も多く回収され、肝臓と肺臓はほぼ同程度であった(表2)。いずれの臓器についても接種菌数の増加とともに回収菌数は有意に増加したが、コルチゾンの影響は、10<sup>6</sup>個接種群の腎臓と肝臓でのみ認められた。スタンプ標本について調べた菌塊の大きさは、接種菌数、コルチゾン投与量とともに大きくなり、剖面に見られた偽菌糸の数は接種菌数とともに有意に多くなった(表3)。

腎臓に認められた褪色、白色結節、水腫などの肉眼的病変の頻度は、接種菌数、コルチゾン投与量と

ともに高くなり、また、リンパ球や好中球の浸潤、皮質部におけるメサングウムの増殖やボーマン嚢の肥厚、ならびに髄質部の尿細管上皮の壊死・剥離や小嚢胞状拡張などの組織学的異常所見も、同様の傾向を示した。

***C. guilliermondii* の病原性の検討**：この実験では、*C. albicans* の感染実験成績に基づいてコルチゾン投与量を150mg/kgとした。乳腺由来の5菌株のうち10<sup>8</sup>個接種した2菌株で1例ずつ死亡し、20日間観察した追加実験でも確かめられた(表4)。10<sup>6</sup>個接種群では死亡例はなく、体重減少も軽微であった。

Table 2. Number of microbes recovered from the organs of the mouse inoculated with *C. albicans*

Organ	No. of cells	Cortisone (mg/kg)	No. of cells recovered						
			>10 <sup>7</sup>	~10 <sup>6</sup>	~10 <sup>5</sup>	~10 <sup>4</sup>	~10 <sup>3</sup>	<10 <sup>3</sup>	—
Kidney	10 <sup>4</sup>	100	4	3	1			1	2
		150	2	2				1	6
	10 <sup>5</sup>	100	3	2					1
		150	2	1				2	5
	10 <sup>6</sup>	50	2	1					2
		100	7	4					
150		10	1						
Liver	10 <sup>4</sup>	100				1	1	2	7
		150			1				8
	10 <sup>5</sup>	100			1	1		3	1
		150				1	2	2	
	10 <sup>6</sup>	50			2		1		2
		100		1			5	1	4
150			3	4	3		1		
Lung	10 <sup>4</sup>	100					2	2	7
		150					1	1	7
	10 <sup>5</sup>	100			1	1	1		3
		150				2	1		2
	10 <sup>6</sup>	50			1		1		3
		100			3		2	2	4
150			1	1	8		1		

Table 3. Macroscopic and microscopic findings on the kidney of the mouse inoculated with *C. albicans*

No. of cells	Cortisone (mg/kg)	Gross lesion* <sup>1</sup>		Clump of microbes* <sup>2</sup>				Pseudomycelium* <sup>3</sup>				Cellular infiltration* <sup>4</sup>			Cortex* <sup>5</sup>		Medulla* <sup>6</sup>			
		+	-	+++	++	+	-	+++	++	+	-	++	+	-	+	-	++	+	-	
10 <sup>4</sup>	100	3	7	1	4	3	3		3	2	6		3	8	2	9		8	3	
	150	5	6	2	2		7	1	1	2	7		3	8	2	9		4	7	
10 <sup>5</sup>	100	5	1	2	2		2		2	2	2		2	3	1	4	2	4	1	1
	150	4	1	3			2	1	2		2		1	2	2	3	2	3		2
10 <sup>6</sup>	50	2	3		3		2	1	1	1	2		2	1	2	3	2	2	1	2
	100	11		3	4	2	2	5	2	2	2		4	7		10	1	7	3	1
	150	11		9	1	1		5	2	4			9	2		10	1	11		

