

呼吸器感染症における嫌気性菌検索に関する研究

河 野 雅 和

大阪市立大学第一内科学教室

(昭和 57 年 12 月 3 日受付)

嫌気性菌を喀痰より分離し、それにより呼吸器感染症の起炎菌を決定することは上気道口腔内に多種・多数の嫌気性菌が常在することとも相まって、好気性菌の場合より困難である。

著者は、従来、教室で行なっている喀痰洗滌培養法を嫌気環境下に実施し、以下の成績を得た。

1) 健康人 20 名、呼吸器感染症患者 20 名の咽頭常在嫌気性菌について検索し、両者において *Peptococcus*, *Propionibacterium*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* などの無芽胞嫌気性菌を高率に分離した。

2) 諸種呼吸器感染症患者の喀出喀痰 84 検体について嫌気環境下にて喀痰洗滌培養を実施し、化学療法実施前の 54 検体中 36 検体 (67%)、化学療法実施中および実施後の 30 検体中 13 検体 (43%) において起炎菌の推定が可能であった。また、この 36 検体中 10 検体で嫌気性菌が単独もしくは好気性菌とともに起炎菌と推定され、著者の方法を実施しなければ対象とした 54 検体中 19 % において嫌気性菌の関与を見落したことになる、嫌気環境下での喀痰洗滌培養の有用性を確認した。

3) 諸種呼吸器感染症患者の喀痰 32 検体について洗滌培養と定量培養を同時に実施し、両者の成績を比較した結果、弱毒菌とされる嫌気性菌の起炎菌検索としては洗滌培養の方が有用であると結論を得た。

感染症の診断、治療に際してその起炎菌の決定は極めて重要である。起炎菌決定のための検査材料が血液、髄液、閉鎖膿瘍、胸水、腹水、関節液などでは、その材料の採取が無菌的に行なわれる限り、ほぼ検査材料への常在菌の混入はない。しかし呼吸器感染症においては、口腔、上気道に多種、多数の好気性菌、嫌気性菌が常在細菌叢を構成しており、それらの場所を経由して採取した検査材料にこれらの常在菌の混入を避けることは不可能である。そのため喀出喀痰を用いないで、気管を直接穿刺して気管内容物を吸引したり、吸引できない場合は生理食塩水を注入して、咳発作を誘発し、その際下気道よりとび出した喀痰を吸引する気管吸引法¹⁻⁵⁾、気管支鏡下に気管支内容物を吸引する気管支鏡下吸引法⁶⁻⁸⁾、レントゲン透視下に直接、肺病巣に近い気管支に管を wedge し、病巣内容物を吸引する気管支局所採痰法^{9,10)}、直接、経皮的に肺穿刺する方法¹¹⁾など種々の試みが行なわれている。しかし、これらの方法はいずれも患者の負担が大きく、反復して実施することが困難な場合もあり、また採痰量が僅少であるなどの問題も存在する。そこで患者に負担をかけない方法として喀出喀痰を材料として種々の起炎菌決定の方法が検討されており、当教室

では従来より喀痰洗滌培養法^{12,13)}を実施し、呼吸器感染症の起炎菌決定に優れた成績をおさめている。

化学療法の進歩、普及により肺炎を始めとする多くの呼吸器感染症の予後は飛躍的に向上した一方において、肺癌その他の基礎疾患をもった患者に発生した感染症が増加傾向を示し、宿主の感染防御力の低下とともに、起炎菌も多様化し、いわゆる opportunistic infection としてその治療の困難性との関連のうえで問題となっている。

嫌気性菌は培養同定の技術の進歩、普及に伴って、opportunistic pathogen の一つとして重要性が強調されており、呼吸器感染症においても無視することのできない重要な起炎菌の一つである。しかしながら、嫌気性菌は口腔内常在菌として、部位によっては好気性菌より優位に存在し¹⁴⁾、喀出喀痰をそのまま培養した場合には、たとえ嫌気性菌を分離しても起炎菌決定に関して無意味であることが既に指摘されており¹⁵⁾、嫌気性菌による呼吸器感染症の診断のためには肺穿刺あるいは気管吸引法が必要であることが強調されてきた。著者は喀痰洗滌培養法を嫌気環境下に実施し、喀痰に混入した常在好気性菌および嫌気性菌を除去し、正しく起炎菌としての

嫌気性菌を検出し得るか否かの検討を行ない、この方法が好気性菌のみならず嫌気性菌による呼吸器感染症の起炎菌決定にも有用であることを認めたので報告する。

I. 洗滌操作の嫌気性菌菌数に及ぼす影響の検討

A. 研究目的：

喀痰洗滌培養法では滅菌生理食塩液（以下生食液と略す）の中に喀出喀痰を入れ、白金耳で強く攪拌するので、この攪拌操作により嫌気性菌が酸素に暴露し、死滅する可能性がある。喀痰洗滌培養法を嫌気性菌検出に適用しようとするならば、まず嫌気環境下での洗滌操作が嫌気性菌ならびに好気性菌に及ぼす影響について検討しておかねばならない。

B. 研究方法：

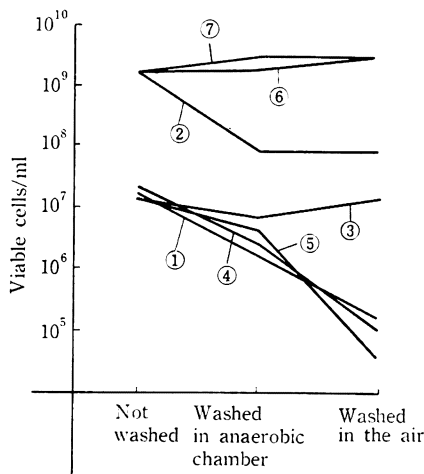
対象菌種として、①*Peptococcus asaccharolyticus*, ②*Veillonella alcalescens*, ③*Clostridium histolyticum*, ④*Fusobacterium necrophorum*, ⑤*Bacteroides fragilis*, ⑥*Escherichia coli*, ⑦*Staphylococcus aureus*を用い、嫌気性菌①～⑤は GAM 寒天培地（日水）にて 48 時間嫌気培養し、好気性菌⑥, ⑦は 5% 家兔血液加 HIA 培地（日水）にて 24 時間好気培養し、それぞれの湿菌 3 mg を上野¹⁶⁾の勤める希釈液 (KH_2PO_4 4.5 g, NaHPO_4 6 g, Tween 80 1 g, 蒸留水 1 l, pH 7.2) 10 ml に懸濁し、その 1 ml を生食液 9 ml の入ったシャーレに投入し、アナエロビックチェンバー（平沢製作所）内および一般室内にて各々 10 分間、洗滌操作と同様に白金耳にてシャーレ内の懸濁液を強く攪拌する。次いで、これからそれぞれ 10 倍希釈系列を作成し、各系列より 1 ml ずつをシャーレに移し、嫌気性菌①～⑤は 50°C の GAM 寒天、好気性菌⑥, ⑦は 50°C の HIA 培地にてそれぞれ混釈、嫌気性菌①～⑤は、37°C にて 48 時間嫌気培養し、好気性菌⑥, ⑦は 37°C にて 24 時間好気培養し、生じた集落数よりアナエロビックチェンバー内および一般室内にて攪拌後の懸濁液の 1 ml 当りの菌数を計測し、同時に計測した攪拌前の菌浮遊液の生菌数と比較した。なお寒天培地による混釈時のみ、やむを得ずアナエロビックチェンバーより一般室内へ取り出して行ない、また洗滌操作に用いる生食液は滅菌後、嫌気環境下に保存していたものを使用した。

C. 研究成果：

非処理ならびに好気および嫌気環境下での処理による各菌の生菌数は Fig. 1 に示したとおりで、*E. coli* および *S. aureus* の生菌数は非処理、好気環境下洗滌操作および嫌気環境下洗滌操作ですべて 10^8 台を示し、洗滌操作による影響を受けなかった。*V. alcalescens* は非処理で 2×10^9 、好気および嫌気環境下洗滌操作により 9×10^7 と 1 オーダー強減少した。*Clostridium* は非処理で $2 \times$

Fig. 1 Influence of washing on the number of viable cells

- ① *P. asaccharolyticus*, ② *V. alcalescens*,
③ *C. histolyticum*, ④ *F. necrophorum*,
⑤ *B. fragilis*, ⑥ *E. coli*, *S. aureus*



10^7 、嫌気環境下洗滌操作で 8×10^6 、好気環境下洗滌操作で 2×10^7 と洗滌操作による影響は少なかった。*P. asaccharolyticus* は非処理で 2×10^7 、嫌気環境下処理で 2×10^6 、好気環境下処理では 2×10^5 、*F. necrophorum* は非処理で 3×10^7 、嫌気環境下処理で 4×10^6 、好気環境下処理では 1×10^5 、*B. fragilis* は非処理で 2×10^7 、嫌気環境下処理で 6×10^6 、好気環境下処理では 5×10^4 と、いずれも好気環境下での処理により、著明に生菌数の減少が認められたが、嫌気環境下処理では生菌数の減少はわずかであった。

D. 小括ならびに考按：

E. coli および *S. aureus* は好気環境下ならびに嫌気環境下の攪拌操作により、いずれも減少しない。これに対して *B. fragilis*, *F. necrophorum*, *P. asaccharolyticus* は好気環境下にて攪拌すると著明に生菌数の減少を認めたが、この攪拌を嫌気環境下に行なえば、これら 3 種の嫌気性菌を含めて対象とした 5 種の嫌気性菌の生菌数は減少しても 1 オーダー強にとどまった。

今回の実験では菌液の GAM 寒天による混釈に際して、やむを得ず一時、一般室内に出したにも拘らず、5 種の嫌気性菌はアナエロビックチェンバー内にて処理を行なう限り、生菌数の減少は 1 オーダー強にとどまることが認められた。実際のアナエロビックチェンバー内にて行なわれる喀痰洗滌培養法では、喀出後、嫌気ポーター¹⁷⁾内に注入された喀痰は以後まったく嫌氣的に洗滌、培養されるわけであるから、洗滌の影響は今回の実験に

おける生菌数の減少よりもさらに軽度であると考えられ、嫌気性菌による呼吸器感染症の起炎菌決定に際して、嫌気環境下における喀痰洗滌培養法を応用し得ると考えられた。

II. 健康人ならびに呼吸器感染症患者の咽頭常在細菌叢の検討

A. 研究目的：

呼吸器感染症の起炎菌決定のために喀出喀痰を材料として用いた場合、混入する可能性のある上気道、口腔内常在の好気性菌および嫌気性菌は如何なるものであるか、またこれらの常在菌が健康人と呼吸器感染症患者で如何なる差があるかを検討した。

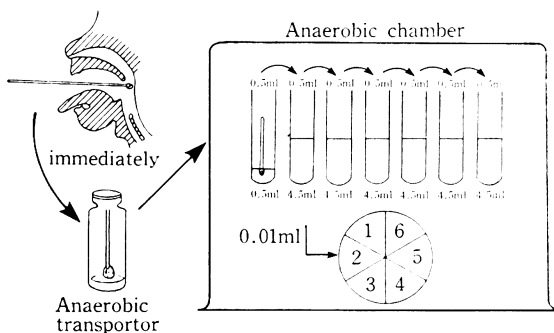
B. 研究対象：

健康人 20 名および呼吸器感染症患者 20 名（感染を伴った COPD 6 名，感染を伴った気管支拡張症 7 名，肺炎 3 名，肺膿瘍 2 名，感染を伴った肺癌 2 名）を対象とした。

