

## 緑膿菌感染症に関する研究

## (1) 新生児中耳炎の多発について

関東通信病院 臨床検査科 徐 慶 一 郎  
産婦人科 街 風 喜 雄  
耳鼻科 三辺武右衛門・飯田広美

(昭和 40 年 7 月 13 日受付)

## I. ま え が き

近年多くの薬剤に対して、自然耐性を保有する緑膿菌が、耐性ブドウ球菌の場合と同様に、院内に定着し、臨床各科材料からの検出頻度が増加の傾向を示している。このことは、慢性中耳炎患者の耳漏、外科系患者の術後感染化膿巣、尿路感染の際の尿、或は慢性肺感染症患者の喀痰材料について認められるが、更に、遺憾乍ら、当院においては、昭和 39 年 5 月末より 11 月に亘り、38 名に及ぶ新生児に、緑膿菌感染症、主として急性化膿性中耳炎の多発を経験した。

そこで本多発の原因を明かにし、今後の対策を確立する目的で、疫学的並に臨床細菌学的研究を行なった。本論文においては、患児の発生状況、発病時の日令分布、発病部位、治療の種類、治療日数などに関する統計的な検査成績と、患者病巣並に患者周辺材料からの病原検査成績について報告する。

## II. 実 験 材 料

1) 患児：a) 病巣材料(耳漏及び眼脂) b) 鼻腔或は咽頭ぬぐい液 c) 使用後のおむつ(糞便) d) 使用後の哺乳びんの乳首

2) 患児の母親：a) 咽頭ぬぐい液 b) 膣分泌液

3) 同室健康新生児：a) 外耳道ぬぐい液 b) 鼻腔ぬぐい液

4) 外来妊婦：膣粘膜分泌液

5) 病室勤務員：咽頭ぬぐい液

6) 水道蛇口：a) ロカ用ガーゼ内容(鉄サビ屑) b) 金属フィルター板

7) 病室内空気(落下菌)：産婦人科病室及び耳鼻科病室

以上の検査材料は、滅菌中試入り綿棒により採取、或は直接ブイオン培地に投入(水道蛇口フィルターや哺乳びん乳首など)、実験室内に持参、しかるべき培地に直接、或は孵卵器内に入れ、一旦増菌後、接種し、緑膿菌の分離検出を行なった。また、空中落下菌については、BTB 寒天平板シャーレを 2 時間開放、放置後、37°C に培養菌検出を行なった。

## III. 実 験 方 法

1) 緑膿菌の同定方法<sup>1,6)</sup>

塗抹染色標本でグラム陰性の桿菌で、ブイオン或は普通寒天培地で緑色色素が認められるときはもとより、色素産生が認められなくても、BTB 培地で乳糖非分解であることが認められ、クリグラー培地で、斜面高層共に変化を認めず、一船腸内細菌検索に準じて行なつた IMVC テストで、インドール、MR. VP の 3 者陰性、クエン酸利用陽性、また運動性が認められる時は、一応本菌を疑いチトクロームオキシダーゼ試験<sup>9)</sup>を行ない、その陽性であることを確かめ、更に HUGH-LEIFSON 培地で好氣的並に嫌氣的に培養、好氣的のみにブドウ糖分解性のあることを確かめ、本菌と同定した。なお、色素産生に関しては、King A. 並に King B 培地に接種後、1 週日観察し、Pyocyanin, Fluorescin, Plyorubin の何れかの産生を観察した。

2) 血清学的同定方法<sup>5,11,13,15,18)</sup>

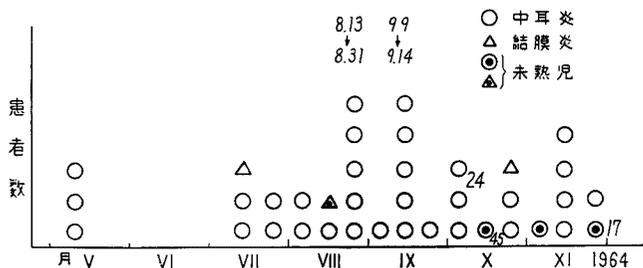
VERDER らの O-凝集反応による同定法<sup>18)</sup>に従つた。即ち、VERDER らの標準菌株 13 株(伝研滝上博士を通じ、子研坂崎博士より分与)の O 抗原免疫血清を生理食水で 1:40 に稀釈し、被検菌株の O 抗原液(37°C 24 時間ブイオン培養後 100°C 2 時間加熱した後、遠心し、沈渣を生理食塩水で浮遊洗滌後、再浮遊(1 mg/ml の濃度)したもの各 0.25 ml を混和し、50°C 恒温水槽内に 1 夜放置し、翌朝、凝集の有無を肉眼的に判定した。

