

Enterococcus faecalis の病原性に関する研究

—無処置および糖尿病マウスにおける尿路感染実験—

川 端 岳・荒川 創一・守殿 貞夫

神戸大学医学部泌尿器科学教室*

(主任：守殿貞夫教授)

(昭和63年4月14日受付)

臨床分離 *Enterococcus faecalis* (以下 *E. faecalis*) の無処置および糖尿病マウス尿路に対する病原性につき実験的に検討した。その結果は以下の通りである。

(1) 臨床分離 *E. faecalis* 23 株に対し、MIC 上は新しく開発されたピリドンカルボン酸剤 (CPFX, OFLX, ENX, NFLX) の抗菌力が最も強く、ST, MINO, ABPC, IPM/CS がそれに続いた。セフェム剤に対してはほとんど全株が高度耐性を示した。

(2) 無処置マウスにおいて被験 11 株中 9 株の *E. faecalis* が上行性腎盂腎炎を惹起し、対照グラム陰性菌 4 株の ID₅₀ 値と近似した値が得られた。

(3) Streptozotocin 投与により作製された糖尿病マウスにおいては被験 5 株全株が上行性腎盂腎炎を惹起し、無処置マウスの ID₅₀ と比べて 1/477~1/1.3 の値を示した。

(4) 無処置マウスでの *E. faecalis* 上行性腎盂腎炎治療実験では CPFX が最も良好な治療効果を示し、以下 OFLX, MINO, ENX の順であった。

(5) 糖尿病マウスでの上行性腎盂腎炎治療実験においては ABPC が最も優れた効果を示し、以下 CPFX, MINO, ENX の順であった。また無処置マウスと同様の治療効果を得るにはより長い投薬期間が必要であった。

Key words: *Enterococcus faecalis*, 病原性, 上行性腎盂腎炎, 糖尿病マウス, 薬効

尿路感染症患者の尿中分離菌の頻度は年々変化しており、1970 年代には従来より弱毒菌と考えられていたもしくはその病原性の明らかではなかった *Pseudomonas aeruginosa* に代表されるブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌や *Serratia* などの増加が問題となり、近年では *Enterococcus faecalis* (以下 *E. faecalis*) の分離頻度の増加が神戸大学医学部附属病院泌尿器科をはじめとし各施設において認められている。これらの細菌はいわゆる opportunistic pathogen と呼ばれているものがほとんどで、多くは複雑性尿路感染より分離される。*E. faecalis* は現在臨床上頻繁に使用されているセフェム系薬剤に耐性であることから、治療学上問題となりつつある。しかし、本菌の病原性に関する報告は少なく動物を用いた尿路感染実験モデルによる検討はほとんど行われていない。今回著者らは、1) 臨床分離 *E. faecalis* に対する各種抗菌剤の MIC, 2) 無処置マウスにおける *E. faecalis* 膀胱内接種後の実験的腎盂腎炎の成否, 3)

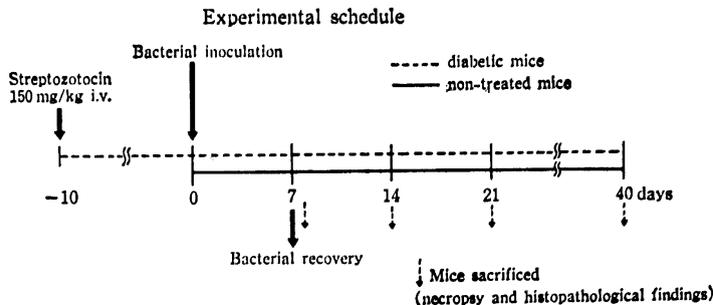
compromised host モデルとして実験的に作製した糖尿病マウスにおける *E. faecalis* による上行性腎盂腎炎の成否、および 4) 上記感染実験系における各種抗菌剤治療効果を検討することにより、本菌の病原性、抗菌剤に対する感受性および *in vivo* 治療効果につき考察し、興味ある知見を得たので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 臨床分離 *E. faecalis* に対する各種抗菌剤の MIC 測定

ヒト尿路感染症由来 *E. faecalis* 23 株を用いて各種抗菌剤の MIC を測定した。方法は日本化学療法学会標準法¹⁾に従い、倍数希釈濃度の薬剤を含有する Müller-Hinton 寒天培地 (Difco) にマイクロプランター (佐久間製作所) を用いて 10⁶ CFU/ml の菌液を接種し測定した。被験抗菌剤は、ampicillin (ABPC), cefaclor (CCL), cefmenoxime (CMX), latamoxef (LMOX), ceftazidime (CAZ), imipenem/cilastatin sodium (IPM/CS),

* 神戸市中央区楠町 7-5-1



Experimental conditions

Animal: Jcl-ICR female mice, 7 week-old, weighing 23~27g

Organisms: *Enterococcus faecalis* and four standard organisms (clinical isolates)

Inoculation: 0.1 ml of bacterial suspension ($10^4 \sim 10^9$ CFU/ml) was inoculated transurethraally into the bladder

Bacterial recovery: on day 7

Necropsy and histopathological findings: on days 7, 14, 21 and 40.

Fig. 1. Pathogenicity of *E. faecalis* on urinary tract in mice

floxof sodium (FMOX), gentamicin (GM), minocycline (MINO), sulfamethoxazole-trimethoprim (ST), pipemidic acid (PPA), norfloxacin (NFLX), ofloxacin (OFLX), enoxacin (ENX) および ciprofloxacin (CPFX) の計 15 種である。

2. マウス感染実験

1) 実験動物

(i) Jcl-ICR 系マウス (雌性, 7 週齢, 体重 23~27g, 静岡実験動物農業協同組合) を実験動物として使用した。

(ii) 実験的糖尿病マウスの作製

Streptozotocin (Sigma Chemical) 150 mg/kg をマウス尾静脈内投与し, 経日的に血糖を測定し, 高血糖状態で安定した時点で糖尿病マウスとして使用することとした。

2) 感染実験-上行性腎盂腎炎

(i) 無処置マウス (Fig. 1)

E. faecalis 569, 612, 617, 622, 687, 6009, 6321, 6322, 6325, 6486 および 16148 (数値は当科での菌株整理番号を示す) の計 11 株を被験菌株とし, 対照菌株として *E. coli* P-5101, *C. freundii* 53, *S. marcescens* S-9 および *P. aeruginosa* No. 12 の計 4 株を用いた。接種菌液は 10 倍希釈系列で $10^4 \sim 10^9$ CFU/ml に調製された。懸濁液には trypto soy broth (栄研) を用いた。

マウスを pentobarbital-Na (25~50 mg/kg, 尾静脈より注入) により麻酔後, 21 G 鈍針つき 1 ml 注射筒にて上記菌懸濁液 ($10^4 \sim 10^9$ CFU/ml) 0.1 ml を経尿道的に膀胱内に注入し, 外尿道口を 5 時間クランプした。なお, この操作の前に, 膀胱を腹壁より圧迫し, 排尿さ