C. 研究方法：

直径 5 mm，長さ 10 mm の綿球をつけた滅菌綿棒を用いて咽頭後壁を擦過し、綿棒先端部をすばやく嫌気ポーターに入れ、アナエロビックチェンバー内へ移した。なお、綿棒による咽頭擦過は 1 人の検者が行ない、擦過法の差による誤差の発生を防止した。アナエロビックチェンバー内では嫌気ポーターから綿球を取り出して嫌気性菌用希釈液 0.5 ml を入れた試験管に入れ、十分に攪拌し、Fig. 2 のように順次に 10 倍希釈系列をつくり、これを培地に 1 白金耳 (one loop $\equiv$ 0.01 ml) ずつ塗布し、嫌気培養は 37°C，48 時間，好気培養は 37°C，24 時間とし、生育した集落数より 1 綿棒当りの好気性菌および嫌気性菌の菌数を計算した。使用培地として GAM

Fig. 2 Method of quantitative culture of throat swab



寒天（日水），Kanamycin-Vancomycin 加 GAM 寒天（Kanamycin 75 μ g/ml，Vancomycin 2.5 μ g/ml 加），バクテロイデス（日水），変法 FM（日水），Kanamycin-Vancomycin 加 Brucella 溶血血液寒天（BBL，Kanamycin 75 μ g/ml，Vancomycin 2.5 μ g/ml，5% ウサギ溶血血液，メナジオン溶液 0.1 μ g/ml 加）培地を用いて嫌気培養を，5% 家兎血液加 HIA（日水），マッコンキー（栄研），スタヒロコッカス #110（栄研），カンジタ GS（栄研）培地を用いて好気培養を行ない，生育した集落について同定を実施した。嫌気性菌の同定は上野らの方法¹⁸⁾に従い，好気性菌の同定は COWAN and STEEL の Manual¹⁹⁾に従った。

D. 研究成績：

呼吸器感染症患者および健康人の 1 検体当りの分離菌種数を Table 1 に示した。健康人では好気性菌は 1 検体より 1～7 種で，3～4 種分離するものが高率であり，嫌気性菌は 1 検体より 0～4 種で，2～3 種分離するものが高率であった。呼吸器感染症患者では好気性菌は 1

Table 1 Number of species of isolated bacteria from pharynx

Specimens	Number of species	Aerobes							Anaerobes						
		0	1	2	3	4	5	>6	0	1	2	3	4	5	>6
Patients with RTI				1	8	8			1	1	5	10			1
Healthy adults		1	1		6	3	2	1	1	1	6	8			1

Table 2 Aerobic bacteria isolated from pharynx of healthy adults

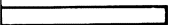
Organism	Isolated rate (%)	Count of viable cell per one swab
	25 50 75	
<i>α</i> -hemolytic streptococcus		$10^3 \sim 10^6$
<i>β</i> -hemolytic streptococcus		$10^3 \sim 10^4$
<i>γ</i> -hemolytic streptococcus		10^4
<i>S. aureus</i>		10^3
<i>S. epidermidis</i>		$10^3 \sim 10^4$
<i>Micrococcus</i>		$10^3 \sim 10^5$
<i>Corynebacterium</i>		$10^4 \sim 10^5$
<i>Neisseria</i>		$10^3 \sim 10^5$
<i>H. parainfluenzae</i>		$10^4 \sim 10^5$
<i>H. haemolyticus</i>		10^4

Table 3 Anaerobic bacteria isolated from pharynx of healthy adults

Organism	Isolated rate (%)	Count of viable cell per one swab
	25 50 75	
<i>Peptococcus</i>		$10^3 \sim 10^4$
<i>Peptostreptococcus</i>		10^3
Other GPC		10^3
<i>Propionibacterium</i>		$10^3 \sim 10^6$
Other GPR		$10^3 \sim 10^4$
<i>Veillonella</i>		$10^4 \sim 10^5$
Other GNC		10^3
<i>B.melaninogenicus</i>		10^4
Other <i>Bacteroides</i>		$10^3 \sim 10^5$
<i>Fusobacterium</i>		10^3
<i>Clostridium</i>		10^3

検体より2～4種で、3～4種分離するものが高率であり、嫌気性菌は1検体より0～4種で、2～3種分離するものが高率であった。

健康人20名より分離された好気性菌および嫌気性菌の種類と菌数をTable 2およびTable 3に示した。好気性菌では分離菌種は *Neisseria* が最も高率に、すなわち20検体中17検体より分離され、その菌数は $10^3 \sim 10^5$ /one swab であった。次いで *α*-hemolytic strepto-

coccus が20検体中16検体より分離され、その菌数は $10^3 \sim 10^6$ /one swab であり、*Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus* がこれに次いで多くの検体より分離された。嫌気性菌では分離菌種は *Bacteroides* が20検体中12検体と最も高率に分離され、その菌数は $10^3 \sim 10^5$ /one swab であり、そのうち *B.melaninogenicus* は1検体のみであった。次いで *Propionibacterium* および *Veillonella* がともに20検体中9検体より分離された。

Table 4 Aerobic bacteria isolated from pharynx of the patients with RTI

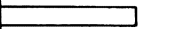
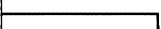
Organism	Isolated rate(%)	Count of viable cell per one swab
	25 50 75	
α -hemolytic streptococcus		$10^2 \sim 10^5$
β -hemolytic streptococcus		10^3
γ -hemolytic streptococcus		$10^3 \sim 10^4$
<i>S. aureus</i>		10^5
<i>S. epidermidis</i>		10^3
<i>Corynebacterium</i>		10^3
<i>Neisseria</i>		$10^3 \sim 10^5$
<i>H. influenzae</i>		10^3
<i>H. parainfluenzae</i>		$10^3 \sim 10^6$
<i>H. haemolyticus</i>		10^3
<i>E. coli</i>		10^4
<i>Klebsiella</i>		$10^3 \sim 10^6$
<i>Enterobacter</i>		10^4
<i>Acinetobacter</i>		10^3
<i>P. aeruginosa</i>		$10^3 \sim 10^6$
Other <i>Pseudomonas</i>		10^3
<i>Serratia</i>		$10^3 \sim 10^5$

Table 5 Anaerobic bacteria isolated from pharynx of the patients with RTI

Organism	Isolated rate(%)	Count of viable cell per one swab
	25 50 75	
<i>Peptococcus</i>		$10^3 \sim 10^4$
<i>Peptostreptococcus</i>		10^3
<i>Propionibacterium</i>		$10^3 \sim 10^4$
Other GPR		$10^3 \sim 10^4$
<i>Veillonella</i>		$10^3 \sim 10^5$
Other GNC		10^3
<i>B. melaninogenicus</i>		$10^3 \sim 10^5$
Other <i>Bacteroides</i>		$10^3 \sim 10^4$
<i>Fusobacterium</i>		$10^3 \sim 10^4$
Other GNR		10^3
<i>Clostridium</i>		10^4

その菌数は *Propionibacterium* が $10^3 \sim 10^6$ /one swab, *Veillonella* が $10^3 \sim 10^5$ /one swab であった。

呼吸器感染症患者 20 名より分離された好気性菌および嫌気性菌の種類と菌数を Table 4 および Table 5 に示した。好気性菌では分離菌種は *Neisseria* が最も高率で、20 検体中 15 検体より分離され、その菌数は $10^3 \sim 10^5$ /one swab であった。次いで α -hemolytic streptococcus が 20 検体中 13 検体より分離され、その菌数は $10^3 \sim 10^5$ /one swab, 次いで *Klebsiella* が 9 検体より、*Pseudomonas aeruginosa* が 5 検体より分離された。嫌気性菌では分離菌種は *Bacteroides* が最も高率に、すなわち 20 検体全例より分離されその菌数は $10^3 \sim 10^5$ /one swab で、そのうち *B. melaninogenicus* は 11 検体より分離された。次いで *Veillonella* が 9 検体より、次いで *Propionibacterium* が 6 検体よりと高率に分離された。

E. 小括ならびに考按：

咽頭後壁から滅菌綿棒で検体を採取した場合、健康人、呼吸器感染症患者の 1 検体当りの分離菌種数はともに好気性菌では 3～4 種分離するものが高率で、嫌気性菌では 2～3 種分離するものが高率であった。また分離菌種では健康人、呼吸器感染症患者ともに好気性菌では *Neisseria* と α -hemolytic streptococcus が高率に分離された。呼吸器感染症患者では *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia* をそれぞれ 20 検体中 9, 5, 4 検体に認め、*Enterobacter*, *E. coli*, *Haemophilus influenzae* もそれぞれ 1 検体より分離された。なおこれらのグラム陰性桿菌は健康人の咽頭には認められなかった。

S. aureus は健康人においても 2 検体より分離されたがともに 10^3 以下であった。また嫌気性菌についてみると *Veillonella*, *Propionibacterium* は健康人および呼吸器感染症患者の双方において 20 検体中 6～9 検体より分離され健康人と患者の間に差を認めなかった。*B. melaninogenicus* は健康人では 1 検体より分離されたにすぎないが、呼吸器感染症患者では 20 検体中 11 検体と健康人咽頭よりかなり高率に分離される傾向が認められた。*Fusobacterium* も健康人では 2 検体より、呼吸器感染症患者では 5 検体より分離された。

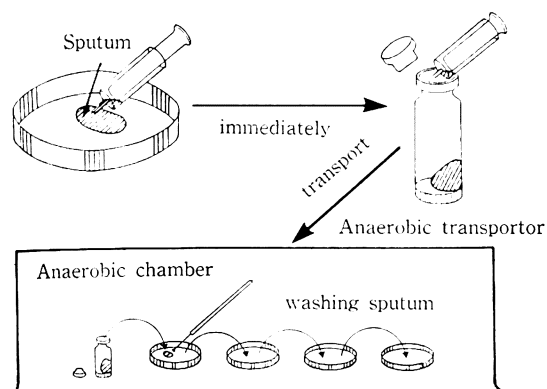
肺の病巣由来の喀痰は上気道、口腔内通過時にこれらの部位に存在する常在菌に汚染されるため、喀出喀痰をそのまま培養すれば、これらの常在菌と起炎菌の判別が困難となることが想像される。従来、好気培養のみの場合、*Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* など呼吸器感染症の起炎菌として重要な菌を喀出喀痰より検出すれば、直ちにそれが起炎菌と推定される場合も多々あった。嫌気性菌の場合、著者の成績でも呼吸器感染症の起炎菌としてしばしば分離される *B. melaninogenicus* をはじめとする *Bacteroides* や *Fusobacterium* などの無芽胞嫌気性グラム陰性桿菌や *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* などの嫌気性グラム陽性球菌を健康人においても、また疾患の経過その他から嫌気性感染でないとは推定された呼吸器感染症においても少なからず分離している。また嫌気性菌による呼吸器感染症であることが明確な患者においても起炎菌と推定された嫌気性菌以外の嫌気性菌を咽頭

Table 6 Number of sputum specimens

Diagnosis	Before treatment					Under treatment					After treatment					Total
	P	PM	M	MS		P	PM	M	MS		P	PM	M	MS		
Acute bronchitis			1		1											1
Infected COPD	6		1	1	8	1				1		1	2		3	12
Infected bronchiectasis	10	1		1	12	3	1	1		5						17
Pneumonia	1	1			2	1	1			2	1				1	5
Lung abscess	15	4			19	5	5			10	4		3		7	36
Infected lung cancer	7	2			9	1				1						10
Pul tbc with mixed infection	2				2											2
Pyothorax	1				1											1
Total	42	8	2	2	54	11	7	1	0	19	5	1	5	0	11	84