標準菌株免疫血清は、家兎に 1 週 2 日宛計 6 回、1 日量を 0.5 ml から始め、2 回毎に宛 0.5 ml 増加、計 6 ml を静脈内接種し、最後の注射より 1 週日後に採血、血清を分離した。

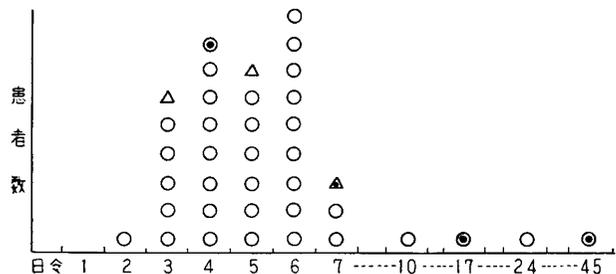
## 3) 薬剤感受性検査法：

菌株分離当初市販濃 1 度ディスク(昭和)により、型の如く測定を行なった。使用したディスクは、SF, PC, SM, CM, TC, EM, KM, CL(コリスチン)の 8 種である。最小発育阻止濃度(MIC)の測定には、穴付きプラスチック板使用、ブイオン稀釈の微量測定法<sup>4)</sup>に従つた。

カ1表 新生児患者発生状況



カ2表 初診時日令



IV. 検索成績

(I) 統計的事項

1) 新生児患者発生状況 (第1表)

1964年5月より11月に亘り38名の新生児に緑膿菌感染が見られた。3名の急性結膜炎を除き、他の35名は、凡て急性化膿性中耳炎の症状を呈した。この中に4名の未熟児が含まれている。患児発生状況は、第1表の通りで、5月3名、6月なく、7月5名、8月9名、9月7名、10月7名、11月7名で8月下旬と9月中旬にやや集中的に発生しているが、全体としては、散発性である。

2) 初診時日令 (第2表)

4名を除き、残り全部が1週日令以内に発病している。2日1名、3日6名、4日8名、5日7名、6日9名、7日3名、10日、17日、24日、45日各1名で3日、4日、6日に最多である。

3) 中耳炎病巣の左右別 (第3表)

中耳炎35例の病側左右別を調査した処、両側4例(11.4%)左側20例(57.1%)右側11例(31.4%)で全体としては、左側に有意義に多いが、その理由は明らかにされなかつた。

4) 治療方法 (第4表)

治療に関しては、多発の当初、分離菌がクロロマイセチンに比較的感性が認められたので、同剤の内服が試みられたが、その後、緑膿菌感染に、殆んど例外なく有効なコリマイ

第3表 中耳炎左右別

両側	4 (11.4%)
左側	20 (57.1%)
右側	11 (31.4%)
計	35

第4表 治療

クロロマイセチン内服	10
コリマイシン点耳	14
ブレドニソロン	3
ポリミキシン撒布	2
デカドロンザルベ	2
メドロールザルベ	1
パラマイシンザルベ	3
その他	3

シンがブレドニソロンと共に主として点耳一部注射により投与された。

5) 治療日数 (第5表)

最短1日、最長12日で、概して軽症で治療に困難を来したものは無い。治療日数は1日4名、2日8名、3日8名、4日6名、5日3名、6日4名、7日1名、8日2名、11日12日各1名で、大部分は、1週日以内の治療で全快、若くは軽快退院している。

(II) 病原検索

1) 緑膿菌の分離: 33症例の病巣材料につき細菌培養検査が行なわれ、凡ての材料から緑膿菌が検出された。この際、7例を除き、他菌の混在(主としてブドウ球菌)は認められなかつた。