せ膀胱を空虚な状態とした。菌接種までは自由に飲水させ, 外尿道口クランプの間のみ絶水とした。菌回収は菌接種 7 日後にマウスを頸椎脱臼法により屠殺し, 腎および膀胱を無菌的に摘出し, その断面を CLED 寒天培地上にスタンブし, 37°C 下 24 時間培養後のコロニー形成の有無を観察し, 接種菌量と菌回収の有無の関係から各菌株の ID_{50} (50% 感染菌量) 値を probit 法²⁾ により算定した。なお, 各菌株とも接種菌量ごとに 5 匹のマウスを実験に用いた。また菌接種 7 日, 14 日, 21 日および 40 日目の腎および膀胱の肉眼的および病理組織学的検索を行なった。病理組織標本は摘出腎および膀胱を 10% ホルマリン液で固定, パラフィン包埋, 薄切後, H. E. (hematoxylin-eosin) 染色を型のごとく施行し, 作製された。

(ii) 糖尿病マウス (Fig. 1)

被験菌株は *E. faecalis* 569, 6009, 6322, 6325 および 16148 の計 5 株, 対照菌株として無処置マウスでの実験と同一の 4 菌株を用いた。前述の方法で作製した実験的糖尿病マウスを用い, streptozotocin 静注後 10 日目に無処置マウスと同様の方法で膀胱内へ菌を接種し, 7 日目に屠殺し, ID_{50} 値を算出した。病理組織学的検索も同様に施行した。

3) 感染治療実験

接種菌株は上記上行性腎盂腎炎作製実験において最も ID_{50} 値が低く病原性が強いと考えられた *E. faecalis* 16148 とした。

(i) 無処置マウス上行性腎盂腎炎治療実験 (Fig. 2)

被験薬剤は, ABPC, CCL, MINO, ST, NFLX, OFLX, ENX および CPFX の計 8 種で, すべて経口

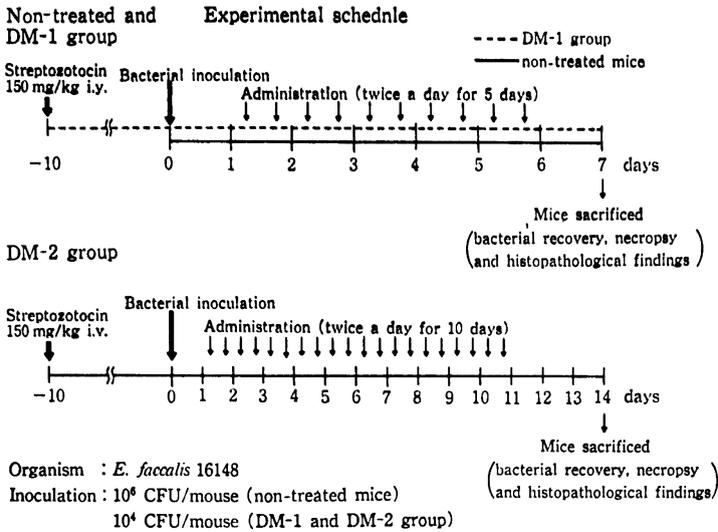


Fig. 2. Drug efficacy against *E. faecalis* induced urinary tract infection in non-treated and diabetic mice

投与とした。接種菌量は 10^8 CFU/mouse であり、薬剤は菌接種 24 時間後より 1 日 2 回 5 日間投与した。菌接種後 7 日目にマウスを屠殺し、投薬量と菌回収の有無の関係から probit 法により ED_{50} (50% 有効用量) 値を算定した。

(ii) 糖尿病マウス上行性腎盂腎炎治療実験 (Fig. 2) 接種菌量は 10^4 CFU/mouse とし、薬剤投与方法は、1 日 2 回 5 日間投与 (以下 DM-1 群) と、1 日 2 回 10 日間投与 (以下 DM-2 群) の 2 群で検討した。投与薬剤は DM-1 群で、ABPC, CCL, OFLX, ENX, CPFX の 5 種とし、DM-2 群では無処置マウス (以下 N 群) と

同一の 8 種の薬剤を用いた。DM-1 群では菌接種 7 日目、DM-2 群では 14 日目にマウスを屠殺し、 ED_{50} 値を算定した。

上記感染治療実験系においても病理組織学的検討を行った。N 群、DM-1 群および DM-2 群とも上述のそれぞれの接種菌量により 100% のマウスに上行性腎盂腎炎が惹起されることが確認されている。

II. 結果

1. *E. faecalis* に対する各種抗菌剤の MIC 分布
臨床分離 *E. faecalis* 23 株に対する ABPC および IPM/CS (Table 1) の MIC のピークはともに $1.56 \mu\text{g/l}$

Table 1. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* (23 strains)

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)													Total
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
ABPC					7	13	1					2		23
IPM +CS					7	13	1						2	23

Table 2. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* (23 strains)

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)													Total
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
CCL											17	4	2	23
CMX										1		1	21	23
LMOX													23	23
CAZ													23	23
FMOX											19	4	23	23

Table 3. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* (23 strains)

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)													Total
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
PPA											1	18	4	23
NFLX						3	17	3						23
OFLX					1	13	9							23
ENX						1	10	12						23
CPFX				3	16	4								23

Table 4. Sensitivity distribution of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* (23 strains)

Drug	MIC ($\mu\text{g/ml}$)													Total
	≤ 0.05	0.1	0.2	0.39	0.78	1.56	3.13	6.25	12.5	25	50	100	>100	
GM							4	12	4			3		23
MINO		4						1	18					23
ST		14	5					2		2				23

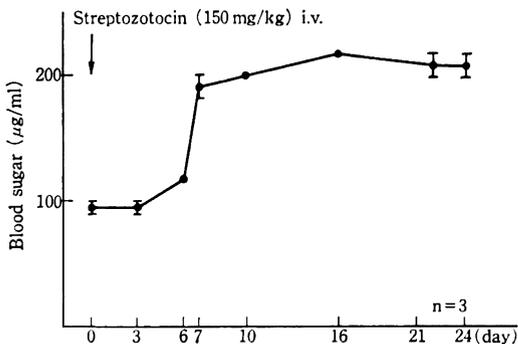


Fig. 3. Changes in blood glucose levels after injection of streptozotocin in mice

ml にあり ABPC では 100 $\mu\text{g/ml}$ の耐性株が 2 株みられ、IPM/CS では感受性側では ABPC と近似した分布を示したが、100 $\mu\text{g/ml}$ を超える高度耐性株が 2 株認められた。セフェム剤 (Table 2) では CCL, CMX および FMOX で一部 25~100 $\mu\text{g/ml}$ の菌株がみられたが全般に 100 $\mu\text{g/ml}$ を超える高度耐性株が大多数を占めており、LMOX, CAZ では全株高度耐性を示した。ピリドンカルボン酸剤 (Table 3) の MIC 分布をみると、PPA では全株 50 $\mu\text{g/ml}$ 以上に分布し、中等度ないし高度耐性であったが、ENX, NFLX, OFLX および CPFX では全株 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 以下に分布していた。これら 4 種のうち CPFX が最も優れ、OFLX は一管劣り、NFLX および ENX はさらに一管劣っていた。その他の 3 種抗菌剤 (Table 4) のうち GM は 6.25 $\mu\text{g/ml}$ にピークを有し、100 $\mu\text{g/ml}$ の耐性株が 3 株認められ、MINO では 12.5 $\mu\text{g/ml}$ にピークを有し、0.1 $\mu\text{g/ml}$ の高度感受性株が 4 株認められた。ST では MIC のピー