* P : Purulent, PM : Mucopurulent, M : Mucous, MS : Mucoserous

Fig. 3 Method of "sputum washing" in anaerobic chamber



より分離しており、喀出喀痰をそのまま嫌気培養した場合、分離した菌種が病巣由来の真の起炎菌か単なる常在菌かの判別が困難であろうことを改めて確認した。

III. 嫌気環境下での喀痰洗滌培養による呼吸器感染症の起炎菌推定

A. 研究目的：

I. において、嫌気環境下での 喀痰洗滌操作の 嫌気性菌生菌数に及ぼす影響が少なく、嫌気性菌による呼吸器感染症の起炎菌推定に喀痰洗滌培養を応用し得る基礎実験成績を得たので、諸種呼吸器感染症患者の喀痰について嫌気環境下に喀痰洗滌培養を実施し、起炎菌推定の可能性について検討を加えた。

B. 研究対象：

洗滌培養の対象とした喀痰は Table 6 に示したとおり、諸種呼吸器感染症患者の喀出喀痰で化学療法実施前に採取した 54 検体、化学療法実施中に採取した 19 検体、化学療法実施後に採取した 11 検体、計 84 検体である。そのうち膿性痰は 58 検体、粘膿性痰は 16 検体、粘性痰は 8 検体、漿粘性痰は 2 検体である。

C. 研究方法：

Fig. 3 のようにシャーレ内に喀出させた喀痰を直ちに 2.5 ml 注射器を用いて空気の混入をさけて吸引し、18 gauge の注射針をつけ嫌気ポーター内へ注入、アナエロビックチェンバー内へ移し、チェンバー内にて従来の喀痰洗滌培養と同様に洗滌操作を加えた。すなわち直径 10 cm のシャーレ 4 枚に 20 ml の滅菌生食液を入れ、嫌気ポーター内の喀痰を最初の生食液の入ったシャーレ内にて白金耳で強く攪拌し、分離した喀痰小片（膿性、粘膿性痰では膿性部分）を白金耳ですくいあげ、シャーレのふたの内側に付着させて生食液をできるだけ除いた後、次のシャーレ内へ投入、再び強く攪拌、同様の操作

Table 7 Possibility of presumption of causative organisms by "Sputum Washing" (before treatment)

Diagnosis	Appearance of sputum	P	PM	M	MS	Total
Acute bronchitis		0 0	0 0	0 1	0 0	0 1
Infected COPD		5 6	0 0	1 1	0 1	6 8
Infected bronchiectasis		9 10	1 1	0 0	1 1	11 12
Pneumonia		1 1	0 1	0 0	0 0	1 2
Lung abscess		12 15	1 4	0 0	0 0	13 19
Infected lung cancer		5 7	0 2	0 0	0 0	5 9
Pul tbc with mixed infection		0/2	0 0	0 0	0 0	0 2
Pyothorax		0/1	0 0	0 0	0 0	0 1
Total		32 42	2 8	1 2	1 2	36 54

Number of sputum specimens which were possible to presume the causative organisms / Number of sputum specimens examined.

を 4 回くり返した後、生食液中に浮遊する数個の喀痰小片を集め、混和した後、培地上に塗抹した。この際培地を二等分し、一方に洗滌した 喀痰（以下洗滌喀痰と略す）を塗抹し、他の半分には洗滌を加える前の喀痰（以下非洗滌喀痰と略す）を塗布し、培養した。両者での発育成績を比較し、洗滌により消失あるいは著減した菌は上気道口腔内常在菌と考え、洗滌培養後も菌数が不変あるいは増加する菌を喀痰中心部に存在した真の起炎菌と推定した。培地は 5% 家兎血液加 HIA（日水）、マッコンキー（栄研）、スタヒロコックス #110（栄研）、カンジダ GS（栄研）培地を用いて好気培養を、GAM 寒天（日水）、Kanamycin-Vancomycin 加 GAM 寒天、変法 FM（日水）、バクテロイデス（日水）、Kanamycin-Vancomycin 加 Brucella 溶血血液寒天（BBL）培地を用いて嫌気培養を行なった。また化学療法実施前の 54 検体中、喀痰洗滌法により起炎菌の推定が可能であった 36 検体の喀痰を採取した患者に推定された起炎菌に対する適合抗生剤を投与し、症状の消長と推定起炎菌の消長の合致性の有無より起炎菌推定の正誤を retrospective に検討した。

D. 成績：

化学療法実施前の患者より喀出された 54 検体中、36 検体（66.7%）で起炎菌の推定が可能であった。喀痰性状別にみると、粘膿性痰で推定し得たのは 8 検体中、2 検体（25%）と低率であったが、膿性痰では 42 検体中、32 検体（76.2%）と高率に推定可能であった。疾患

Table 8 Causative organisms presumed by "Sputum Washing" in anaerobic chamber (before treatment)

Diagnosis		Acute bronchitis	Infected COPD	Infected bronchiectasis	Pneumonia	Lung abscess	Infected lung cancer	Pul tbc with mixed infection	Pyothorax	Total
Organism										
Aerobes	<i>H. influenzae</i>		4	2		3	3			12
	<i>E. coli</i>			1						1
	<i>Klebsiella</i>		2	3						5
	<i>Enterobacter</i>					1				1
	<i>P. aeruginosa</i>			4		2				6
	<i>Klebsiella</i> + <i>Enterobacter</i>					1				1
Anaerobes	<i>Peptostreptococcus</i>					1				1
	<i>B. melaninogenicus</i>				1	1				2
	other <i>Bacteroides</i>					1				1
	<i>B. melaninogenicus</i> + <i>Fusobacterium</i>					2				2
	<i>Bacteroides</i> + <i>Fusobacterium</i>						1			1
Aerobes + Anaerobes	<i>S. aureus</i> + <i>B. melaninogenicus</i>						1			1
	<i>Klebsiella</i> + <i>Peptococcus</i>					1				1
	<i>Klebsiella</i> + <i>P. aeruginosa</i> + <i>B. melaninogenicus</i> + <i>Bacteroides</i>			1						1
?		1	2	1	1	6	4	2	1	18
Total		1	8	12	2	19	9	2	1	54

別にみると感染を伴った COPD で 8 検体中、6 検体 (75%)、感染を伴った気管支拡張症で 12 検体中、11 検体 (91.7%) と高率に推定可能であった (Table 7)。

推定し得た起炎菌は Table 8 に示したとおりで好気性菌では *H. influenzae* 12 検体、*P. aeruginosa* が 6 検体、*Klebsiella* が 5 検体、*Enterobacter* が 1 検体、*E. coli* が 1 検体、*Klebsiella*+*Enterobacter* が 1 検体であり、嫌気性菌で *B. melaninogenicus* が 2 検体、*B. melaninogenicus* 以外の *Bacteroides* が 1 検体、*Peptostreptococcus* が 1 検体、*Bacteroides*+*Fusobacterium* が 1 検体、*B. melaninogenicus*+*Fusobacterium* が 2 検体である。また好気性菌と嫌気性菌の混合感染として *S. aureus*+*B. melaninogenicus* が 1 検体、*Klebsiella*+*Peptococcus* が 1 検体、*Klebsiella*+*P. aeruginosa*+*Bacteroides*+*B. melaninogenicus* が 1 検体であった。以上のように 26 検体では好気性菌が、7 検体では嫌気性菌が、3 検体では好気性菌+嫌気性菌が起炎菌として推定し得た。

化学療法実施中および実施後の喀痰では 30 検体中

Table 9 Possibility of presumption of causative organisms by "Sputum Washing" (under and before treatment)

Appearance of sputum		P	PM	M	MS	Total
Diagnosis						
Infected COPD		1/1	0/1	0/2	0/0	1/4
Infected bronchiectasis		3/3	0/1	0/1	0/0	3/5
Pneumonia		1/2	0/1	0/0	0/0	1/3
Lung abscess		5/9	1/5	1/3	0/0	7/17
Infected lung cancer		1/1	0/0	0/0	0/0	1/1
Total		11/16	1/8	1/6	0/0	13/30

Number of sputum specimens which were possible to presume the causative organisms / Number of sputum specimens examined.

Table 10 Causative organisms presumed by "Sputum Washing" in anaerobic chamber
(under and after treatment)

Diagnosis		Infected COPD	Infected bronchiectasis	Pneumonia	Lung abscess	Infected lung cancer	Total
Organism							
Aerobes	<i>H. influenzae</i>					1	1
	<i>Klebsiella</i>			1	2		3
	<i>Enterobacter</i>				1		1
	<i>P. aeruginosa</i>	1	2				3
Anaerobes	<i>Peptostreptococcus</i>				1		1
	<i>Bacteroides</i>				1		1
	<i>B. melaninogenicus</i> + <i>Fusobacterium</i>				1		1
Aerobes + Anaerobes	<i>Klebsiella</i> + <i>Peptostreptococcus</i>		1				1
	<i>Klebsiella</i> + <i>Bacteroides</i>				1		1
?		3	2	2	10		17
Total		4	5	3	17	1	30

Table 11 Retrospective study of causative organisms presumed by
"Sputum Washing" in an anaerobic chamber

Diagnosis	Number in which presumption is possible	Identified	Unconfirmed	Unidentified
Infected COPD	6	6		
Infected bronchiectasis	11	10	1	
Pneumonia	1			1
Lung abscess	13	10	1	2
Infected lung cancer	5		5	
Total	36	26 (72.2%)	7 (19.4%)	3 (8.3%)

13 検体 (43.3%) で起炎菌の推定が可能であり、喀痰性状別にみると、膿性痰では 16 検体中 11 検体 (68.8%) とやや高率に推定可能であったが、粘膿性痰では 8 検体中 1 検体 (12.5%)、粘性痰では 6 検体中 1 検体 (16.7%) と低率であった (Table 9)。

化学療法実施中および実施後の洗滌法により推定し得た起炎菌は Table 10 に示したとおりで、好気性菌では *H. influenzae* が 1 検体、*Klebsiella* が 3 検体、*P. aeruginosa* が 3 検体、*Enterobacter* が 1 検体であり、嫌気性菌では *Peptostreptococcus* が 1 検体、*Bacteroides* が 1 検体、*B. melaninogenicus* + *Fusobacterium* が 1 検体で

ある。また好気性菌と嫌気性菌の混合感染として *Klebsiella* + *Bacteroides* 1 検体、*Klebsiella* + *Peptostreptococcus* 1 検体であった。

化学療法実施前 54 検体中推定が可能であった 36 検体について、推定された起炎菌に対する適合抗生剤の投与による症状の変化と推定起炎菌の消失の有無より、推定の正誤を検討した成績は Table 11 に示したように、感染を伴った COPD では推定可能であった 6 検体中 6 検体 (100%) で推定が正しかったことを確認した。感染を伴った気管支拡張症では推定可能であった 11 検体中 10 検体 (90.9%) で、肺膿瘍では 13 検体中 10 検体