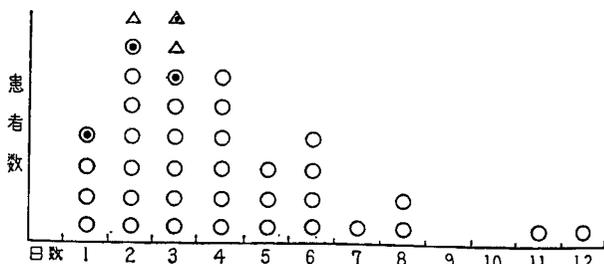
2) 分離菌の薬剤感受性

a) ディスク法による感受性試験成績

分離菌株のうち、29株につき分離当初1濃度ディスク法による薬剤感受性試験が行なわれた。その結果、SF(-), PC(-), SM(-), CM(+~++), TC(+~++), KM(-~+), E(+~-) コリスチン(++)のパターンが示された。

b) 希釈法による感受性試験成績 (第6表)

カ5表 治療日数



第 6 表 患者分離株の薬剤感受性と血清型

No.	患者名	分離月日	SM	CM	TC	KA	CoM	PxB	血清型
1		29/8	100<	30	30	100<	10	3	KT (3.7)
2		31/8	"	30	30	"	10	3	KT (3.7)
3		10/9	"	30	30	"	10	3	"
4		9/9	"	30	10	"	10	3	"
5		10/9	"	30	10	"	10	3	"
6		11/9	"	10	10	"	10	3	"
7		14/9	"	30	10	"	30	3	"
8		14/9	"	30	30	"	30	10	"
9		24/9	"	30	30	"	10	3	型別不能
10		2/10	"	30	10	"	10	3	型別不能
11		5/10	"	30	10	"	10	10	KT (3.7)
12		9/10	"	30	30	"	100	10	"
13		21/10	"	30	10	"	30	10	"
14		22/10	"	30	10	"	30	10	"
15		29/10	"	30	10	100	10	10	"
16		4/11	"	30	10	100<	10	10	"
17		11/11	"	ε0	10	"	10	10	"
18		12/11	"	30	10	100	10	10	"
19		16/11	"	30	30	100<	10	10	"
20		17/11	"	30	30	"	30	10	"

さらに、これらのうちの 20 株につき、穴付きプラスチック板使用ブイヨン稀釈微量法により、最小発育阻止濃度の測定を行なった処、第 6 表の通り、SM (100<), CM (10~30), TC (10~30), KM (100≡), CoM (10~30), Pox-B (3~10), 各 7/ml を示し、ディスク法の成績と一致した。

3) 分離菌株の血清型

これらの分離菌株から、O 抗原を作製し、VERDER らの標準 13 菌株の O 抗原免疫血清との間に、凝集反応を行なった処、8 月 29 日以降分離の 23 株中 20 株が、標準菌株の No. 5 (58 F 株) と No. 14 (2108 株) の両免疫血清に対し、陽性反応を示し、両株との間に共通抗原のあることが証明された。そこで、我々は便宜上これを KT 型菌と仮称し、以後の病原疫学的検索を進めた。

4) 患児周辺材料からの緑膿菌培養検出 (第 7 表)

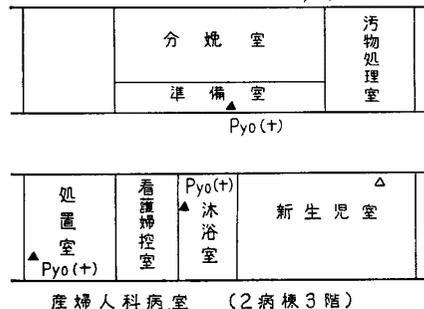
第 7 表 緑膿菌の培養検出

検査月日	由来	検体	緑膿菌検出
1/X	健康新生児	外耳道ぬぐい液	0/16
18/X	健康新生児	鼻腔ぬぐい液	7/21 (血清型 KT 2 株)
25/X	産婦人科勤務員	咽頭ぬぐい液	2/12
22/X	健康新生児	鼻腔ぬぐい液	2/23 (血清型 KT 2 株)
23/X	分娩室新生児室調乳室	水道蛇口フィルター	4/7 (血清型 KT 2 株)
19/X	患児	哺乳ビン乳帽	3/3
22/X	患児	おむつ	1/2
22/X	患児親	鼻腔ぬぐい液	1/2
6/X	産婦人科外来患者	臍粘液分泌液	0/11