Organism	ID ₅₀ (CFU/mouse)							
	Kidney				Bladder			
	10 ⁷	10 ⁵	10 ²	10 ¹	10 ⁷	10 ⁵	10 ²	10 ¹
<i>E. faecalis</i> 569	5.0 × 10 ⁴				5.0 × 10 ⁴			
<i>E. faecalis</i> 612	2.6 × 10 ⁶				1.3 × 10 ⁷			
<i>E. faecalis</i> 622	7.1 × 10 ⁴				4.7 × 10 ⁴			
<i>E. faecalis</i> 617	1.8 × 10 ⁶				1.8 × 10 ⁶			
<i>E. faecalis</i> 687	>10 ⁸				>10 ⁸			
<i>E. faecalis</i> 6009	8.8 × 10 ⁵				8.8 × 10 ⁵			
<i>E. faecalis</i> 6321	3.2 × 10 ⁶				4.9 × 10 ⁶			
<i>E. faecalis</i> 6322	>10 ⁸				>10 ⁸			
<i>E. faecalis</i> 6325	10 ⁵				10 ⁵			
<i>E. faecalis</i> 6486	3.6 × 10 ⁷				7.4 × 10 ⁷			
<i>E. faecalis</i> 16148	2.1 × 10 ⁴				2.1 × 10 ⁴			
<i>E. coli</i> P-5101	2.9 × 10 ⁶				9.1 × 10 ⁵			
<i>C. freundii</i> 53	2.5 × 10 ⁴				9.9 × 10 ⁴			
<i>S. marcescens</i> S-9	6.9 × 10 ⁵				7.1 × 10 ⁵			
<i>P. aeruginosa</i> No.12	3.1 × 10 ⁴				5.8 × 10 ⁴			

Fig. 4. Infectivity of *E. faecalis* and four standard organisms in urinary tract infections in non-treated mice. (ID₅₀: 7 days after bacterial inoculation)

クは 0.1 $\mu\text{g/ml}$ にあり、全般に良好な感受性を示したが、25 $\mu\text{g/ml}$ の中等度耐性株が 2 株認められた。

2. マウス感染実験

1) 実験的糖尿病マウスの血糖値 (Fig. 3)

Streptozotocin 投与前のマウス血糖値 95 ± 5 mg/dl に対し、投与後の血糖値は 10 日目まで 200 ± 10 mg/dl と有意に高値となり、同値が 14 日間以上持続した。

2) 上行性腎盂腎炎

(i) 無処置マウス

(1) ID₅₀ 値 (Fig. 4)

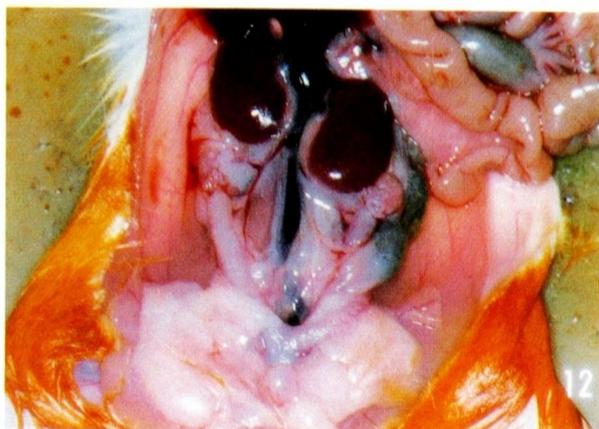


Fig. 5-1. Necropsy finding of a non-treated mouse (control)

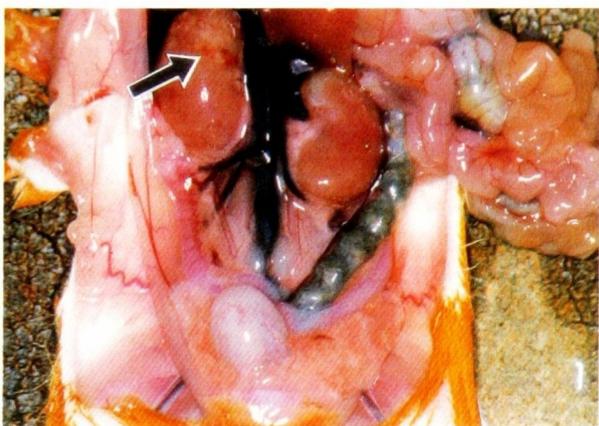


Fig. 5-2. Necropsy finding of a non-treated mouse killed 7 days after inoculation with *E. faecalis* 16148 (1×10^5 CFU/mouse). → Abscess formation

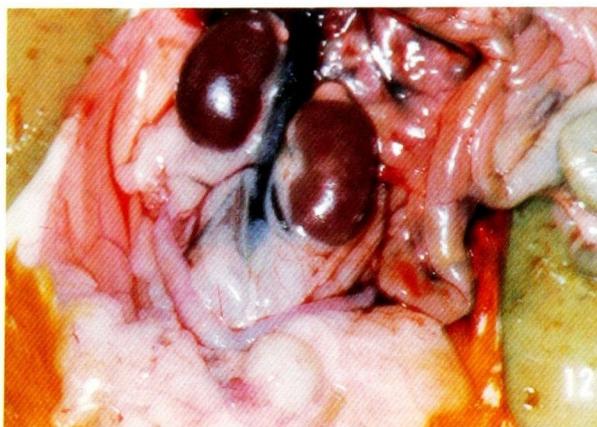


Fig. 5-3. Necropsy finding of a non-treated mouse killed 40 days after inoculation with *E. faecalis* 16148 (1×10^5 CFU/mouse)

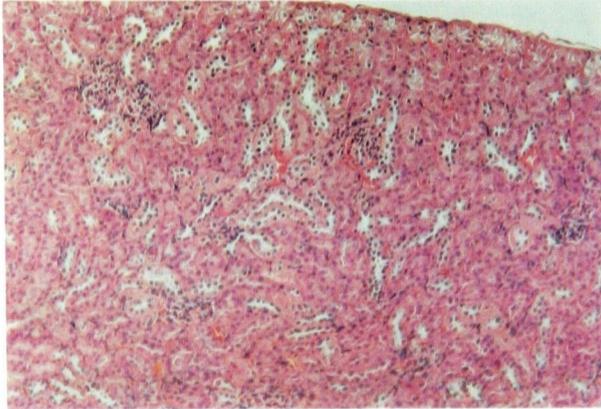


Fig. 6-1. Histopathological finding of a non-treated mouse kidney (control).
H. E. $\times 150$

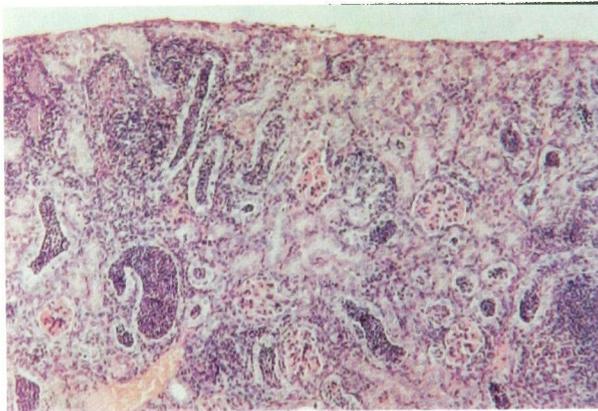


Fig. 6-2. Histopathological finding of a non-treated mouse kidney killed 7 days after inoculation with *E. faecalis* 16148 (1×10^5 CFU/mouse).
H. E. $\times 150$