Fig. 4 Case 1, T. K., 60 y. o., M., Lung abscess

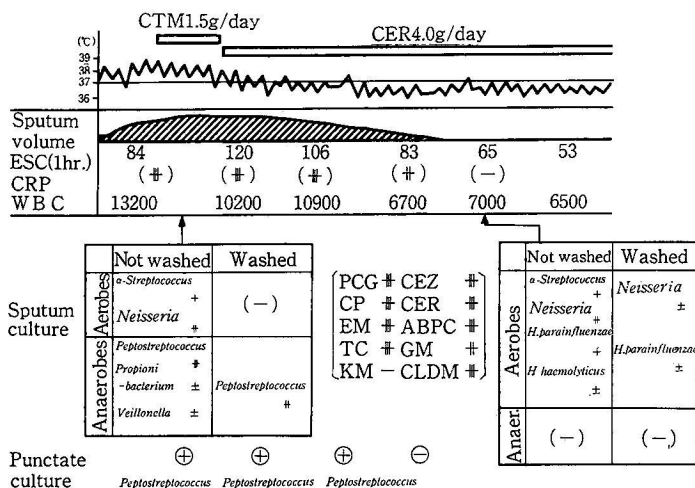


Fig. 5 a Chest-X ray findings of Case 1 before treatment

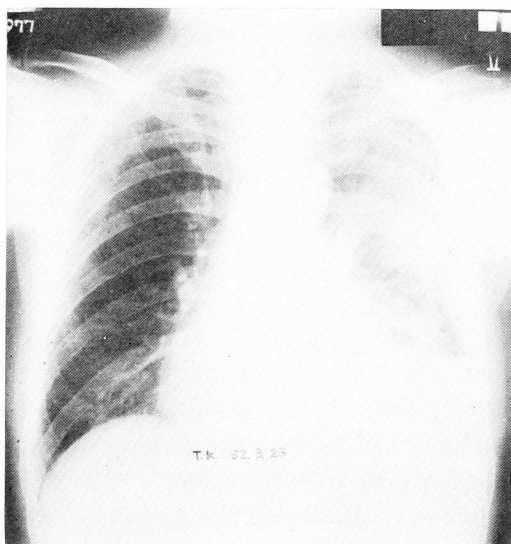
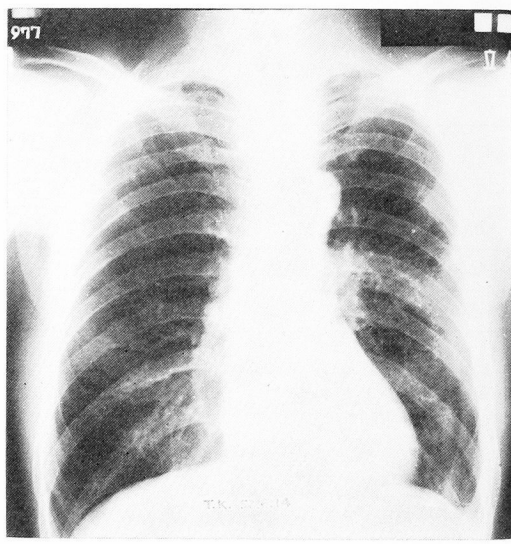


Fig. 5 b Chest-X ray findings of Case 1 after treatment



(76.9%) と高率に推定の正しさを確認し得た。しかし感染を伴った肺癌では、肺癌そのものの症状にマスクされて感染症状の消長を把握することが困難なため、推定可能であった 5 検体全例で推定の正しさを確認できなかった。以上推定可能であった全 36 検体中 26 検体 (72.2%) で推定の正しさが確認され、推定が誤認であると retrospective に考えられたのは 36 検体中 3 検体 (8.3%) のみであった。

以下症例を呈示する。

症例 1 (Fig. 4) 60 歳, 男子。前胸部痛および多量の膿性痰を主訴として来院, 胸部 X 線像上 Fig. 5 a のように左下肺野に一ボーを伴う巨大空洞を認め、精査の結果、原発性肺膿瘍と診断された。嫌気環境下での喀痰洗滌培養を実施し、非洗滌痰では好気培養で α -hemolytic streptococcus, *Neisseria*, 嫌気培養で *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Veillonella* の発育を認めたが、洗滌痰では好気性菌の発育は認めず、嫌気性菌の *Peptostreptococcus* のみが発育し、これが起炎菌と

Fig. 6 Case 2, T. H., 55 y. o., M., Lung abscess

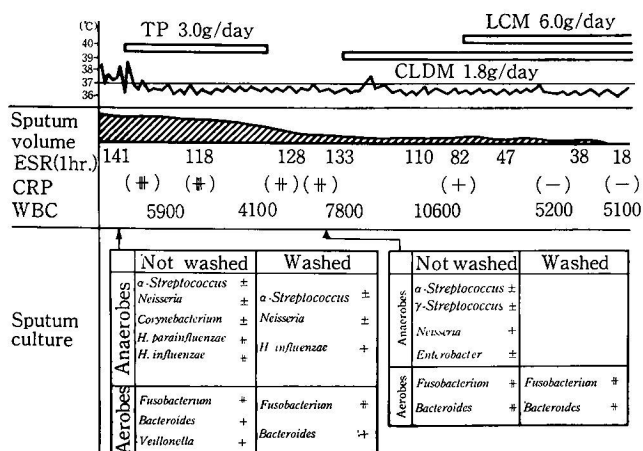


Fig. 7a Chest-X ray finding of Case 2 before treatment



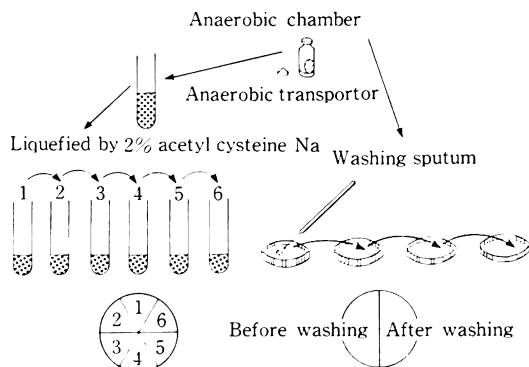
Fig. 7b Chest-X ray finding of Case 2 after treatment



推定された。なお同時に実施した経皮的肺穿刺液の培養においても *Peptostreptococcus* が純培養状に発育した。薬剤感受性に従い、Cephaloridine 1日4gを投与し、6日目には解熱し、喀痰量も著明に減少した。治療後の洗滌痰からは好気性菌で *Neisseria*, *H. parainfluenzae* が少数分離されているが、非洗滌喀痰培養の結果と比較して著減しており、常在菌による汚染と考えられた。同時に実施した経皮的肺穿刺にも *Peptostreptococcus* は消失し、胸部レ線像にて Fig. 5b のように空洞は消失した。

症例2 (Fig. 6) 55歳、男子。気管支拡張症＋肺膿瘍の患者で、某院にて Cephaloridine, Ampicillin, Cefazolin, Gentamicin の投与を受け、悪臭をはなつ多量の膿性痰の喀出をみるようになり、胸部レ線像上、Fig. 7aに示すように多発性の空洞を認め、当院へ転院した。その抗生剤使用の前歴、悪臭痰より嫌気性菌感染を疑い、嫌気環境下に喀痰洗滌培養を実施し、*Fusobacterium* および *B. melaninogenicus* を洗滌痰より多数検出した。Thiamphenicolにて治療を開始したが、骨髓抑制所見が認められたため、Thiamphenicolの投与

Fig. 8 Comparison between sputum washing culture and quantitative culture



を中止し、Clindamycin 1日1.8g分4に変更、ついで Lincomycin 1日6g分2も併用し、Fig. 7bのように著明に胸部レ線所見の改善をみ、悪臭痰も消失、洗痰痰にも *Fusobacterium*, *B. melaninogenicus* は消失した。

E. 小括ならびに考按：

呼吸器感染症の喀痰について嫌気環境下での喀痰洗痰培養を実施し、化学療法実施前の54検体中36検体(66.7%)において、また化学療法実施中および実施後の30検体中13検体(43.3%)において起炎菌の推定が可能であった。また化学療法実施前に採取し、起炎菌推定可能な36検体について、抗生剤投与後の症状の変化と推定起炎菌の消失の有無より推定の正誤を retrospective に検討した結果、推定の誤認は8.3%と僅少であることが認められた。化学療法実施前54検体中10検体で嫌気性菌が単独もしくは好気性菌とともに起炎菌と推定され、嫌気環境下での喀痰洗痰培養を実施しなければ、54検体中10検体すなわち18.5%において嫌気性菌の関与を見落としたことになり、嫌気環境下での喀痰洗痰培養が呼吸器感染症の起炎菌決定に有用であると考えられた。

IV. 喀痰洗痰培養法と定量培養法の比較

A. 研究目的：

起炎菌検索のための喀出喀痰の定量培養については RAULINS²⁰⁾, PIRTLE²¹⁾, 松本²²⁾らをはじめとして極めて多くの報告があり、特に PIRTLE, 松本は喀出喀痰の定量培養にて 10^7 /ml 以上の病原菌を起炎菌とすべきであると報告している。しかし、これらは好気性菌についてのみであり、喀出喀痰についての嫌気性菌の定量培養に関しては、上野¹⁶⁾, BARTLETT^{23,24)}らが報告しているにすぎない。著者は諸種呼吸器感染症患者について好気性菌とともに嫌気性菌についても定量培養を実施し、同時に同一

検体について洗痰培養も実施し、嫌気性菌感染を含む呼吸器感染症の起炎菌検索についての両者の有用性を比較検討した。

B. 研究対象：

感染を伴った COPD 4症例、8検体、感染を伴った気管支拡張症6症例、10検体、肺炎4症例、5検体、肺膿瘍3症例、7検体、感染を伴った肺癌2症例、2検体、計19症例より採取した32検体を対象とした。

B. 研究方法：

患者に滅菌シャーレ内へ喀痰を喀出させた後、直ちに2.5 ml 注射器にて空気の混入をさけて吸引し、18 gauge の注射針をつけ嫌気ポーター内へ注入し、アナエロビクチェンバー内へ移した。チェンバー内では Fig. 8 のように嫌気ポーター内の喀痰を2等分し、一方を2% acetyl-cysteine を等量添加後、37°Cにて30分間攪拌し、均質化した後、10倍希釈系列をつくり、これを培地に1白金(one loop=0.01 ml)ずつ塗布し、1 ml 当りの好気性菌および嫌気性菌の菌数を定量し、他の一方については III. に記載した方法によって洗痰培養を実施した。培地として好気培養には5%家兎血液加 HIA (日水)、マッコンキー(栄研)、スタヒロコッカス #110 (栄研)、カンジダ GS (栄研) 培地を、嫌気培養には GAM 寒天(日水)、Kanamycin-Vancomycin 加 GAM 寒天、バクテロイデス(日水)、変法 FM (日水)、Kanamycin-Vancomycin 加 Brucella 溶血血液寒天(BBL)培地を用いた。

C. 研究成績：

非洗痰喀痰と洗痰喀痰の培養成績ならびに定量培養による喀痰中の菌数は Table 12 に示したとおりである。表では洗痰培養で起炎菌と推定した菌ならびに定量培養で 10^7 /ml 以上を示した菌をアンダーラインで表示した。定量培養で 10^7 /ml 以上を示した好気性菌は症例1化療前の *H. influenzae*, γ -hemolytic streptococcus, 2回目化療前の *H. influenzae*, *Neisseria*, 化療後の *Neisseria*, 症例2化療前の α -hemolytic streptococcus, 化療中の *P. aeruginosa*, 症例3の *K. pneumoniae*, 症例4化療前の *Neisseria*, 化療後の *Neisseria*, 症例5化療前の *H. influenzae*, *Neisseria*, 症例6化療前の *P. aeruginosa*, 症例7化療前の γ -hemolytic streptococcus, 症例8の *S. pneumoniae*, *H. parainfluenzae*, *Neisseria*, 症例9の *P. aeruginosa*, 症例10化療前の *P. aeruginosa*, 化療中の *P. aeruginosa*, 症例11の *S. aureus*, 症例12の *S. aureus*, 症例13の α -hemolytic streptococcus, 症例15化療中の α -hemolytic streptococcus, 化療後の *Enterobacter*, 症例17化療中の *Neisseria*, 2回目化療中の *Neisseria*, 症例18化療前1回目の