\*<sup>1</sup>: Grayish punctum or tache, discoloration, or edema were macroscopically observed (+) or not (-).  
 \*<sup>2</sup>: The maximum size of the clump was over 500 μm (+++), over 100 μm (++), under 100 μm (+), or negligible (-).  
 \*<sup>3</sup>: Number of pseudomycelium per section of the kidney was over 100 (+++), over 10 (++) , under 10 (+), or negligible (-).  
 \*<sup>4</sup>: The infiltration of leukocytes was severe (++) , mild (+), or negligible (-).  
 \*<sup>5</sup>: Mesangial proliferation, hyperplasia of Bowman's capsule or degeneration of glomeruli were apparent (+) or negligible (-).  
 \*<sup>6</sup>: Nephrosis, tubulorrhexis, tubular gigantism, or hydronephrosis were severe (++) , mild (+), or negligible (-).

Table 4. Pathogenicity of *C. guilliermondii* isolated from the bovine udder (M1~M5) or the sawdust (S1~S4) in the mouse pretreated with 150 mg/kg of cortisone

No. of cells	Strains	No. of mouse	No. of death (%)	Body weight gain (g)			
				<0	~2.5	~5.0	>5.0
10 <sup>6</sup>	M1	8	0		4	4	
	M2	8	0		6	2	
	M3	8	0		4	3	1
	M4	8	0		5	3	
	M5	8	0		7	1	
	Sum	40	0		26	13	1
10 <sup>8</sup>	M1	8	1 (12.5)		3	4	
	M2	8	1 (12.5)		4	3	
	M3	8	0		2	6	
	M4	8	0		1	7	
	M5	8	0	1	1	6	
	Sum	40	2 (5.0)	1	11	26	
10 <sup>8</sup>	S1	7	0		4	3	
	S2	7	0		2	5	
	S3	7	0			7	
	S4	7	0		1	6	
	Sum	28	0		7	21	
10 <sup>8</sup>	M1 <sup>#</sup>	7	1 (14.3)			3	3
	S3 <sup>#</sup>	7	0	1	1	2	3

#: These groups were followed up until 20th day.

Table 5. Number of microbes recovered from the organs of the mouse inoculated with *C. guilliermondii*

No. of cells	Strain	No. of cells in kidney					No. of cells in liver				No. of cells in lung						
		>10 <sup>6</sup>	~10 <sup>5</sup>	~10 <sup>4</sup>	~10 <sup>3</sup>	<10 <sup>3</sup>	—	~10 <sup>5</sup>	~10 <sup>4</sup>	~10 <sup>3</sup>	<10 <sup>3</sup>	—	~10 <sup>5</sup>	~10 <sup>4</sup>	~10 <sup>3</sup>	<10 <sup>3</sup>	—
10 <sup>6</sup>	M1			2	1	5			1	7							8
	M2			1		7				8						1	7
	M3		1	1	2	4		1	3	4		1				1	6
	M4		1	3	1	2	1		2	2	4			2	4	2	2
	M5		1		1	5				2	6						8
	Sum		3	5	6	4	22		3	8	29		1	2	6	31	
10 <sup>8</sup>	M1		1	3	1	3			1	4	3		1		1	6	
	M2		4	2		1		1	5	1	1	1	1	1	2	3	
	M3		2	1	2	2	1	1	3	2	2		1	1	2	4	
	M4	2	3	2			1		2	3	3		2	4	1	1	
	M5		2	3	1	1	1		3	2	3			3		5	
	Sum	2	12	12	4	7	3		2	14	12	12	1	5	9	6	19
10 <sup>6</sup>	S1		1	3	2		1		1	4	1					5	2
	S2			1	1		5				7						7
	S3			2	1	1	3		1		6				2	5	
	S4			4			3		1	2	4		1	1	1	4	
	Sum		1	10	4	1	12		1	3	6	18		1	1	8	18
10 <sup>8</sup>	M1 <sup>#</sup>	2	1	1	1	1	1		3	1	3			1	2	4	
	S3 <sup>#</sup>		3	3			1	1	2	2	2			1	1	5	

Table 6. Macroscopic and microscopic findings on the kidney of the mouse inoculated with *C. guilliermondii*\*