次に、多発の原因と感染経路を明らかにするために、患者周辺の各材料から、緑膿菌の分離培養検出を行なった。9 月 1 日同室内収容の健康新生児 16 名の外耳道からは、凡て陰性、9 月 21 日、21 名の鼻腔から 7 名陽性、10 月 22 日同じく 25 名の鼻腔から 2 名 (何れも KT 型菌) 陽性の成績を得た。

また、9 月 26 日、病室勤務員の鼻咽候から、12 名中 2 名の陽性例を得た。さらに 10 月 23 日、分娩室、新生児室、調乳室の水道蛇口にとりつけられた金属フィルター及び鉄さびをとり除くためにとりつけたガーゼ、7 材料中 4 材料に KT 型菌陽性 (第 8 表) また、11 月 19 日患者の使用した哺乳びんの乳首 3 個から、全部陽性。

第 8 表 水道蛇口汚染状況 '64.10.23



10月22日、罹患児の鼻腔、おむつから、2例中1例、またその母親の鼻腔からも2例中1例本菌が検出された。

しかし、新生児室並に耳鼻科緑膿菌感染症収容個室からの本菌分離は陰性に終わった。

#### V. 考 え 方

屢々、健康人の尿尿中に見出され、元来弱毒菌と考えられている緑膿菌が、人体内で増殖し、その病原性を發揮するには一定の条件が必要のようである。この際、滝上<sup>9)</sup>が、結核患者喀痰中における本菌の消長から、述べているように、本菌の人体中定着増殖と、発症にはそれぞれ別個の条件があり、区別して考える必要がある。ともかく、近年緑膿菌感染症の増加が目立つて来た原因の1として、化学療法剤の宏範な使用が挙げられる<sup>8)</sup>。即ち、元来数多くの薬剤に対し、自然耐性を有する本菌も、普通の状態では、本菌と拮抗する他菌の存在により、その増殖が阻止されているが、化学療法の結果、一度、拮抗菌が除去されれば、菌交代現象として本菌の異常増殖が見られ、逐には菌交代症として発症するに到るものと考えられる。

特に、白血病や、悪性腫瘍などの消耗性疾患においては、本菌による菌交代症としての感染発症が屢々経験されている。

これらの症例においては、多くの場合、緑膿菌感染は、慢性の経過をたどり、多くは2次的な感染で、他菌の混在が屢々認められる。

しかるに、本新生児多発例においては、発病は、明かに本菌による1次的感染であり、病巣材料からも、大多数は、他菌の混在なく、本菌が単独に分離されている。

しかも、本多発例においては、同一血清型同一薬剤パターンのもので、多発の起菌として分離培養同定されたことは興味深い。欧米においても、近年新生児や幼児の緑膿菌感染が屢々報告されている。その際、新生児室などの空調装置、特に加湿装置の不備が<sup>16,17)</sup>、多発の原因として挙げられている。

また、本菌による尿路感染が多く、その際善尿びんや、採尿器などの汚染<sup>14)</sup>が、感染源として問題となっている。これらの容器は、原則として、蒸気滅菌器を使用することが要望されている。さらに、洗い場の水槽や、水道蛇口部の汚染が指摘され、水の撒乱を防ぐための金属網フィルター<sup>19)</sup>が、感染源として注目されている。今回の多発においても、水道蛇口部の汚染が、何らかの機会におこり、以後の多発を促したものと推定される。

殊に、本例においては、患児病巣分離株と同じ血清型の緑膿菌が、水道蛇口部から見出されたことは、感染との結びつきを明瞭にさせたものと考えられる。東京地方は、本多発期間中、異常の漏水に見舞われ、頻回に亘る