Table 12-1 "Sputum Washing" and quantitative culture method

			Not washed	Washed	Quantitative culture
1	Before treatment	P	γ -hemolytic streptococcus +++ <i>H. influenzae</i> +++ α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>Neisseria</i> + <i>E. coli</i> $\pm$	<i>H. influenzae</i> +++ <i>Neisseria</i> $\pm$	<i>H. influenzae</i> 10 ⁸ <u>γ-hemolytic streptococcus</u> 10 ⁸
		Anaerobes	<i>Peptostreptococcus</i> + <i>Veillonella</i> + <i>Bacteroides</i> 1 $\pm$ 2 $\pm$	<i>Peptostreptococcus</i> $\pm$ <i>Veillonella</i> $\pm$	<i>Veillonella</i> 10 ⁵ <i>Peptostreptococcus</i> 10 ⁴
	Before treatment	P	<i>H. influenzae</i> ++ <i>Neisseria</i> + γ -hemolytic streptococcus $\pm$	<i>H. influenzae</i> ++ α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>Neisseria</i> $\pm$ <i>C. albicans</i> $\pm$	<i>H. influenzae</i> 10 ⁹ <u><i>Neisseria</i></u> 10 ⁷
		Anaerobes	<i>Veillonella</i> ++ <i>B. melaninogenicus</i> + GNR + <i>Clostridium</i> $\pm$	GNR $\pm$	<i>Veillonella</i> 10 ⁷ <i>B. melaninogenicus</i> 10 ³
	Under treatment	P	<i>Neisseria</i> + α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>H. influenzae</i> $\pm$ <i>P. aeruginosa</i> $\pm$	α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>Neisseria</i> $\pm$	<i>Neisseria</i> 10 ⁷ <i>H. influenzae</i> 10 ⁶ <i>P. aeruginosa</i> 10 ³
		Anaerobes	<i>Bacteroides</i> ++ <i>Fusobacterium</i> $\pm$	<i>Bacteroides</i> $\pm$	10 ³ ↓
2	Before treatment	P	α -hemolytic streptococcus +++ γ -hemolytic streptococcus +++ <i>Pseudomonas</i> group ++ <i>Serratia</i> ++ <i>P. aeruginosa</i> + <i>C. albicans</i> $\pm$	α -hemolytic streptococcus +++ <i>H. parainfluenzae</i> + <i>K. pneumoniae</i> + <i>Serratia</i> +	α -hemolytic streptococcus 10 ⁸ <i>P. aeruginosa</i> 10 ⁴ <i>Serratia</i> 10 ⁴ <i>C. albicans</i> 10 ³
		Anaerobes	<i>Propionibacterium</i> + GPR + <i>Veillonella</i> + <i>Bacteroides</i> + <i>Fusobacterium</i> +	<i>Bacteroides</i> + <i>Veillonella</i> $\pm$ <i>Fusobacterium</i> $\pm$	<i>Bacteroides</i> 10 ⁵ <i>Fusobacterium</i> 10 ⁵ <i>Peptococcus</i> 10 ⁴ <i>Veillonella</i> 10 ⁴
	Under treatment	P	<i>P. aeruginosa</i> +++	<i>P. aeruginosa</i> +++	<i>P. aeruginosa</i> 10 ⁸
		Anaerobes	<i>Propionibacterium</i> $\pm$ <i>Veillonella</i> $\pm$	—	<i>Veillonella</i> 10 ⁶
	Before treatment	P	<i>K. pneumoniae</i> ++ <i>C. albicans</i> $\pm$	<i>K. pneumoniae</i> ++	<i>K. pneumoniae</i> 10 ⁸ <i>C. albicans</i> 10 ³
		Anaerobes	<i>Veillonella</i> + <i>Bacteroides</i> + <i>Peptococcus</i> $\pm$	<i>Veillonella</i> $\pm$ <i>Bacteroides</i> $\pm$	<i>Bacteroides</i> 10 ⁶ <i>Veillonella</i> 10 ⁴

Table 12-2 "Sputum Washing" and quantitative culture method

				Not washed	Washed	Quantitative culture	
4	Infected COPD	Before treatment	M	Aerobes	<i>Neisseria</i> +++ <i>S. epidermidis</i> + <i>H. influenzae</i> + <i>C. albicans</i> + α -hemolytic streptococcus $\pm$	<i>Neisseria</i> + <i>H. influenzae</i> +	<i>Neisseria</i> 10 ⁸ <i>H. influenzae</i> 10 ⁵ <i>S. epidermidis</i> 10 ⁴ <i>C. albicans</i> 10 ³
				Anaerobes	GPR + <i>Veillonella</i> + <i>B. melaninogenicus</i> + <i>Fusobacterium</i> + <i>Bacteroides</i> $\pm$	GPR $\pm$ <i>B. melaninogenicus</i> $\pm$ <i>Fusobacterium</i> $\pm$	<i>B. melaninogenicus</i> 10 ⁴ GPR 10 ³ <i>Fusobacterium</i> 10 ³
		after treatment	M	Aerobes	<i>Neisseria</i> +++ α -hemolytic streptococcus + <i>S. epidermidis</i> $\pm$ <i>C. albicans</i> $\pm$	<i>Neisseria</i> +	<i>Neisseria</i> 10 ⁸ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴
				Anaerobes	GPR + <i>B. melaninogenicus</i> + <i>Veillonella</i> $\pm$	—	GPR 10 ⁴ <i>B. melaninogenicus</i> 10 ⁴
5	Infected bronchiectasis	Before treatment	P	Aerobes	<i>H. influenzae</i> +++ <i>Neisseria</i> + α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>P. aeruginosa</i> $\pm$	<i>H. influenzae</i> +++ <i>Neisseria</i> $\pm$	<i>H. influenzae</i> 10 ⁹ <i>Neisseria</i> 10 ⁷ <i>P. aeruginosa</i> 10 ⁵
				Anaerobes	<i>Fusobacterium</i> + GNR + <i>Peptococcus</i> $\pm$ <i>Propionibacterium</i> $\pm$	—	<i>Fusobacterium</i> 10 ⁵ <i>Propionibacterium</i> 10 ⁴
		Under treatment	P M	Aerobes	α -hemolytic streptococcus $\pm$ γ -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>Neisseria</i> $\pm$	γ -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>Micrococcus</i> $\pm$	α -hemolytic streptococcus 10 ⁵ <i>Neisseria</i> 10 ⁴
				Anaerobes	—	—	10 ² ↓
6	Infected	Before treatment	P	Aerobes	<i>P. aeruginosa</i> +++ α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>S. epidermidis</i> $\pm$ <i>Micrococcus</i> $\pm$ <i>Lactobacillus</i> $\pm$ <i>C. albicans</i> $\pm$	<i>P. aeruginosa</i> +++	<i>P. aeruginosa</i> 10 ³ <i>S. epidermidis</i> 10 ³ <i>C. albicans</i> 10 ³
				Anaerobes	<i>Veillonella</i> $\pm$ <i>B. melaninogenicus</i> $\pm$ <i>Bacteroides</i> $\pm$ <i>Fusobacterium</i> $\pm$	—	<i>Veillonella</i> 10 ⁵ <i>Bacteroides</i> 10 ⁴ <i>B. melaninogenicus</i> 10 ³
		Under treatment	P	Aerobes	<i>P. aeruginosa</i> ++ <i>Candida</i> +	<i>P. aeruginosa</i> + <i>Candida</i> $\pm$	<i>P. aeruginosa</i> 10 ⁴ <i>Candida</i> 10 ³
				Anaerobes	<i>Veillonella</i> + GPR $\pm$	<i>Veillonella</i> $\pm$	<i>Veillonella</i> 10 ⁴ GPR 10 ⁴

Table 12-3 "Sputum Washing" and quantitative culture method

				Not washed	Washed	Quantitative culture
7	Before treatment	P	Aerobes	γ -hemolytic streptococcus +++ α -hemolytic streptococcus + <i>S. aureus</i> + <i>H. parainfluenzae</i> + <i>E. coli</i> +	γ -hemolytic streptococcus + <i>E. coli</i> + α -hemolytic streptococcus $\pm$	γ -hemolytic streptococcus 10^9 <i>E. coli</i> 10^6 <i>S. aureus</i> 10^5 <i>K. pneumoniae</i> 10^5
			Anaerobes	<i>Peptostreptococcus</i> <i>Propionibacterium</i> + <i>B. melaninogenicus</i> + <i>Fusobacterium</i> + <i>Veillonella</i> $\pm$	<i>B. melaninogenicus</i> $\pm$ <i>Fusobacterium</i> $\pm$	<i>Propionibacterium</i> 10^5 <i>B. melaninogenicus</i> 10^5 <i>Fusobacterium</i> 10^5 GPR 10^4
	Under treatment	M	Aerobes	<i>Neisseria</i> $\pm$ <i>H. parainfluenzae</i> $\pm$ <i>H. parahaemolyticus</i> $\pm$	<i>Neisseria</i> $\pm$ <i>H. parainfluenzae</i> $\pm$ <i>H. parahaemolyticus</i> $\pm$	<i>H. parainfluenzae</i> 10^3
			Anaerobes	—	—	$10^3 \downarrow$
8	Before treatment	P	Aerobes	<i>S. pneumoniae</i> +++ <i>S. epidermidis</i> $\pm$ <i>Corynebacterium</i> ++ <i>Neisseria</i> ++ <i>H. parainfluenzae</i> ++ <i>C. albicans</i> $\pm$	α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>Neisseria</i> $\pm$	<i>Streptoc. pneumoniae</i> 10^8 <i>H. parainfluenzae</i> 10^7 <i>Neisseria</i> 10^7 <i>S. epidermidis</i> 10^4
			Anaerobes	<i>Peptococcus</i> + <i>Propionibacterium</i> + <i>B. melaninogenicus</i> + <i>Fusobacterium</i> +	<i>B. melaninogenicus</i> $\pm$ <i>Fusobacterium</i> $\pm$	<i>Fusobacterium</i> 10^5 <i>Propionibacterium</i> 10^4 <i>B. melaninogenicus</i> 10^4
9	Before treatment	P	Aerobes	<i>P. aeruginosa</i> ++ α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>K. pneumoniae</i> $\pm$ <i>C. albicans</i> +	<i>P. aeruginosa</i> ++ <i>K. pneumoniae</i> $\pm$ <i>C. albicans</i> $\pm$	<i>P. aeruginosa</i> 10^7 α -hemolytic streptococcus 10^6 <i>K. pneumoniae</i> 10^4 <i>C. albicans</i> 10^3
			Anaerobes	<i>Peptococcus</i> + <i>B. melaninogenicus</i> + <i>Bacteroides</i> + <i>Fusobacterium</i> + <i>Veillonella</i> $\pm$	<i>B. melaninogenicus</i> + <i>Bacteroides</i> +	<i>Veillonella</i> 10^5 <i>B. melaninogenicus</i> 10^5 <i>Bacteroides</i> 10^4 <i>Fusobacterium</i> 10^4
10	Before treatment	P	Aerobes	<i>P. aeruginosa</i> ++ <i>Neisseria</i> + α -hemolytic streptococcus $\pm$ γ -hemolytic streptococcus $\pm$	<i>P. aeruginosa</i> ++	<i>P. aeruginosa</i> 10^8 <i>Neisseria</i> 10^5 α -hemolytic streptococcus 10^4 γ -hemolytic streptococcus 10^4
			Anaerobes	<i>Veillonella</i> ++ <i>B. melaninogenicus</i> ++ <i>Bacteroides</i> + GPR $\pm$	<i>Veillonella</i> + <i>B. melaninogenicus</i> +	<i>Veillonella</i> 10^7 <i>B. melaninogenicus</i> 10^7 <i>Bacteroides</i> 10^6
	Under treatment	P	Aerobes	<i>P. aeruginosa</i> +	<i>P. aeruginosa</i> +	<i>P. aeruginosa</i> 10^7 <i>Neisseria</i> 10^3
			Anaerobes	GPR + <i>Veillonella</i> +	—	<i>Veillonella</i> 10^6 GPR 10^5