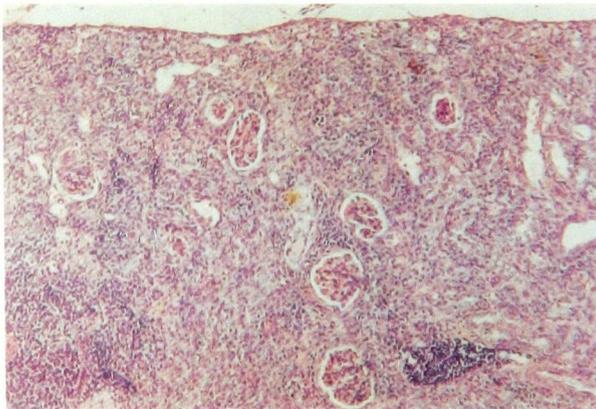


Fig. 6-3. Histopathological finding of a non-treated mouse kidney killed 40 days after inoculation with *E. faecalis* 16148 (1×10^5 CFU/mouse).
H. E. $\times 150$

E. faecalis 11 株中 *E. faecalis* 687, 6322 の 2 株では 10^8 CFU/mouse 接種にても腎および膀胱よりの菌回収は認められなかったことから、ID₅₀ 値は $>10^8$ CFU/mouse とした。菌回収陽性であった 9 株の腎に対する ID₅₀ 値は $2.1 \times 10^4 \sim 3.6 \times 10^7$ CFU/mouse に分布していた。

対照 4 菌株の ID₅₀ 値は $2.5 \times 10^4 \sim 2.9 \times 10^6$ CFU/mouse で、上記 *E. faecalis* の成績と類似していた。また、膀胱に対する ID₅₀ 値は *E. faecalis* で $2.1 \times 10^4 \sim 7.4 \times 10^7$, 対照菌で $5.8 \times 10^4 \sim 9.1 \times 10^5$ であり、それぞれ腎における ID₅₀ 値と近似していた。

(2) 病理学的所見

a. 肉眼的所見 (Fig. 5) : 腎の外観は 7 日目で点状およびそれらの融合した膿瘍と腎の浮腫状腫大を認め (Fig. 5-2), 14 日目には点状・斑状の混濁病巣となり, 21 日目では広範囲な腫脹した退色病巣を認めた。40 日目では退色病巣は瘢痕収縮し, 膿瘍は消失していた (Fig. 5-3)。

b. 病理組織学的所見 (Fig. 6) : 7 日目では尿細管内, 間質への好中球の浸潤がみられ, 急性感染性腎盂腎炎の像を呈し, 腎組織の一部は破壊されている (Fig. 6-2)。14 日目になると間質の結合織の増殖, 炎症細胞の浸潤がみられ, 尿細管の一部は拡張しているもののその多くと糸球体は萎縮していた。21 日目では, 尿細管の壊死が進行し, 40 日目では尿細管や一部の糸球体が消失

Organism	ID ₅₀ (CFU/mouse)							
	Kidney				Bladder			
	10 ⁷	10 ⁵	10 ³	10 ¹	10 ⁷	10 ⁵	10 ³	10 ¹
<i>E. faecalis</i> 569	3.4 × 10 ²				2.0 × 10 ³			
<i>E. faecalis</i> 6009	5.4 × 10 ³				8.7 × 10 ³			
<i>E. faecalis</i> 6332	9.0 × 10 ⁶				9.0 × 10 ⁶			
<i>E. faecalis</i> 6325	7.9 × 10 ⁴				7.9 × 10 ⁴			
<i>E. faecalis</i> 16148	4.4 × 10 ¹				7.2 × 10 ¹			
<i>E. coli</i> P 5101	2.0 × 10 ⁵				2.0 × 10 ⁵			
<i>C. freundii</i> 53	4.2 × 10 ²				4.2 × 10 ²			
<i>S. marcescens</i> S-9	3.2 × 10 ⁴				3.2 × 10 ⁴			
<i>P. aeruginosa</i> No.12	1.8 × 10 ¹				1.8 × 10 ¹			

n=5

Fig. 7. Infectivity of *E. faecalis* and four standard organisms in urinary tract infections in streptozotocin-induced diabetic mice. (ID₅₀ : 7 days after bacterial inoculation)

していた (Fig. 6-3)。

(ii) 糖尿病マウス

(1) ID₅₀ 値 (Fig. 7)

E. faecalis 5 株の腎に対する ID₅₀ 値は $4.4 \times 10^1 \sim 9.0 \times 10^6$ CFU/mouse に分布しており, 対照 4 菌株では $1.8 \times 10^1 \sim 2.0 \times 10^5$ CFU/mouse であった。膀胱に対する ID₅₀ 値は *E. faecalis* で $7.2 \times 10^1 \sim 9.0 \times 10^6$ CFU/mouse

Organism	Organ	ID ₅₀ (CFU/mouse)								Ratio diabetic non treated
		Diabetic mice				Non treated mice				
		10 ⁷	10 ⁵	10 ³	10 ¹	10 ⁷	10 ⁵	10 ³	10 ¹	
<i>E. faecalis</i> 569	kidney bladder	3.4 × 10 ²				5.0 × 10 ¹				1/147
		2.0 × 10 ³				5.0 × 10 ¹				1/25
<i>E. faecalis</i> 6009	kidney bladder	5.4 × 10 ³				8.8 × 10 ³				1/163
		8.7 × 10 ³				8.8 × 10 ³				1/101
<i>E. faecalis</i> 6322	kidney bladder	9.0 × 10 ⁶				>10 ⁸				—
		9.0 × 10 ⁶				>10 ⁸				—
<i>E. faecalis</i> 6325	kidney bladder	7.9 × 10 ⁴				10 ⁵				1/1.3
		7.9 × 10 ⁴				10 ⁵				1/1.3
<i>E. faecalis</i> 16148	kidney bladder	4.4 × 10 ¹				2.1 × 10 ¹				1/477
		7.2 × 10 ¹				2.1 × 10 ¹				1/292
<i>E. coli</i> P-5101	kidney bladder	2.0 × 10 ⁵				2.9 × 10 ⁶				1/15
		2.0 × 10 ⁵				9.1 × 10 ⁵				1/4.6
<i>C. freundii</i> 53	kidney bladder	4.2 × 10 ²				2.5 × 10 ⁴				1/60
		4.2 × 10 ²				9.9 × 10 ⁴				1/236
<i>S. marcescens</i> S-9	kidney bladder	3.2 × 10 ⁴				6.9 × 10 ⁵				1/22
		3.2 × 10 ⁴				7.1 × 10 ⁵				1/22
<i>P. aeruginosa</i> No.12	kidney bladder	1.8 × 10 ¹				3.1 × 10 ¹				1/1722
		1.8 × 10 ¹				5.8 × 10 ¹				1/3222

Fig. 8. Comparative infectivity of *E. faecalis* and four standard organisms in urinary tract infections in non-treated and streptozotocin-induced diabetic mice