No. of cells	Strains	Gross lesion		Clump of microbes		Pseudo-mycelium		Infiltration		Cortex		Medulla	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
10 <sup>6</sup>	M1	1	7		8		8		8	3	5	3	5
	M2		8		8		8		8	3	5	2	6
	M3	1	7	1	7		8	1	7	4	4	4	4
	M4	1	7	1	7		8	1	7	2	6	3	5
	M5	1	7	1	7		8	1	7	3	5	5	3
	Sum	4	36	3	37		40	3	37	15	25	17	23
10 <sup>8</sup>	M1		8	3	5		8	1	7	4	4	6	2
	M2	1	7	3	5	1	7	5	3	7	1	8	
	M3	1	7	2	6	1	7	2	6	3	5	4	4
	M4	2	6	4	4	4	4	5	3	6	2	7	1
	M5	1	7	2	6		8	1	7	5	3	6	2
	Sum	5	35	14	26	6	34	14	26	25	15	31	9
10 <sup>8</sup>	S1		7	4	3	1	6	1	6	4	3	5	2
	S2	1	6	2	5		7		7	1	6	2	5
	S3	1	6	1	6		7		7	2	5	2	5
	S4	1	6	3	4	1	6	2	5	3	4	5	2
	Sum	3	25	10	18	2	26	3	25	10	18	14	14
10 <sup>8</sup>	M1 <sup>#</sup>	2	5	NT			7	3	4	5	2	6	1
	S3 <sup>#</sup>	2	5	NT		1	6	1	6	5	2	6	1

\*: The categories of each item were same as those in Table 2.

NT: Not examined.

腎臓からの菌の回収率は、10<sup>6</sup>個接種群で45%、10<sup>8</sup>個接種群で95%であり、肝臓からは27.5%、70%、肺臓からは22.5%、52.5%であった(表5)。菌塊も小さいながら両群に認められたが、偽菌糸は10<sup>8</sup>個接種群でのみ認められた(表6)。腎臓の褪色や白斑などの肉眼的病変は両群ともに約10%に認められたが、細胞浸潤、皮質部と髄質部の病変の程度は10<sup>8</sup>個接種群がより高度であった。これらの回収菌数や腎臓の病変の程度については、菌株による有意な違いはみられなかった。

オガクズ由来の4菌株については、病原性がさらに弱いことが推察されたので、10<sup>8</sup>個接種したが死亡例はなく、体重抑制も軽微であり、20日間観察した追加実験でも同様であった(表4)。しかしながら、腎臓、肝臓、肺臓からの菌の回収率は、それぞれ、57%、34%、34%であり、腎臓では10<sup>4</sup>個以上回収された例も多かった(表5)。腎臓の56%に小菌塊がみられ、その内2例では偽菌糸の形成も認められた(表6)。腎臓の11%には軽度の病変が肉眼的に観察され、顕微鏡的にも確かめられた。

以上の成績を、*C. albicans* 接種例と比較検討した結果を表7に示した。乳腺由来の *C. guilliermondii* を10<sup>8</sup>個接種した場合の病態は、*C. albicans* を10<sup>4</sup>個接種した群とほぼ等しいかより軽度であり、オガクズ由来の *C. guilliermondii* を10<sup>8</sup>個接種した場合の病態は、乳腺由来株を10<sup>6</sup>個接種群と同程度であった。

## 考 察

著者らは真菌性乳房炎の調査研究の中で、廃用乳牛の乳腺や敷料のオガクズから高頻度に *C. guilliermondii* が分離され、しかもオガクズ中で増殖することを見出した<sup>2,14)</sup>。この菌は、乳房炎<sup>7,9,11,19)</sup>のみならず、膣や精液からも分離され<sup>20,21)</sup>、繁殖障害の原因ともなっており、さらには全身性感染の症例<sup>18)</sup>も報告されている。この菌の病原性については、培養角膜細胞や口腔粘膜細胞に対する付着性<sup>16)</sup>、乳飲みマウスにおける腸絨毛への付着性と全身への播種<sup>15)</sup>、マクロファージなどの貧食に対する抵抗性<sup>23)</sup>などの点で *C. albicans* よりはるかに劣っていたが、菌体成分の水溶性画分の起炎性<sup>12)</sup>については同等であった