Table 12-4 "Sputum Washing" and quantitative culture method

			Not washed	Washed	Quantitative culture
11	Infected lung cancer	Before treatment	Aerobes α -hemolytic streptococcus +++ <i>S. aureus</i> ++ γ -hemolytic streptococcus + <i>Neisseria</i> + <i>Candida</i> $\pm$	—	<i>S. aureus</i> 10 ⁸ α -hemolytic streptococcus 10 ⁶ <i>Neisseria</i> 10 ⁶
		Anaerobes	GPR + <i>Bacteroides</i> + <i>Fusobacterium</i> +	<i>Bacteroides</i> ++ <i>Fusobacterium</i> +	<i>Bacteroides</i> 10 ⁷ <i>Fusobacterium</i> 10 ⁵
12		Before treatment	Aerobes <i>K. pneumoniae</i> +++ <i>C. albicans</i> +++ α -hemolytic streptococcus ++ <i>S. aureus</i> ++ γ -hemolytic streptococcus $\pm$	<i>S. aureus</i> ++ <i>C. albicans</i> +	<i>S. aureus</i> 10 ⁷ <i>K. pneumoniae</i> 10 ⁶ <i>C. albicans</i> 10 ⁶
		Anaerobes	<i>Peptostreptococcus</i> ++ <i>B. melaninogenicus</i> ++ <i>Veillonella</i> + GPR $\pm$	<i>B. melaninogenicus</i> ++ <i>Veillonella</i> $\pm$	<i>B. melaninogenicus</i> 10 ⁷ <i>Peptostreptococcus</i> 10 ⁶ <i>Veillonella</i> 10 ⁴
13		Before treatment	Aerobes α -hemolytic streptococcus +++ γ -hemolytic streptococcus + <i>Neisseria</i> + <i>H. parainfluenzae</i> +	α -hemolytic streptococcus +	α -hemolytic streptococcus 10 ⁷ <i>Neisseria</i> 10 ³
		Anaerobes	<i>B. melaninogenicus</i> +++ GPR +	<i>B. melaninogenicus</i> +++	<i>B. melaninogenicus</i> 10 ³ <i>Veillonella</i> 10 ⁴
14		Before treatment	Aerobes α -hemolytic streptococcus ++ <i>Neisseria</i> ++ γ -hemolytic streptococcus +	—	α -hemolytic streptococcus 10 ⁴ <i>Neisseria</i> 10 ⁴
		Anaerobes	<i>Veillonella</i> $\pm$ <i>Bacteroides</i> $\pm$	—	<i>Veillonella</i> 10 ⁶
15	Pneumonia	Under treatment	Aerobes α -hemolytic streptococcus +++ <i>Corynebacterium</i> + <i>Neisseria</i> + γ -hemolytic streptococcus $\pm$	α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>Corynebacterium</i> $\pm$ <i>Neisseria</i> $\pm$	α -hemolytic streptococcus 10 ⁷ <i>Neisseria</i> 10 ⁴
		Anaerobes	<i>Fusobacterium</i> + <i>Clostridium</i> $\pm$	—	GPR 10 ⁴ <i>Clostridium</i> 10 ⁴
		After treatment	Aerobes <i>K. pneumoniae</i> +++ <i>Enterobacter</i> +++ <i>Pseudomonas</i> group ++ <i>S. faecalis</i> + <i>C. albicans</i> +	<i>Neisseria</i> ++ <i>K. pneumoniae</i> ++ <i>C. albicans</i> $\pm$	<i>Enterobacter</i> 10 ⁷ <i>K. pneumoniae</i> 10 ⁶ <i>Pseudomonas</i> group 10 ⁵
		Anaerobes	<i>Peptococcus</i> + <i>Veillonella</i> + <i>Fusobacterium</i> + <i>Clostridium</i> +	<i>Clostridium</i> $\pm$	<i>Veillonella</i> 10 ⁴
16		Under treatment	Aerobes <i>Neisseria</i> ++ α -hemolytic streptococcus + <i>H. parainfluenzae</i> + <i>H. parahaemolyticus</i> + <i>C. albicans</i> $\pm$	<i>Neisseria</i> + α -hemolytic streptococcus $\pm$ <i>H. parainfluenzae</i> $\pm$ <i>H. parahaemolyticus</i> $\pm$	<i>Neisseria</i> 10 ⁶ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴
		Anaerobes	<i>B. melaninogenicus</i> + GNR +	—	<i>B. melaninogenicus</i> 10 ³ GNR 10 ³

Table 12-5 "Sputum Washing" and quantitative culture method

				Not washed	Washed	Quantitative culture
17	Before treatment	P	Aerobes	α -hemolytic streptococcus +++ <i>Corynebacterium</i> +++ <i>Neisseria</i> +++ <i>H. influenzae</i> +++ γ -hemolytic streptococcus ++	<i>H. influenzae</i> +++ α -hemolytic streptococcus + <i>Micrococcus</i> + <i>Neisseria</i> + <i>Corynebacterium</i> ±	<i>H. influenzae</i> 10 ⁶ γ -hemolytic streptococcus 10 ⁵ <i>Neisseria</i> 10 ⁵
			Anaerobes	<i>Propionibacterium</i> ± <i>Bacteroides</i> ± <i>Fusobacterium</i> ±	—	<i>Fusobacterium</i> 10 ⁴ <i>Propionibacterium</i> 10 ³
		M	Aerobes	<i>Neisseria</i> ++ α -hemolytic streptococcus + γ -hemolytic streptococcus + <i>C. albicans</i> ±	α -hemolytic streptococcus ± <i>Neisseria</i> ±	<i>Neisseria</i> 10 ⁷ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴ <i>C. albicans</i> 10 ³
			Anaerobes	<i>Peptococcus</i> + <i>Veillonella</i> +	<i>Veillonella</i> ±	<i>Propionibacterium</i> 10 ⁴ <i>Neisseria</i> 10 ³
		P	Aerobes	<i>Neisseria</i> ++ α -hemolytic streptococcus ± γ -hemolytic streptococcus ± <i>C. albicans</i> ±	—	<i>Neisseria</i> 10 ⁷ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴ γ -hemolytic streptococcus 10 ⁴
			Anaerobes	<i>Veillonella</i> ± <i>Bacteroides</i> ±	—	<i>Veillonella</i> 10 ⁵ <i>Bacteroides</i> 10 ⁵ <i>Propionibacterium</i> 10 ³
18	Lung abscess	P	Aerobes	<i>H. influenzae</i> ++ α -hemolytic streptococcus ± <i>Neisseria</i> ±	<i>H. influenzae</i> ++	<i>H. influenzae</i> 10 ⁷ <i>Neisseria</i> 10 ⁶ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴
			Anaerobes	<i>B. melaninogenicus</i> ++ <i>Bacteroides</i> + <i>Veillonella</i> ±	<i>B. melaninogenicus</i> + <i>Bacteroides</i> ±	<i>B. melaninogenicus</i> 10 ⁸ <i>Bacteroides</i> 10 ⁵ <i>Fusobacterium</i> 10 ⁵
		P	Aerobes	<i>Neisseria</i> ++ α -hemolytic streptococcus + γ -hemolytic streptococcus + <i>Micrococcus</i> ± <i>Corynebacterium</i> ± <i>C. albicans</i> ±	—	<i>Neisseria</i> 10 ⁶ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴ <i>P. aeruginosa</i> 10 ⁴ <i>C. albicans</i> 10 ³
			Anaerobes	<i>Bacteroides</i> + GNR +	—	<i>Bacteroides</i> 10 ⁴
		M	Aerobes	<i>Neisseria</i> ± α -hemolytic streptococcus ±	—	<i>Neisseria</i> 10 ⁴ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴
			Anaerobes	<i>Peptococcus</i> + <i>B. melaninogenicus</i> ± GPR ±	—	<i>B. melaninogenicus</i> 10 ⁴
	After treatment	M	Aerobes	<i>Neisseria</i> ± <i>H. parainfluenzae</i> ± <i>H. parahaemolyticus</i> ±	—	<i>Neisseria</i> 10 ⁴ <i>H. parainfluenzae</i> 10 ⁴
			Anaerobes	GPR ± <i>B. melaninogenicus</i> ±	—	10 ³ ↓
19	Before treatment	P	Aerobes	<i>Neisseria</i> ++ α -hemolytic streptococcus + γ -hemolytic streptococcus + <i>Micrococcus</i> ± <i>Corynebacterium</i> ± <i>C. albicans</i> ±	—	<i>Neisseria</i> 10 ⁶ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴ <i>P. aeruginosa</i> 10 ⁴ <i>C. albicans</i> 10 ³
			Anaerobes	<i>Bacteroides</i> + GNR +	—	<i>Bacteroides</i> 10 ⁴
		M	Aerobes	<i>Neisseria</i> ± α -hemolytic streptococcus ±	—	<i>Neisseria</i> 10 ⁴ α -hemolytic streptococcus 10 ⁴
			Anaerobes	<i>Peptococcus</i> + <i>B. melaninogenicus</i> ± GPR ±	—	<i>B. melaninogenicus</i> 10 ⁴
		M	Aerobes	<i>Neisseria</i> ± <i>H. parainfluenzae</i> ± <i>H. parahaemolyticus</i> ±	—	<i>Neisseria</i> 10 ⁴ <i>H. parainfluenzae</i> 10 ⁴
			Anaerobes	GPR ± <i>B. melaninogenicus</i> ±	—	10 ³ ↓