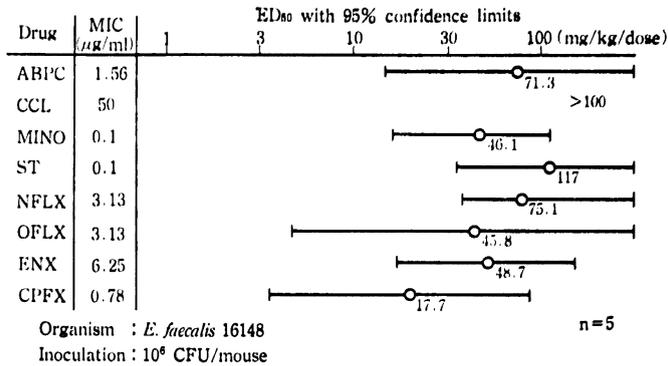


Fig. 9. Effect of various antimicrobial agents against ascending pyelonephritis induced by *E. faecalis* 16148 in non-treated mice

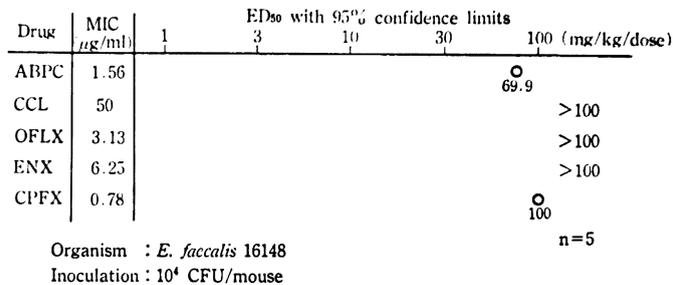


Fig. 10. Effect of various antimicrobial agents against ascending pyelonephritis with *E. faecalis* 16148 in streptozotocin-induced diabetic mice (DM-1 group)

に分布しており、対照菌では $1.8 \times 10^1 \sim 2.0 \times 10^5$ CFU/mouse であり、それぞれ類似した値を示していた。

(2) 病理学的所見

肉眼的および病理組織学的に、7日、14日、21日および40日目ともそれぞれが、健常マウスにみられたのとはほぼ同様の所見を呈し、すなわち急性化膿性腎盂腎炎像に始まり、一部癒痕を形成しつつ慢性化する炎症像が認められた。

上記成績のうち無処置マウスと糖尿病マウスの ID₅₀ 値を比較すると (Fig. 8), *E. faecalis* においては糖尿病マウスの ID₅₀ 値は無処置マウスの $1/477 \sim 1/1.3$ であり、*E. faecalis* 6322 においては無処置マウスでは病原性がみられなかったが、糖尿病マウスでは菌が回収された。対照菌においても $1/1,722 \sim 1/15$ の比を示し、腎において糖尿病マウスでは無処置マウスに比べ、ID₅₀ 値が明らかに低かった。また、膀胱においても同様であった。

3) 感染治療実験

(i) 無処置マウス上行性腎盂腎炎治療実験 (Fig. 9)

使用した8薬剤中治療効果が最も良好であったものは CPFX で、その腎における ED₅₀ は 17.7 mg/kg/dose

であり、以下 OFLX (45.8 mg/kg/dose), MINO (46.1 mg/kg/dose), ENX (48.7 mg/kg/dose), ABPC (71.3 mg/kg/dose), NFLX (75.1 mg/kg/dose), ST (117 mg/kg/dose), CCL (>100 mg/kg/dose) の順であった。

(ii) 糖尿病マウス上行性腎盂腎炎治療実験

(1) DM-1群 (Fig. 10)

使用した5薬剤中治療効果の得られたものは ABPC (ED₅₀: 69.9 mg/kg/dose) および CPFX (100 mg/kg/dose) のみであり、ENX (>100 mg/kg/dose), OFLX (>100 mg/kg/dose) および CCL (>100 mg/kg/dose) では治療効果を認めなかった。

(2) DM-2群 (Fig. 11)

使用した8薬剤中、最も良好な治療効果を示したものは ABPC で、その ED₅₀ 値は 27.5 mg/kg/dose であり、以下 CPFX (28.8 mg/kg/dose), MINO (41.9 mg/kg/dose), ENX (43.3 mg/kg/dose), OFLX (43.3 mg/kg/dose), NFLX (84.3 mg/kg/dose), ST (84.3 mg/kg/dose), CCL (>100 mg/kg/dose) の順であった。

(3) 病理学的所見

ENX 1回 50 mg/kg を1日2回5日間投与することにより除菌の得られた腎では正常腎とはほぼ同様の組織学

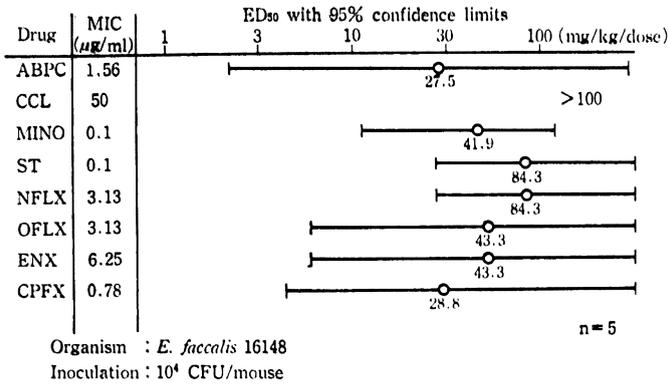


Fig. 11. Effect of various antimicrobial agents against ascending pyelonephritis with *E. faecalis* 16148 in streptozotocin-induced diabetic mice (DM-2 group)

の所見が示され、炎症像は認められなかった。CCL 1 回 100 mg/kg 1 日 2 回 5 日間投与するも治療効果の得られなかった腎では無投薬マウスと同様の腎盂腎炎像が認められた。

III. 考 察

E. faecalis はグラム陽性菌である連鎖球菌の一種であり、以前はD群連鎖球菌として分類されていたが、1984年発行の International Journal of Systematic Bacteriology において新たに genus “*Enterococcus*” が設けられ、*E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. malodoratus*, *E. hirae* および *E. mundtii* とともに *Enterococcus* 属として分類されるようになった菌である⁸⁻¹⁰。一般に *Enterococcus* 属のうち、臨床問題にされるものは *E. faecalis*, *E. faecium* および *E. avium* の3菌種でありその中で *E. faecalis* の頻度が最も高い。これら *Enterococcus* 属はヒトの腸管内常在菌であり、従来その病原性は低いものと考えられてきた。近年種々の臨床材料から比較的高頻度に分離されるようになってきており、特に尿路感染症、心内膜炎、髄膜炎などにおいてしばしば起炎菌として重要な役割を演じることが明らかになりつつある⁷⁻¹⁰。神戸大学医学部附属病院における全科病棟および泌尿器科外来の尿中細菌 ($\geq 10^4/\text{ml}$) の分離頻度¹¹) を年度別にみると、*E. faecalis* は1980年より増加傾向を示しており、特に泌尿器科入院患者より分離される割合が年々増加している。本菌は一般に基礎疾患のない急性単純性の尿路感染症からはほとんど分離されず、大多数が尿路に基礎疾患を有する複雑性尿路感染症から分離され¹²⁻¹⁴)、感染防禦能の欠落した部位、すなわち易感染状況下においてはじめて尿路に定着し増殖することが推測されている。尿路に基礎疾患のない場合でも、易感染状態の全身的因子と