Table 7. Comparison of the pathogenicity of *Candida*

Category	<i>C. albicans</i> * <sup>1</sup>			Strains from udder* <sup>2</sup>	
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>
Mortality	—	—	↓	—	—
Body weight gain	↓	↓	↓	—	↓
Microbes recovered					
kidney	—	—	↓	—	↓
liver	—	—	↓	—	↓
lung	—	—	↓	—	↓
Gross lesion	↓	↓	↓	—	—
Clump of microbes	↓	↓	↓	↑	—
Pseudomycelium	↓	↓	↓	—	—
Infiltration	—	—	↓	—	↓
Lesion at cortex	—	—	↓	—	—
Lesion at medulla	↑	—	↓	—	↓

\*<sup>1</sup>: As compared with *C. albicans*, pathosis of the mouse inoculated with 10<sup>8</sup> cells of *C. guilliermondii* isolated from the bovine udder were worse (↑), same (—), or better (↓) statistically ( $p < 0.05$ ).

\*<sup>2</sup>: As compared with *C. guilliermondii* isolated from the bovine udder, pathosis of the mouse inoculated with 10<sup>8</sup> cells of the strains from the sawdust were worse (↑), same (—), or better (↓).

と報告されている。

Oblack ら<sup>13)</sup>は、*C. guilliermondii* をマウスの静脈内に接種した場合、菌の回収数は *C. albicans* より少なく、血液検査で腎臓と肝臓の機能不全を示す徴候はなかったとしている。Bistoni ら<sup>4)</sup>は、無処置の CD<sub>1</sub> マウスにおける *C. albicans* の LD<sub>50</sub> は 10<sup>6</sup>個であり、150mg/kg の Cyclophosphamide による前処置によっても *C. guilliermondii* の感染は成立せず、この薬剤による免疫抑制は病原性の強い菌による病態を悪化させるが、非病原菌に対する感受性を高めることはないとしている。Holzschu ら<sup>6)</sup>は、コルチゾン処理したマウスに *C. guilliermondii* を接種すると主要臓器から菌は回収されるが、肉眼的・顕微鏡的な病変は認められなかったとしている。このように、in vivo で感染実験の成績は必ずしも一致していない。

本研究では、*Candida*属の病原性を確認するより一般の実験系であるコルチゾンを前投与したマウスに被検菌を静脈内接種する方法を用い、病原性の明確な *C. albicans* を用いた対照実験を行った。前述の Holzschu らの実験<sup>6)</sup>では、50mg/kg のコルチゾンで処理し、*C. albicans* を 10<sup>6</sup>個接種したところ全例が死亡し、組織所見も本実験より高度であった。乾ら<sup>8)</sup>は、

10<sup>7</sup>個の *C. albicans* を接種すると全例が、10<sup>5</sup>個では一部が死亡し、10<sup>3</sup>個では菌が回収されたものの死亡例はなかったとしている。死亡率の本実験との若干の差異は使用菌株によるものと思われた。

腎臓からの回収菌数が最も多く、病変も最も高度であったのは、上記のいずれの報告でも共通しており、腎臓が *Candida* 属の病原性を評価する上で最も鋭敏な標的臓器と考えられた。このことから、本実験では、死亡率、体重増加量、主要臓器からの回収菌数を調べるとともに、腎組織中の偽菌糸の形成や病変の程度を段階的に評価し、生物学的尺度とした。