H. influenzae であり、そのうち起炎菌と推定されるのは病原性の強い菌種である症例1化療前の *H. influenzae*、化療前2回目の *H. influenzae*、症例2化療中の *P. aeruginosa*、症例3の *K. pneumoniae*、症例5化療前の *H. influenzae*、症例6化療前の *P. aeruginosa*、症例8の *S. pneumoniae*、症例9の *P. aeruginosa*、症例10化療前の *P. aeruginosa*、化療中の *P. aeruginosa*、症例11の *S. aureus*、症例12の *S. aureus*、症例15化療後の *Enterobacter*、症例18化療前1回目の *H. influenzae* であるが、これら14検体中10検体（症例1化療前1回目および2回目、症例2化療中、症例3、症例5化療前、症例6化療前、症例10化療前および化療中、症例12、症例18化療前1回目）では洗滌培養にても同一菌を起炎菌と推定した。症例8の *S. pneumoniae*、症例11の *S. aureus*、症例15化療後の *Enterobacter* は洗滌培養にて消失しており、症例9では洗滌培養により *P. aeruginosa* と *K. pneumoniae* が起炎菌と推定され、定量法と一致しなかった。一方、嫌気性菌についてみると4検体（症例1化療中、症例5化療中、症例7化療中、症例19化療後）を除いてすべて $10^3/\text{ml}$ 以上の嫌気性菌が1～4種分離され、このうち $10^7/\text{ml}$ 以上を示したものは症例1化療前2回目の *Veillonella*、症例10化療前の *Veillonella*、*B. melaninogenicus*、症例11の *Bacteroides*、症例12の *B. melaninogenicus*、症例13の *B. melaninogenicus*、症例18化療前1回目の *B. melaninogenicus* であり、このうち症例12の *B. melaninogenicus*、症例13の *B. melaninogenicus* では洗滌培養にても同一の嫌気性菌が起炎菌と推定されたが、症例1化療前2回目の *Veillonella*、症例10化療前の *Veillonella*、*B. melaninogenicus*、症例11の *Bacteroides*、症例18の化療前1回目の *B. melaninogenicus* では洗滌培養にて著減または消失しており、洗滌法では起炎菌と考えられなかった。

E. 小括ならびに考按：

洗滌培養と定量培養の両者を同時に実施した19症例32検体中、定量培養により $10^7/\text{ml}$ 以上の菌を検出したのは35菌種であった。このうち好気性菌については非病原菌を推定起炎菌より除外して考え、嫌気性菌については一応起炎菌と考えて、洗滌培養による推定起炎菌との合致性をみると、合致したものは8検体であり、洗滌培養で推定可能であったが定量培養では $10^7/\text{ml}$ 未満のため推定し得なかったものは6検体存在した。これを嫌気性菌だけについてみると、定量培養において $10^7/\text{ml}$ 以上の嫌気性菌を分離した6検体中3検体では洗滌培養成績からみても明らかに同菌による呼吸器感染症の存在が考えられ、嫌気性菌についても菌数 $10^7/\text{ml}$ 以上の成

績を無視し得ないことが判明した。しかし一方 $10^7/\text{ml}$ 以上の菌数を示したにもかかわらず、洗浄培養成績から、明らかに上気道、口腔内の混入常在菌と考えられる場合も3検体存在することが注目された。このように弱毒菌による opportunistic infection においては喀痰定量培養による呼吸器感染症の起炎菌決定は困難となり、特に上気道、口腔内に好気性菌より優位に存在する場合もある嫌気性菌については、その応用ははなはだ困難といわざるを得ないであろう。これに反して喀痰洗滌培養は菌種の如何に関係なく洗滌により混入常在菌を減少させ、起炎菌の推定を行なわんとする方法であり、嫌気性菌感染症においても価値の高いものといえよう。

V. 総括ならびに考按

呼吸器感染症における嫌気性菌の重要性が嫌気性菌の培養、同定の技術の進歩普及とともに強調されている。BARTLETT^{25,26)} は肺膿瘍26症例のうち24症例、92%に嫌気性菌を検出し、吸引性肺炎54症例のうち50症例、93%に嫌気性菌を検出している。FINEGOLD²⁷⁾ は45症例の肺膿瘍のうち58%では嫌気性菌を単独に、42%では好気性菌とともに検出し、吸引性肺炎では70症例中87%に嫌気性菌を検出している。SWENSON ら²⁸⁾ は院外発症の吸引性肺炎では24症例中21症例、88%に、また院内発症では23症例中8症例、35%に嫌気性菌を検出している。特に近年、肺癌その他の基礎疾患を有する患者の感染症が増加し、またこれら基礎疾患に対する抗腫瘍剤、ステロイド剤、免疫抑制剤などの投与により、宿主の感染防御力の低下した場合の opportunistic pathogen の一つとして嫌気性菌が注目されるようになってきた。このような opportunistic infection の予後改善のためには宿主の感染防御力向上を図るとともに確実、強力な化学療法が必要であり、その目的のために、起炎菌の把握が極めて重要と考えられる。

呼吸器感染症の起炎菌検索に際して、喀出喀痰を材料とすれば、上気道、口腔内の常在菌に汚染され、明確に起炎菌を推定することが困難な場合が少なくない。そこで上気道、口腔内の常在菌を避けようとの試みが種々工夫されていることは緒言にのべたとおりである。嫌気性菌は上気道、口腔内に特に多量に存在するといわれ、今回著者の実施した検索でも、健康人の咽頭より *Peptococcus* を25%に、*Peptostreptococcus* を5%に、*Propionibacterium* を45%に、*Veillonella* を45%に、*B. melaninogenicus* を5%に、*B. melaninogenicus* 以外の *Bacteroides* を55%に、*Fusobacterium* を10%に、*Clostridium* を10%に分離検出している。また呼吸器感染症患者の咽頭よりは *Peptococcus* を15%に、*Peptostreptococcus* を5%に、*Propionibacterium* を30

%に、*Veillonella* を45%に、*B. melaninogenicus* を55%に、*B. melaninogenicus* 以外の *Bacteroides* を45%に、*Fusobacterium* を25%に、*Clostridium* を5%に分離検出した。呼吸器感染症患者の咽頭分泌物から *B. melaninogenicus* がやや高率に分離されたことに関して、この中には *B. melaninogenicus* による呼吸器感染症が現存し、喀痰の喀出に際して喀痰中の起炎菌である *B. melaninogenicus* が咽頭に付着生存した場合も当然に考えられるが、咽頭より *B. melaninogenicus* を分離した11例中8例では喀痰洗滌培養あるいは *B. melaninogenicus* が抗菌スペクトラム外の抗生物質投与による治療効果などにより、*B. melaninogenicus* の感染を否定し、常在菌として *B. melaninogenicus* が存在していたものと考えられた。このように呼吸器感染症の起炎菌としてしばしば分離される *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Fusobacterium* が咽頭に存在することが認められた。また二宮ら¹⁶⁾は健康成人の唾液中の好気性菌は $10^2 \sim 10^7/\text{ml}$ であるのに対して、嫌気性菌は $10^7 \sim 10^{10}/\text{ml}$ とかなり多量に存在すること、R. J. GIBBONS²⁹⁾ もだ液中には平均 $1.1 \times 10^8/\text{ml}$ の嫌気性菌が存在すること、ROGASA³⁰⁾ はその中でも *Veillonella* が優位で平均 $3.3 \times 10^7/\text{ml}$ 存在していることをそれぞれ指摘している。したがって、喀出喀痰をそのまま嫌気培養して嫌気性菌を分離してもその菌種が病巣由来の真の起炎菌か単なる常在嫌気性菌かを判別することは好気性菌の場合にも増して困難であると考えられる。このような理由により、BARTLETT や FINEGOLD は嫌気性菌による呼吸器感染症の起炎菌検索に際して Transtracheal aspiration や経皮的肺穿刺の有用性を強調している^{15,27)}。しかしこれらの方法はいずれも患者の負担が大きく、反復して実施することが困難な場合もあり、また採痰量が僅少であるなどの問題もある。

患者に負担をかけず、反復して行なえる呼吸器感染症の起炎菌検索方法として喀出喀痰を材料とする種々の起炎菌推定方法が検討されており、その一つとして当教室では従来より喀痰洗滌培養法を実施している。その原理は深部気道より喀出される真の起炎菌は喀痰中心部に存在し、喀痰喀出に際して汚染混入した菌は喀痰周囲に付着するとの考えに基づいて、喀痰を洗滌することにより、周囲に付着した上気道、口腔内常在菌を洗い流そうとするものであり、喀痰の一部を洗滌して培養し、他の一部は洗滌せずに培養して両者の培養成績を比較し、洗滌により消失あるいは著減した菌種を上気道、口腔内常在菌とし、洗滌にても不変あるいはかえって増加した菌種を喀痰中心部の真の起炎菌と推定する方法であり、好気性菌による呼吸器感染症の起炎菌推定法として優れた

成績を取めている。この喀痰洗滌法を嫌気性起炎菌の検出にも応用できるかどうか本実験の主目的であるが、その予備実験として嫌気環境下での喀痰洗滌操作の嫌気性菌発育に及ぼす影響について検討した。*P. asaccharolyticus*, *V. alcalescens*, *B. fragilis*, *F. necrophorum*, *C. histolyticum*, *E. coli*, *S. aureus* それぞれの菌浮遊液について好気環境下および嫌気環境下での洗滌操作による生菌数の変動を検討した結果、好気性菌は好気、嫌気両環境における洗滌操作により生菌数はほとんど変化を示さない。また嫌気性菌では嫌気環境下での洗滌操作で生菌数の減少は1オーダー強にとどまるとの成績を得て、本法を嫌気性菌による呼吸器感染症の起炎菌検索に応用し得るものと判断した。

以上の予備実験成績を基にして実際の呼吸器感染症の喀出喀痰 84 検体について嫌気環境下洗滌培養法を実施した結果、化学療法実施前の患者より喀出された 54 検体中 36 検体 (66.7%) で、また化学療法実施中および実施後の患者より喀出された 30 検体中 13 検体 (43.3%) で起炎菌の推定が可能であった。化学療法実施中あるいは実施後に採痰した例では、その化学療法では、その化学療法が奏功していれば、喀痰中起炎菌は消失し、喀痰洗滌培養による起炎菌推定率が低いのは当然の結果と考えられる。このようにして嫌気環境下喀痰洗滌法により化学療法実施前の 54 検体で推定し得た起炎菌は好気性菌で *H. influenzae* 12 検体、*E. coli* 1 検体、*Klebsiella* 5 検体、*Enterobacter* 1 検体、*P. aeruginosa* 6 検体、*Klebsiella* + *Enterobacter* 1 検体、嫌気性菌で *Peptostreptococcus* 1 検体、*B. melaninogenicus* 2 検体、*B. melaninogenicus* 以外の *Bacteroides* 1 検体、*B. melaninogenicus* + *Fusobacterium* 2 検体、*Bacteroides* + *Fusobacterium* 1 検体、好気性菌と嫌気性菌では *S. aureus* + *B. melaninogenicus* 1 検体、*Klebsiella* + *Peptococcus* 1 検体、*Klebsiella* + *P. aeruginosa* + *B. melaninogenicus* + other *Bacteroides* 1 検体であり、54 検体中 10 検体、すなわち各種呼吸器感染症の 18.5% において嫌気性菌を単独もしくは好気性菌とともに起炎菌と推定した。

次にこれら推定可能であった 36 検体の喀痰を採取した患者に推定された起炎菌に対する適合抗生剤を投与し、症状の消長と推定起炎菌の消長の合致性の有無より起炎菌推定の正誤を retrospective に検討した結果、36 検体中 26 検体 (72.2%) において推定の正しさを確認でき、推定が正しくなかったと判断されたのは 36 検体中 3 検体 (8.3%) のみであり、嫌気環境下喀痰洗滌培養法が好気性菌の場合と同様、嫌気性菌による呼吸器感染症の起炎菌検索についても有用であることが立証され、