して悪性腫瘍、糖尿病、腎不全をはじめとする代謝疾患などが挙げられる。

KAMIDONOら¹⁵⁾はグラム陰性桿菌の一種である *Citrobacter freundii* の compromised host 尿路に対する病原性を検討する目的で、エールリッヒ腹水癌を移植した担癌マウスは無処置マウスに比べ明らかに易感染性であることを報告した。

今回は、前述のようにグラム陽性弱毒菌と考えられる *E. faecalis* の尿路に対する病原性を、無処置マウスおよび compromised host モデルとし実験的に作製した糖尿病マウスを用い比較検討した。それら実験系を用い、*E. faecalis* による上行性腎盂腎炎に対する各種抗菌剤の治療効果を定量的に検討した。

これらの実験に先立ち、ヒト尿路由来の *E. faecalis* 23株に対する各種抗菌剤の MIC を測定した。その結果ピーク MIC 値でみると、被験 15 薬剤中 ST が最も良好な成績を示し、次いで CPF_X, ABPC, IPM/CS, OFLX, NFLX, ENX, GM, MINO, CCL, PPA, FMOX, CMX, LMOX, CAZ の順であった。最近開発されたピリドンカルボン酸系抗菌剤では CPF_X が最も優れ、次いで OFLX, NFLX, ENX の順であり、これら 4 薬剤に耐性を示す株は認められなかった。ST はそのピーク値では最も良好な成績を示したが、MIC 分布は 0.1 $\mu\text{g/ml}$ から 25 $\mu\text{g/ml}$ までと広く分布している。MINO では高度耐性株は認められず比較的良好な成績であったが、そのピークは 12.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。GM では耐性株が 3 株認められ、ABPC と IPM/CS では、MIC 分布は類似しており、総じて良好な成績であったが、耐性株が 2 株ずつ認められた。セフェム系薬剤に対しては、ほとんどの菌株が耐性を示していた。以上をまとめると臨床分離 *E. faecalis* に対する *in vitro* 抗菌力

は新しく開発されたピリドンカルボン酸系薬剤が最も強く、かつ平均しており、ST, MINO, ABPC, IPM/CSでは一部耐性株を認めるが全般には比較的良好であり、第3世代を含めセフェム剤に対して本菌は高度耐性であることが示された。今回の成績は当教室での報告¹¹⁾(1985年)および他施設での報告¹²⁻¹⁴⁾とほぼ近似しており、*E. faecalis* の特徴的な薬剤感受性パターンを示していた。

実験的腎盂腎炎モデルの作製については現在までにさまざまな方法が報告されており¹⁶⁻²⁰⁾、まだ統一されたものはない。HARTER and PETERSDORF²⁰⁾は感染症モデル作製の条件として、i) 感染経路はヒトにおけるそれと同様であること、ii) 感染菌はヒトにも動物にも毒力を有すること、iii) 感染の経過は治療効果の評価が行なえる程度持続すること、iv) 感染状態は生物学的変動の範囲で再現性のあること、v) 病変は形態学的にヒトのそれと類似していること、vi) 手技が簡単であること、としている。また MCRIPLEY and WHITNEY²⁷⁾は薬効評価のための感染症モデルの条件として、i) 簡単な手技で作製できること、ii) 感染は容易に成立し定量性のあること、iii) 種々の抗菌剤の薬効評価ができる程度多数の感染動物を一時に作製できること、などを挙げている。今回の著者らの ICR 系マウスを用い、前処置は行わず、経尿道的に菌を膀胱内に接種し、外尿道口を5時間クランプすることにより感染を成立させるという方法は、以下の点で前述の実験的感染症モデルの条件と適合する点が多いことから適切なものと考えられた。すなわち、ヒトの腎盂腎炎の細菌侵入経路としてはその大多数が尿路上行性感染であること^{19,22,25,28)}、経尿道的菌接種操作は手技上容易であり、短時間に多数の動物を処理できること、マウスであれば特に扱い易く膀胱尿管逆流がある²⁹⁾ため前処置を施さなくても上行性に腎盂まで細菌が到達しやすいこと、既に同様の方法による各種グラム陰性菌を用いたマウス実験的腎盂腎炎に関する著者らを含む多数の報告^{15,20,28-32)}がみられることがあげられる。

今回経尿道的に *E. faecalis* を膀胱内に接種し、その腎および膀胱における病原性につき検討した。無処置マウスでは接種した *E. faecalis* 11株中2株で最高接種菌量である 10^8 CFU/mouse 接種によっても感染を惹起させ得なかったが、他の9株では腎盂腎炎が惹起され、その ID_{50} 値は $2.1 \times 10^4 \sim 3.6 \times 10^7$ CFU/mouse であり、対照として用いた *E. coli* P-5101, *C. freundii* 53, *S. marcescens* S-9 および *P. aeruginosa* No.12 の ID_{50} 値 ($2.5 \times 10^4 \sim 2.9 \times 10^6$ CFU/mouse) と同程度であったこと、かつこれら対照4株はすべてヒト尿路に対して病原性を有すると考えられる菌株であることから、上記 *E.*

faecalis 9株のヒトに対する病原性が示唆された。病理学的にも、*E. faecalis* 接種マウス腎の炎症組織像は対照菌接種におけるそれとほぼ同様であったが、その炎症は組織学的に菌接種後40日目でも存続しており、慢性化する傾向が認められた。GUZE ら³⁰⁾の報告ではラットを用い、*E. faecalis* を静脈内接種したところ、腎内生菌数は57週間 10^5 CFU/g 以上検出されつづけ、組織学的にも慢性化の傾向がみられたとしている。KALMANSON ら³¹⁾は *E. faecalis* の経尿道的接種によりラット腎に感染を惹起し得、やはり40週間以上感染は持続していたと報告している。ただし血行性感染に比べて感染性、病理学的変化は軽度であったとしている。一方マウスを用いた実験としては、血行性感染モデルとして、ERLANDSON ら³²⁾、PITCHON ら³³⁾の報告がみられ、慢性化の傾向を認めたとしている。この *E. faecalis* 感染症の遷延傾向は守殿ら³⁷⁾の報告したラット前立腺に *E. faecalis* を接種することによる実験的前立腺炎モデルにおいても認められており、臓器を問わず本菌による感染の一つの特徴と考えられる。