コルチゾン投与量の影響は、10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup>個の *C. albicans* 接種群ではいずれの項目についても認められず、10<sup>6</sup>個接種でのみ有意となった。他方、接種菌数の影響は、100mg/kg と 150mg/kg のいずれの投与群についても多くの項目で明らかであった。これらのことから、コルチゾン投与量よりも接種菌数を増減させる方が病態の変動幅が大きく、*Candida* 属の病原性の評価に好都合であると考えられたので、以下の実験ではコルチゾン投与量を 150mg/kg に一定した。

*C. guilliermondii* の乳腺由来株を 10<sup>6</sup>個接種したところ、死亡例はなかったが、実験終了時の腎臓、肝臓、肺臓のそれぞれ、45、28、23% から菌が回収され、10<sup>5</sup>個/g 以上の例もあった。10<sup>8</sup>個接種群では、5% が死亡し、腎臓からの菌回収率は 93% と高く、顕微鏡的にも、35% に菌塊が、15% に偽菌糸が認められた。肉眼的にも、褪色、白斑、水腫などの病変が 13% の腎臓にみられ、顕微鏡的には、細胞浸潤、皮質部のメサングウムの増殖、髄質部の尿細管上皮の壊死や小嚢胞状拡張が認められた。このようなマウスの病態は、標的臓器や病変について *C. albicans* 接種群と同様であり、*C. guilliermondii* の乳腺由来株の病原性が確かめられた。各検査項目の成績を *C. albicans* 接種群と比較検討した結果、乳腺由来株 10<sup>8</sup>個接種群の病態は 10<sup>4</sup>個の *C. albicans* 接種群より軽度であった。すなわち、乳腺由来株の病原性の強さは *C. albicans* の 1/10,000 以下と考えられた。

*C. guilliermondii* オガクズ由来株を 10<sup>8</sup>個接種した群では、死亡例はないものの、腎臓の 57% から菌が回収され、7% には偽菌糸が認められた。肉眼的・顕微鏡的にも病変が確認され、弱いながらも病原性のあることが確かめられた。菌株による病原性の差異は統計的に有意ではなかった。オガクズ由来株の 10<sup>8</sup>個接種群の病態は、乳腺由来株の 10<sup>6</sup>個接種とはほぼ同程度であり、オガクズ由来株の病原性の強さは

*C. albicans* の1/1,000,000程度と推定された。

本実験の成績から、*C. guilliermondii* には弱いながらも病原性があり、乳牛の飼育環境中に広く分布していることを考慮すると、濃厚感染の機会も少ないものと考えられる。

### 要 約

牛の乳房炎罹患乳腺と敷料として使用されているオガクズから分離された *C. guilliermondii* の病原性を *C. albicans* を対照として調べた。

150mg/kgのホルチゾンで前処理したマウスに *C. albicans* を $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 個静脈内に接種した時の死亡率は、それぞれ0%、40%、73%であり、臓器からの回収菌数、腎臓の肉眼的・顕微鏡的病変も接種菌数とともに憎悪した。ホルチゾン量を50mg/kg、100mg/kgとした場合には、死亡例が少なく、病態も軽度であることから、*Candida* 属の病原性の評価には、150mg/kgのホルチゾンで前処理するのが適切であると考えられた。

乳房炎由来の *C. guilliermondii* 5株についてみると、 $10^6$ 個接種群では、死亡例はなかったものの、腎臓・肝臓・肺臓から菌が回収され、腎臓は褪色し、白斑や水腫の認められるものもあり、顕微鏡的にも確認された。 $10^8$ 個接種群では死亡例も認められ、剖検所見もより重度で偽菌糸の形成も見られた。これらのデータを統計処理したところ、乳房炎由来株を $10^8$ 個接種した群の病態は、*C. albicans* を $10^4$ 個接種した群と同程度またはそれより軽度であった。菌種による標的臓器や病像の違いはみられず、乳腺由来菌株間の病原性の差異は有意でなかった。

オガクズ由来の4株を $10^8$ 個接種した群では死亡例はなかったが、各臓器から菌が回収され、腎臓には偽菌糸を含む菌塊がみられるとともに、肉眼的・顕微鏡的にも病原性が明らかであった。各検査項目の統計処理により、この群の病態が乳房炎由来株の $10^6$ 個接種群と同程度と判断され、また、菌株間の差異も認められなかった。