断水が本菌による汚染増殖の機会を特に増加したことは否めない。

外国文献に見られるように、水の撒乱を防ぐ目的の金属網フィルターにも、本菌が検出されたことは、水道水内で、本菌の生存増殖の可能性を示すもので、断水の際水道水中の有効クロール量の低下が、本菌の増殖を許容したものと推定される。また、本菌の各種消毒薬に対する抵抗性が、特に陽性石けんなどに対して、多菌種より大きいことが、証明されており、消毒薬の選択には注意を払う必要がある<sup>16)</sup>。本菌の感染経路として、水や食物を通じての経口感染が考えられる。

新生児の場合、牛乳そのものの汚染はないにしても、哺乳びん、乳首を通じての感染の可能性が考えられる。

本多発に際して、当院2病棟3階の産婦人科新生児室収容の新生児とは、別個に、同病棟4階小児科病室収容の未熟児の間にも、同型緑膿菌による中耳炎が見出されたため、両者に共通な2病棟4階の調乳室における本菌の汚染が問題となった。

事実、調乳室内洗びん場の水道蛇口からも、同型緑膿菌が検出され、この可能性が肯定された。即ち、患児使用哺乳びんを介して、菌の撒布された形跡が見出された。

次に中耳炎罹患児における実際の感染様式であるが、発病後中耳炎患児の鼻咽腔に、本菌の証明されるのは当然であるが、患児周辺の健康新生児の多耳道からは、菌検出が凡て陰性に終わったのに反し、鼻腔粘膜からは、2回の検索において、21例中7例、25例中2例にそれぞれ本菌が検出された。

このことは、中耳炎の起菌菌が恐らく外耳道から侵入したものでなく、鼻咽腔から侵入したものであることを示したものと解される。

更に、鼻腔内保菌は、患児の母親や、一部病室勤務員にも証明されたが、この際室内空気の汚染による飛沫感染の可能性が問題になった。今回の流行において、新生児室や、耳鼻科病室の空気について、落下菌の検索が行なわれたが、陰性に終わった。しかし、この結果は、検索方法の不備も考えられるので、必ずしも、室内空気汚染の可能性を全面的に否定するものとは考えられない。

また一方、新生児の感染は、出産の過程において、産道においておこる可能性も考えられる。この際、妊婦の産道における本菌汚染が問題になるが、今回の流行期に外来妊婦の膈分泌液の培養検索で、陽性成績は得られなかつた。しかし、このことは、分娩直後における新生児の感染を否定出来ない。それは、後に判明したように、分娩室附属の水道蛇口にも本菌が検出されたからである。

即ち分娩直後の入浴その他の処置中に、医師、看護婦の手を通じて、或は直接に本菌に接する機会があつたものと推定される。

次に、新生児と成人に見られる中耳炎の相違について考察の必要がある。

元来成人の場合、本菌による中耳炎は、慢性の経過をたどり、急性なものはほとんど見られない。之に反し、今日の新生児症例では急性の発症でその後の治癒経過も極めて短期間である。

このような、発病経過の相違は、発症機転の相違に基くものではないかと考えられる。

即ち、新生児の場合、文字通り初感染で、1次的な感染であり、その生体反応様式も、単純で簡単に治癒する。

之に反し、成人の場合再感染による発症と考えられ、病気を長期化させる要素として、アレルギー反応があげられる。

新生児中耳炎や結膜炎では、本多発例のように、軽症例が多いが、多面外国では、本菌による重症腸炎の報告があり<sup>10)</sup>、注目されている。この際、発病機転が、本多発例とは異なり、菌側と生体側両者の間に、毒力と防禦力の極端なアンバランスの見られる場合に限られているのではないかと考えられる。

緑膿菌感染症は、他方、医原性疾患 (Iatrogenic Disease) の1としてとりあげられている。

本菌により汚染された注射薬、点眼液、ワクチン、血液、その他、また本菌により汚染された治療用器具の使用により人工的に本菌感染をおこすことが多いとされている。

殊に、点眼、腰椎穿刺、尿道カテーテル、心臓カテーテルなどの治療過程に感染のおこることが、指摘されている。

このような場合、自然の経路による感染と異なり、容易に発病し、重症な経過をたどることが多い。

またこのような直接の原因ではないにしても、抗生物質や、ステロイドホルモンの宏範な使用は、間接的に本菌感染を促していることは、先に述べた通りである。

緑膿菌自体に目を転じた場合、本菌の自然界における生態は、本症の発生に多大な関係があるものと推定出来る。当院における多発と相前後して、都内の2~3の病院に同様な新生児中耳炎の多発が見られ、特に20名以上多発した豊島病院の例では、多くの患児病巣から同一血清型 (VERDER らの6型) に属する緑膿菌が、培養検出されたことは、当院における発生と関連して興味深い。