このように無処置マウスに対しても大多数の *E. faecalis* 菌株が腎盂腎炎を惹起し得ることが明らかとなった。Compromised host モデルにおける感染性を検討する目的で、5株の *E. faecalis* を選定し、対照菌種4菌株とともに実験的糖尿病マウスにおけるそれらの ID_{50} 値を算定した。糖尿病マウスの作製については種々の報告³⁸⁾があるが、現在一般化されているものは、alloxan または streptozotocin を用いる方法である。今回我々は予備実験として、これら両者を用いて糖尿病マウスの作製を試みた。その結果、alloxan 100 mg/kg i.v. により約 250 mg/dl という高血糖を示すマウスを作製し得たが、これら alloxan 投与マウス 20匹中8匹が死亡した。Streptozotocin では投与量を 25 mg/kg, 50 mg/kg および 150 mg/kg の3群に分け、投与後の血糖値を測定したが、これら3群いずれでも死亡するマウスは認められず、150 mg/kg 投与群では血糖値は 200 mg/dl 程度となり、かつ長期間その状態が続くことが明らかとなった。以上のことから、今回の実験は streptozotocin 150 mg/kg i.v. 投与により作製した糖尿病マウスを使用することとした。その結果、糖尿病マウスでは、 ID_{50} 値は低く、無処置マウスとの比は *E. faecalis* で $1/1.3 \sim 1/477$ 、対照菌で $1/15 \sim 1/1,722$ と明らかに少ない菌量接種により感染の成立することが示された。無処置マウスでは感染を起こさなかった *E. faecalis* 6322 でも糖尿病マウスでは感染が成立したことから、糖尿病での易感染性が示唆された。糖尿病マウスでの腎の炎症像は無処置マウスにおけるそれとほぼ同様であり、慢性化傾向も認められ

た。糖尿病状態下での動物感染実験についての報告は数多くみられるが、著者らの実験法すなわち streptozotocin による糖尿病マウスに経尿道的膀胱内菌接種し、上行性腎盂腎炎を作製した報告はみられない。LEVISON³⁹⁾は alloxan 投与糖尿病ラットに *E. coli* を被験菌として経膀胱感染および血行性感染による病原性を検討しており、無処置ラットに比べ少量の菌量で感染を起こし得たことを報告している。EDWARDS⁴⁰⁾、FROMTLING⁴¹⁾および SAIKI⁴²⁾も糖尿病動物の易感染性を報告している。一方、RAFFEL⁴³⁾は糖尿病ラットに *C. albicans*, *S. aureus* および *E. faecalis* を静脈内接種し、血行性腎感染の成立およびその経過を無処置マウスにおける成績と比較している。その結果、菌接種後 42 日目で、*C. albicans* および *S. aureus* では無処置ラット腎に生菌は認められなかったが、糖尿病ラットで 10^5 CFU/g 以上が回収され、*E. faecalis* では無処置および糖尿病ラット両者とも菌回収は認められたがその ID₅₀ 値は糖尿病マウスにおいて明らかに低値であった。

今回の著者らの実験成績では、*E. faecalis* はマウス尿路に対し病原性を有し、糖尿病状態下では易感染状態となることから、それらモデルを用い、同菌による感染治療実験を行なった。感染治療実験は、これら病原性の検討成績から、ID₅₀ 値が最も低く強い感染性を示した *E. faecalis* 16148 を用いて行なった。

その結果、無処置マウスでの 5 日間投薬による腎盂腎炎治療効果は、用いた抗菌剤の中では CPF₁₅ の ED₅₀ 値が最も低く優れた成績であり、以下 OFLX, MINO, ENX, ABPC, NFLX, ST および CCL の順で、これらは各々の MIC に見合った結果と考えられた。ただ、ST に関しては、*E. faecalis* 16148 に対しその MIC が 0.1 μg/ml と低いにもかかわらず、ED₅₀ 値は 117 mg/kg/dose と他剤に比べ高かった。すなわち *in vitro* での抗菌力と *in vivo* の治療効果が平行していない。このことに関連する問題として前立腺炎に関する検討では、ヒトの慢性前立腺炎における前立腺液がアルカリ性であり ST の移行がアルカリ環境下では低下するという考え⁴⁴⁾、さらに抗菌剤の中には pH によりその MIC に変動を示すものがあるという報告⁴⁵⁾がみられる。これらを勘案すると、今回の著者らの実験系ではマウス腎組織あるいは尿中で ST の抗菌活性が低下していた可能性も否定できないが、今後の検討を要する問題と考えられる。

一方、糖尿病マウスにおける *E. faecalis* による上行性腎盂腎炎に対し、上述の無処置マウスと同様 5 日間投薬で抗菌剤治療効果を観察 (DM-1 群) した場合、今回の投薬量設定条件下で有意の治療効果を示した薬剤は ABPC のみであった。次に各薬剤の効果を比較するため

にはより長期の投薬が必要と考えられたため、投与期間を 10 日間 (DM-2 群) とした場合の成績についても検討した。その結果、CCL を除く薬剤では治療効果が認められ、ABPC が最も優れ、次いで CPF₁₅, MINO, ENX, OFLX, NFLX, ST の順であった。また糖尿病マウスでは 10 日間投薬で無処置マウス 5 日間投薬におけると同程度の ED₅₀ 値が得られたことから、糖尿病マウスでは無処置マウスと同等の治療効果を得るには 2 倍の投薬期間を要することが示された。糖尿病マウスにおいても ST は MIC が低いわりには ED₅₀ 値は高値であった。糖尿病状態下での感染治療実験に関しては、FROMTLING⁴⁶⁾、尾花⁴⁷⁾の報告がみられるが、我々の今回の成績と同様に無処置動物に比べ、糖尿病動物では抗菌剤の治療効果が劣るとしている。

このように、今回の実験成績から *E. faecalis* ではマウス尿路に対して病原性を有する菌株が多いこと、また同菌により惹起された上行性腎盂腎炎は病理学的に非特異性炎症像を呈し、慢性化傾向を示すこと、さらに streptozotocin 投与により実験的に作製した糖尿病マウスでは *E. faecalis* はより強い病原性を示すことが明らかとなった。これら実験系を用いて各種抗菌剤の感染治療効果を検討した結果、ST 以外では MIC を反映した成績が得られ、また糖尿病マウスでは、一定の治療効果を得るのに無処置マウスよりも長い投与期間を要することが示された。

本実験においては、薬物すなわち streptozotocin 投与により糖尿病マウスを作製したが、これは本物質が脾の β 細胞を特異的に破壊することによるものである³⁸⁾。したがって、今回作製した糖尿病マウスがヒト糖尿病に類似した内部環境を有することが推測されるが、このように薬物により急激に惹起された糖尿病状態が病原微生物に対する免疫応答能などにおいてヒトの慢性に経過する糖尿病と類似するものかどうかに関して以下に言及したい。一般に、ヒト糖尿病において易感染である原因として多核白血球機能 (貪食能, 遊走能, 殺菌能) の低下, リンパ球機能 (芽球形成反応, 免疫グロブリン産生細胞誘導能等) の低下, 血管障害による種々の障害 (組織酸素分圧の低下, 組織浮腫等), 神経障害による防御機構の低下 (知覚鈍麻, 知覚消失等) など⁴⁷⁻⁵⁰⁾が考えられている。Streptozotocin 投与による実験的糖尿病マウスでの感染に対する抵抗性の減弱の原因については SAIKI⁴²⁾は T-cell 機能の低下や macrophage の貪食能の低下にあるとし、KITAHARA⁵¹⁾は insulin 不足状態により抗体の作用が損なわれたり、貪食細胞の異常や微小循環が損なわれたりすることにあるとしている。尾花⁴⁷⁾は、これら糖尿病マウスにおける好中球および macro-

phage の chemotaxis 能の低下を指摘している。KITA-HARA³¹⁾、尾花ら⁴⁷⁾および COILら⁵²⁾によると糖尿病マウスにインスリンを投与した場合、上記免疫機能低下状態の改善が認められている。熊坂ら⁴⁹⁾はヒト糖尿病においてもインスリン投与によりこれら機能の改善を認められたとしている。これらのことより考え、今回用いた糖尿病マウスは、その高血糖の状態、免疫機能減弱の病態などから、ヒトの糖尿病状態を反映し得る実験モデルとして妥当なものと思われ、今後 compromised host 実験モデル作製の標準的な手法の一つとして活用され得るものと考えられる。