以上の成績から、乳牛とそれを取り巻く環境中に広く分布している *C. guilliermondii* の病原性が実験的に確認され、*C. albicans* と比べた感染力は、乳腺由来株で1/10,000以下、オガクズ由来株で約1/1,000,000であることが明らかになった。

**謝辞** 本研究の一部はエーザイ(株)からの奨学寄付金によって行われたものであり、謹んで謝意を表します。

### 文 献

- 1) Adachi, K.: Fungaemia in the aged. *Jpn. J. Med. Mycol.*, **29**, 108-112 (1988)
- 2) 雨宮淳三・北島秀生・岡本嘉六: 乳牛の乳・皮膚・糞および敷料における *Candida* 属真菌. 鹿大農学術報告, **37**, 175-181 (1987)
- 3) 安里章・阿諏訪次郎・長山一郎・吉田浩・伊藤謙一郎・高木英守: 乳牛の乳汁中の真菌に関する研究(2). 家畜診療, **236**, 27-32 (1983)
- 4) Bistoni, F., Vecchiarelli, A., Cenci, E., Sbaraglia, G., Perito, S. and Cassone, A.: A comparison of experimental pathogenicity of *Candida* species in cyclophosphamide-immunodepressed mice. *Sabouraudia*, **22**, 409-418 (1984)
- 5) Dick, J. D., Rosengard, B. R., Merz, W. G. and Stuart, R. K.: Fatal disseminated candidosis due to amphotericin-B-resistant *Candida guilliermondii*. *Annals Internal Med.*, **102**, 67-68 (1985)
- 6) Holzschu, D. L., Chandler, F. W., Ajello, L. and Ahearn, D. G.: Evaluation of industrial yeasts for pathogenicity. *Sabouraudia*, **17**, 71-78 (1979)
- 7) 石川幸男・広瀬公人・小泉弘・田中修一・久米常夫・東量三・武居和樹・森邦義・橋本和典: カンジダ属真菌による牛の乳房炎. 家畜の研究, **34**, 245-251 (1980)
- 8) 乾純夫・橋本和典・木嶋真人・湊弘・成田実: 真菌属のマウスに対する病原性. 第83回日獣学会講演要旨, 37 (1977)
- 9) Kadiac, S., Hajisig, M. and Riznar, S.: Yeasts in the bovine udder at different stages of lactation. *Veterinarski arhiv.*, **53**, 225-231 (1983)
- 10) Kanno, H.: Identification and susceptibility of clinically isolated yeasts, and background of the patients. *Jpn. J. Med. Mycol.*, **29**, 100-107 (1988)
- 11) 久米常夫・東量三・武居和樹・森邦義: 牛の乳房炎乳汁から分離されたカンジダ属真菌について. 家畜衛生研究報告, **79**, 11-17 (1980)
- 12) Nicklas, W., Suschika, C., Weigt, U., Bohm, K. H.: Water soluble sterile yeast extracts as the cause of experimentally produced mastitis in cows. *Berliner und Munchener Tierztliche Wochenschrift*, **93**, 328-335 (1980)
- 13) Oblack, D., Schwarz, J. and Holder, I. A.: Biochemical evaluation of sera during systemic *Candida* infection in mice. *Infection Immunity*, **19**, 992-998 (1978)
- 14) 岡本嘉六・安永浩二・藤元英樹・雨宮淳三: と畜場での乳牛における *Candida* 属真菌の分布. 鹿大農学術報告, **38**, 151-157 (1988)
- 15) Pope, L. M. and Cole, G. T.: The infant mouse as a model for studies of gastrointestinal and systemic candidosis. In Baxter, M. (ed), *Proc. 8th Congress Internatl. Soc. Human and Anim. Mycol.*, pp. 155-158, Palmerston North, New Zealand (1983), Cited from *Rev. Med. Vet. Mycol.*, **19**, 30 (1984)
- 16) Ray, T. L., Digre, K. B. and Payne, C. D.: Adherence of *Candida* species to human epidermal corneocytes and buccal mucosal cells: correlation with cutaneous pathogenicity. *J. Invest. Dermatol.*, **83**, 37-41 (1984)
- 17) 斎藤光男・松尾晃和・久米常夫・井上徹・矢口長彦・石川幸男・内村和也・笠間助宣: 牛の乳房炎乳汁から分離された酵母状菌について. 獣医畜産新報, **708**, 404-408 (1980)
- 18) Sikdar, A. and Uppal P. K.: Isolation of *Candida guilliermondii* from suspected bovine lymphangitis cases. *Current Sci.*, **54**, 151