この際、両病院の流行株の間に、血清型の一致は見ら

れなかつたが、両多発例においてその起因菌が、それぞれ同一の菌株であつたことは、今後の多発に関する疫学的調査上、参考に供せられるものと信ぜられる。

### むすび

昭和39年5月末より11月に亘り、当院において、38名の新生児に緑膿菌感染症の多発が見られた。3名の結膜炎患者を除き、35名は何れも急性化膿性中耳炎の症状を呈した。

発病時の日令は、大半が1週日以内で3日~6日が最多であつた。一般に軽症で、治療としては、最初クロロマイセチン、次にコリマイシンをプレドニソロンと共に点耳或は注射することにより、大半は1週日以内に、全治若しくは、軽快退院している。

患児病巣材料、患児周辺材料について、臨床細菌学的検索を行なつた処、本多発の起因菌が、同一血清型 (VERDER らの No. 5, No. 14 株免疫血清に凝集反応を示す) 同一薬剤パターン (SM, KM の各々に耐性, CM, TC にやや感性, CoM, Po-X に感性) を示す緑膿菌であることが証明された。

多発の原因としては、特に新生児周辺の水道蛇口部の汚染が重要視された。

本論文の要旨は、昭和39年11月、第11回日本化学療法学会東日本支部会、昭和40年4月第38回日本細菌学会総会において発表した。

本研究の実施に際し、臨床検査科、細菌検査室の稲福盛栄、宮沢弥生両技士の技術的援助を得たことを深謝する。

### 文 献

- 1) 滝上 正, 北本 治: 緑膿菌感染症の研究, 第1報, 日伝誌 37: 378~383, 1964.
- 2) 滝上 正, 谷 莊吉, 北本 治: 同上, 第2報, 日伝誌 37: 401~408, 1964.
- 3) 滝上 正, 北本 治, 谷 莊吉: 同上, 第3報, 日伝誌 38: 311~317, 1964.
- 4) 徐慶一郎: Chemotherapy 1: 213~214, 1959(会)
- 5) 堀川高大, 鈴木 武, 藤田 浩, 山田 深, 吉川 秀成: *Pseudomonas aeruginosa* に関する研究, 日細誌 17: 711~722, 1964.
- 6) 安川純一, 小寺健一: *Pseudomonas* 菌属ならびに類似菌の同定について. 日細誌 18: 1~9, 1963.
- 7) ASSAY, L. D. & KOCH, R.: New Engl. J. Med. 262: 1062~1066, 1960.
- 8) FINLAND, M., JONES, W. F. & BARNS, M. W. Jr.: JAMA 170: 2188~2197, 1959.
- 9) GABY, W. L. & HADLEY, C.: J. Bact. 74, 356~358, 1957.
- 10) GALZ, W. L. & FREE, E.: J. Bact. 76, 442~444, 1958.
- 11) GOULD, J. C. & MCLEOD, J. W.: J. Path. Bact. 79: 295~311, 1960.

- 
- 12) HOFFMAN, M. A. & FINBERG, L. : J. Pediat. 46: 626~630, 1955.
- 13) KLEINMAIER, H. : Zbl. Bakt. Iabt. Orig. 170, 570~583, 1958.
- 14) MCLEOD, J. W. . Lancet i, 394~397, 1958.
- 15) POSTIC, B. & FINLAND, M. : J. Clin. Invest. 40, 2064~2075, 1961.
- 16) PRIMAVESI VON C. A. : Dent. Med. Wchnshr. 89, 1303~1306, 1964.
- 17) SENER, J. L. . Pediatrics 24 : 50~53, 1959.
- 18) VERDER, E. & EVANS, J. : J. Inf. Dis. 109, 183~193, 1961.
- 19) WILSON, M. G., NELSON, R. C., PHILIPS, L. H. & BOAK, R. A. : JAMA 175, 1146~1148, 1961.