呼吸器感染症の起炎菌推定に嫌気環境下喀痰洗滌培養法が極めて有用であることが認められた。

患者に負担をかけない呼吸器感染症の起炎菌推定法として定量培養法も行なわれている。これは喀出喀痰を均質化後、定量培養を行ない、 $10^7/\text{ml}$ 以上に分離する病原性の強い菌を起炎菌とする方法である。二宮ら¹⁶⁾は慢性呼吸器感染症患者の喀出喀痰中の嫌気性菌について定量培養を行ない、喀痰に悪臭を伴う25例中21例において嫌気性菌を $10^7/\text{ml}$ 以上分離し、その分離菌の薬剤感受性に従って化学療法を実施して著効または症状の改善をみたことにより、 $10^7/\text{ml}$ 以上の嫌気性菌を喀出喀痰より分離した場合、病原的意義が高いことを指摘している。しかしこれは悪臭を伴う喀痰を喀出する嫌気性菌感染の濃厚な症例についての検討であり、嫌気性菌感染が存在しないと考えられる患者の喀出喀痰についての成績は報告されていない。したがって嫌気性菌による呼吸器感染症の存在する場合に喀痰中の起炎嫌気性菌が増加し、 $10^7/\text{ml}$ 以上を示すことは事実と考えられるが、健常人においても嫌気性菌が上気道・口腔内に好気性菌より多数常在することにより、嫌気性菌が起炎菌でない呼吸器感染症の喀出喀痰中にも嫌気性菌が $10^7/\text{ml}$ 以上混入する可能性があり、喀痰中の嫌気性菌菌数の多寡により起炎菌の推定を行なうことが困難ではないかと考えられた。そこで著者は各種呼吸器感染症19症例より採取した32検体の喀出喀痰について洗滌培養と定量培養を同時に実施し、 $10^7/\text{ml}$ 以上に嫌気性菌を分離した場合それを起炎菌と判断し得るか否かの検討を試みた。その結果、32検体中6検体において7種の嫌気性菌を $10^7/\text{ml}$ 以上に分離した。このうち3検体では洗滌培養によっても嫌気性菌が起炎菌と推定されたが、他の3検体では洗滌法により好気性の上気道、口腔内常在菌とともに著減もしくは消失し、明らかに常在嫌気性菌と考えられた。このように嫌気性菌による呼吸器感染症の存在する場合には、喀痰中嫌気性菌菌数が $10^7/\text{ml}$ 以上を示す例が多く認められたが、一方、上気道、口腔内に多数の嫌気性菌が常在することと関連して、嫌気性菌の関与しない呼吸器感染症患者の喀痰中にも $10^7/\text{ml}$ 以上の嫌気性菌を検出する場合も存在し、喀痰定量培養によって常在菌の混入か真の起炎菌かを判別し、正しく起炎菌を推定することが困難であると考えられた。

VI. 結 語

嫌気性菌を喀痰より分離し、それにより呼吸器感染症の起炎菌を決定することは上気道、口腔内に多種・多数の嫌気性菌が常在することとも相まって、好気性菌の場合より困難である。

著者は、従来、教室で行なっている喀痰洗滌培養法を

嫌気環境下に実施し、常在嫌気性菌を除去し、正しく起炎菌としての嫌気性菌を検出し得るか否かの検討を行ない、以下の結論を得た。

1) *Peptococcus*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*それぞれの菌浮遊液について嫌気環境下で喀痰洗滌法と同様の攪拌操作を加えても、生菌数の減少はごくわずかに止まる成績より、嫌気環境下での喀痰洗滌操作が嫌気性菌の分離検出にほとんど影響を及ぼさないことを確認した。

2) 健常人20名、呼吸器感染症患者20名の咽頭常在嫌気性菌について検索し、両者において*Peptococcus*, *Propionibacterium*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*などの無芽胞嫌気性菌を高率に分離し喀出喀痰をそのまま嫌気培養した場合、分離した嫌気性菌が起炎菌か混入常在菌かの判別は不可能であると考えられた。

3) 諸種呼吸器感染症患者の喀出喀痰84検体について嫌気環境下にて喀痰洗滌培養を実施し、化学療法実施前の54検体中36検体(66.7%)、化学療法実施中および実施後の30検体中13検体(43.3%)において起炎菌の推定が可能であった。上記36検体について抗生剤投与後の症状の変化と推定起炎菌の有無より推定の正誤を検討した結果、推定の誤認は8.3%と僅少であることが認められた。またこの36検体中10検体で嫌気性菌が単独もしくは好気性菌とともに起炎菌と推定され、嫌気環境下での喀痰洗滌培養を実施しなければ対象とした54検体中18.5%において嫌気性菌の関与を見落したことになる、嫌気環境下での喀痰洗滌培養の有用性を確認した。

4) 諸種呼吸器感染症患者の喀痰32検体について洗滌培養と定量培養を同時に実施し、両者の成績を比較した結果、弱毒菌とされる嫌気性菌の起炎菌検索としては定量培養より洗滌培養の方がより有用であるとの結論を得た。

謝辞：稿を終えるにあたり、終始ご懇篤な御指導と御校閲を賜った恩師、大阪市立大学医学部、塩田憲三名誉教授に深甚なる感謝の意を捧げます。また、種々の御教示、御助言を賜りました三木文雄博士に深謝し、御協力をいただいた久保研二博士ほか、化学療法研究グループ諸氏に感謝致します。さらに嫌気性菌の分与ならびに嫌気性菌検索について御教示をいただいた岐阜大学医学部上野一恵教授に深謝の意を表します。

文 献

- 1) PECOLA, D.: A method of securing uncontaminated tracheal secretion for bacterial examination. *J. Thorac. Surg.* 37: 653~654, 1959
- 2) LAPINSKI, E. M. et al.: An evaluation of some

- methods for culturing sputum from patients with bronchitis and emphysema. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 89: 760~763, 1964
- 3) KALINSKI, R. W. et al.: Diagnostic usefulness and safety of transtracheal aspiration. *New Engl. J. Med.* 276: 604~608, 1967
- 4) 福島孝吉, ほか: 抗生物質気管支内注入法による肺壞疽の治療。最新医学 6: 940~945, 1951
- 5) 谷本普一, ほか: 呼吸器感染症における問題点。最近医学 2: 289~294, 1975
- 6) PECOLA, D. & D. YAGIAN: Bacteriology of lower respiratory tract in health and chronic disease. *New Engl. J. Med.* 258: 71~74, 1958
- 7) LEE, A. & W. MCNAUGHT: Bacteriology of lower respiratory tract secretions, sputum and upper respiratory tract secretions in "normals" and chronic bronchitis. *Lancet* 2: 1112~1115, 1959
- 8) BARTLETT, J. G.: A fiberoptic bronchoscopy technique to obtain uncontaminated lower airway secretions for bacterial culture. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 119: 337~343, 1979
- 9) 中村 隆, ほか: 新しい気管支局所採痰法。日本医事新報 2295: 15~19, 1968
- 10) 松本慶蔵: 気管支局所採痰法, 喀痰内細菌叢の定量培養法, 2: 311~317, 1975
- 11) BANDT, P. D. et al.: Needle diagnosis of pneumonitis. *J. Am. Med. Assoc.* 220: 1578~1580, 1972
- 12) 三木文雄: 喀痰の洗滌培養, 臨床検査, 16: 235~242, 1972
- 13) 羽田 同: 呼吸器感染症の起炎菌決定における喀痰洗滌培養法に関する研究補遺。感染症学雑誌 49: 187~224, 1975
- 14) SOCRANSKY, S. S. & S. D. MANGANULLO: The oral microbiota of man from birth to senility. *J. Periodontology* 42: 485~494, 1971
- 15) BARTLETT, J. G. et al.: Percutaneous transtracheal aspiration in the diagnosis of anaerobic pulmonary. *Infection* 79: 535~540, 1973
- 16) 二宮敬宇, 上野一恵, ほか: 呼吸器常在細菌叢。臨床と細菌 2: 275~282, 1975
- 17) 渡辺 泉, ほか: 嫌気性菌輸送用容器の検討。臨床検査 22: 1127~1131, 1978
- 18) 岐阜大学医学部微生物学教室編: 臨床嫌気性細菌学, 岐阜大学医学部微生物学教室, 1978
- 19) COWAN, S. T.: Manual for the identification on medical bacteria. Cambridge University Press, England, 1974
- 20) RAULINS, G. A.: Use of a pancreatin-trypsin solution for the liquefaction of sputum for routine bacteriological examination. *J. Clinical Pathology.* 21: 531~532, 1968
- 21) PIRTLE, J. K. et al.: Diagnostic and therapeutic advantages of serial quantitative cultures of fresh sputum in acute pneumonia. *Am. Rev. Resp. Dis.* 100: 831~838, 1969
- 22) 松本慶蔵: 喀痰内細菌叢定量培養法, 日胸疾会誌 16: 77~89, 1978
- 23) BARTLETT, J. G. & S. M. FINEGOLD: Improved technique to process coughed sputum for culture. *J. Clinical Research* 19: 183, 1971
- 24) BARTLETT, J. G. S. M. FINEGOLD: Bacteriology of expectrated sputum with quantitative culture and wash technique compared to transtracheal aspirates. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 117: 1019~1027, 1978
- 25) BARTLETT, J. G. et al.: Bacteriology and treatment of primary lung abscess. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 109: 510~517, 1974
- 26) BARTLETT, J. G.: The bacteriology of aspiration pneumonia. *Amer. J. Med.* 56: 202~207, 1974
- 27) FINEGOLD, S. M.: Anaerobic bacteria in human disease, Academic Press, New York, 1977
- 28) SWENSON, R. M. et al.: Bacteriology of aspiration pneumonia. *Ann. Inter. Med.* 81: 329~331, 1974
- 29) GIBBONS, R. J.: Aspects of the pathogenicity and ecology of the indigenous oral flora of man, In "Anaerobic Bacteria: Role in Disease", Chapter XXI. Thomas, Springfield, Illinois, 1974
- 30) ROGOSA, M.: A selective medium for the isolation and enumeration of the *Veillonella* from the oral cavity. *J. Bacteriology* 12: 535~536, 1956

DETERMINATION OF CAUSATIVE BACTERIA IN RESPIRATORY TRACT INFECTION BY "SPUTUM WASHING IN AN ANAEROBIC CHAMBER"

MASAKAZU KOHNO

The First Dept. of Internal Medicine, Osaka City University Medical School

The determination of causative bacteria in respiratory tract infection is difficult because of contamination with normal flora in the oral cavity and/or upper respiratory tract. We studied if "sputum washing in an anaerobic chamber" was useful for determination of causatives in anaerobic respiratory tract infections and obtained the following results.

1) Non-spore forming anaerobic bacteria such as *Peptococcus*, *Propionibacterium*, *Veillonella*, *Fusobacterium* and *Bacteroides* were isolated at high rate from throat swab in both healthy volunteers and patients with respiratory tract infection and we confirmed that anaerobic culture of expectorated sputum was useless for determination.

2) We applied the same procedure as sputum washing to suspension of anaerobic bacteria such as *Peptococcus*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* and *Clostridium* in an anaerobic chamber. We observed very small decrease of viable cell counts.

3) We determined the causatives of various respiratory tract infection by washing expectorated sputum in an anaerobic chamber. Thus the causatives were determined in 36 of 54 samples obtained before chemotherapy and anaerobic bacteria was observed as causatives in 13 of 36 samples obtained before chemotherapy.

4) We compared the results of determination of causatives by washing in an anaerobic chamber with those by quantitative culture method and found that the former was more useful than the latter for determination of causatives in anaerobic respiratory tract infections.

From the above results we recommend "sputum washing in an anaerobic chamber" as one of useful method for determination of causatives of respiratory tract infection due to anaerobic bacteria.