- (1985)
- 19) Sutka, P. : *Candida guilliermondii* var. *guilliermondii* infection in cows slaughtered because of infertility and udder inflammation. *Acta Veterinaria, Yugoslavia*, **33**, 287-297 (1983)
- 20) Sutka, P. and Meszaros, I. : Pathological and histopathological findings in organs of breeding bulls infected with *Candida guilliermondii*. *Magyar Allatorvosok Lapja*, **33**, 154-157 (1978)
- 21) Sutka, P., Soos, P., Gorgey, B., Szepeshelyi, F. and Varszegi, J. : Experimental infection of bulls with *Candida guilliermondii*. *Magyar Allatorvosok Lapja*, **34**, 589-596 (1979)
- 22) 田辺達夫 : カンジダによる乳房炎について. *家畜診療*, **212**, 31-34 (1981)
- 23) Vecchiarelli, A., Bistoni, F., Cenci, E., Perito, S. and Cassone, A. : In vitro killing of *Candida* species by murine immunoeffectors and its relationship to the experimental pathogenicity. *Sabouraudia*, **23**, 377-387 (1985)

### Summary

Pathogenicity of *Candida guilliermondii* isolated from bovine udder or sawdust was examined by its intravenous inoculation into mouse in comparison with that of *C. albicans* IAM4888. Under the inoculation of  $10^4$ ,  $10^5$  or  $10^6$  cells of *C. albicans*, mortalities of mice pretreated with 150 mg/kg of cortisone were 0, 40, or 73%, respectively. With the increase in the number of cells inoculated, increasing was noted not only in the number of microbes recovered from the organs but in the severity of macroscopic and microscopic lesions in the kidney. Owing to the scanty number of death and the mildness in pathosis in the cases pretreated with 50 or 100 mg/kg of cortisone, the dose of 150 mg/kg was assumed to be most proper for assessing the pathogenicity of *Candida* in mice.

Although no death was brought about in mice, microbes were recovered from kidney, liver and lung in the group inoculated with  $10^6$  cells of *C. guilliermondii* derived from udder. In kidney were noticed macroscopically discoloration, grayish punctum, or edema, and then confirmed microscopically. In case of the inoculation with  $10^8$  cells, death was occurred in some mice, their pathological findings being more severe. Pathoses of the group inoculated with  $10^8$  *C. guilliermondii* were almost equal with or slightly milder than those in case of  $10^4$  *C. albicans*. Between the both species no difference was noted either in target organ or pathological status; the difference in the four strains of *C. guilliermondii* being insignificant.

Although no death was brought about in animals microbes was recovered from those inoculated with  $10^8$  cells of the strain derived from sawdust, some clumps containing pseudomycelium being observed in the kidney. By microscopic examination the macroscopic lesion in kidney was confirmed. The pathosis of this group were almost identical with those in the group with  $10^6$  cells of the strain from udder.

These results revealed the pathogenicity of *C. guilliermondii* which caused almost the same lesion as that in case of *C. albicans*, and suggested that the infectivity of the strains from udder and sawdust was less than 1/10,000 and about 1/1,000,000 of that of *C. albicans*, respectively.