E. faecalis の有する病原因子は、本菌により産生される β -haemolysin と bacteriosin であり、これらの産生菌株が一般にマウスに対し強い病原性をもつ⁵³⁾とされている。同様にプロテアーゼ活性陽性を示す菌株では病原性が高い⁵⁴⁾とされているが、今回我々はこれらについては検討を加えていない。

臨床的に尿路から *E. faecalis* が単独で分離される頻度に関しては報告者¹²⁻¹⁴⁾により異なるが、複雑性尿路感染症患者尿中からの分離率が高いことは一致しており、臨床的になんらかの易感染状況下において病原性を発揮するものと考えられ、このことは今回の実験において基礎的に裏づけられた。尿路感染症以外で本菌の病原性が認められたものとして、心内膜炎や敗血症患者があげられる。

本菌は、最近高頻度で使用されているいわゆる第3世代 cephem 剤の抗菌スペクトラムから外れており、これらの薬剤が使用され始められた頃より分離率が上昇していることは諸家の指摘するところであり、YU⁵⁵⁾の報告にみられるように、他の菌での感染症に対して LMOX を使用し病因菌は消失したが、*Enterococcus* の分離が新たにみられたというような例は日常的に経験されている。このように *E. faecalis* は日和見感染菌すなわち宿主の感染防禦能低下に応じて病原性を発揮し、また化学療法による交代菌として分離されることが多いことを念頭におくべきと考えられる。*E. faecalis* は他菌との複数菌感染の一つとして分離される場合も多く本菌が特異な薬剤感受性パターンを示すということからも、今後これら複数菌感染実験モデルについての検討が必要と考えられる。

IV. 結 語

ヒト尿路より分離された *E. faecalis* の *in vitro* 抗菌剤感受性を検索するとともに、無処置および糖尿病マウス尿路に対するその病原性ならびに腎盂腎炎薬剤治療効果につき検討を加え以下の結果を得た。

(1) ヒト尿路感染症由来 *E. faecalis* 23 株に対する

15 種の抗菌剤の MIC を測定した。新しく開発されたピリドンカルボン酸系薬剤 (NFLX, OFLX, ENX, CFX) の抗菌力が最も強くかつ耐性株が少なく、ST, MINO, ABPC, IPM/CS では一部耐性株を認めるが全般に良好であり、第3世代を含めセフェム剤に対してはほとんど高度耐性であった。

(2) 無処置マウスに対し *E. faecalis* を経尿道的に膀胱内接種し、上行性感染実験を施行した。被験 11 株中 9 株に腎盂腎炎が惹起され、対照の病原菌 4 菌株の ID₅₀ 値と近似した値が得られ尿路への病原性が示唆された。

(3) 糖尿病マウス (streptozotocin 150 mg/kg 投与により作製) に対し上行性尿路感染実験を行なった。被験 5 株全株が腎盂腎炎を惹起し、無処置マウスの ID₅₀ 値と比べて 1/477~1/1.3 の値を示した。

無処置マウスでは腎盂腎炎を惹起しなかった菌株でも糖尿病マウスにおいては腎盂腎炎を惹起し、易感染性であることが示された。

(4) 無処置マウスでの *E. faecalis* 上行性腎盂腎炎治療実験では CFX が最も良好な治療効果を示し、以下 OFLX, MINO, ENX の順であった。

(5) 糖尿病マウスでの *E. faecalis* 上行性腎盂腎炎治療実験では無処置マウスと同様の治療効果を得るには約 2 倍の投薬期間が必要であり、最も効果のあったものは ABPC であり、以下 CFX, MINO, ENX の順であった。

以上の成績から、*E. faecalis* はマウス尿路に対し病原性を有し、糖尿病という易感染状態下においてはその病原性が増強されること、その腎盂腎炎に対する治療には新しく開発されたピリドンカルボン酸系薬剤が有用であるが糖尿病環境下での感染には 2 倍の投薬期間が必要であることが実験的にはじめて示された。これらより全身性易感染状態下あるいは複雑性の尿路感染症の治療においては本菌に対する対策を念頭におくべきと考えられた。

稿を終るにあたり、本研究遂行にあたり多大な御協力をいただきました中田勝久氏はじめ教室の諸先生方に深く感謝いたします。

なお本論文の一部は第 74 回日本泌尿器科学会総会、第 34 回日本化学療法学会総会および第 15 回国際化学療法学会において発表された。

文 献

- 1) 日本化学療法学会：最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法再改訂について。Chemotherapy 29: 76~79, 1981

- 2) 医科学研究所学会編：細菌学実習提要，第32章 推計学的な取扱い方。566～568頁，丸善株式会社，1982
- 3) SCHLEIFER, J H and KLIPPER BALZ R : Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. Int J Syst Bacteriol 34 : 31～34, 1984
- 4) COLLINS, M D JONES D FARROW J A E KLIPPER BALZ R and SCHLEIFER K H : *Enterococcus avium* nom. rev.; *E. casseliflavus* nom. rev., comb. nov.; *E. durans* nom. rev., comb. nov.; *E. gallinarum* comb. nov.; and *E. malodoratus* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 34 : 220～223, 1984
- 5) FARROW, J A E and COLLINS M D : *Enterococcus hirae*, a new species that includes amino acid assay strain NCDO 1258 and strains causing growth depression in young chickens. Int J Syst Bacteriol 35 : 73～75, 1985
- 6) COLLINS, M D FARROW J A E and JONES D : *Enterococcus mundtii* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 36 : 8～12, 1986
- 7) 山口恵三, 菅原和行：腸球菌。化学療法の領域 1 : 88～93, 1985
- 8) 山口恵三, 菅原和行：腸球菌。病原菌の今日的意味 (松本慶蔵編), 119～129頁, 医薬ジャーナル社, 大阪, 1987
- 9) 木全心一, 高橋早苗：感染性心内膜炎。内科 51 : 1109～1113, 1983
- 10) VON GRAEVENITZ, A : Pathogenicity of *Enterococci* outside of urinary tract and blood stream. Klin Wochenschr 60 : 696～698, 1982
- 11) 守殿貞夫, 藤井 明, 田 珠相, 川端 岳, 岡田弘, 原田益善, 荒川創一, 石神襄次：尿路感染分離菌の年次的変遷および薬剤感受性について。西日泌尿 47 : 1611～1617, 1985
- 12) 金子裕憲, 北原 研, 富永登志, 岸 洋一, 新島端夫, 岩本幸子：*Streptococcus faecalis* の分離された尿路感染症の臨床的検討。Chemotherapy 32 : 685～691, 1984
- 13) 松本哲朗, 田中正利, 井 秀隆, 久保周太, 熊澤浄一：腸球菌尿中分離症例の臨床的検討。西日泌尿 48 : 467～471, 1986
- 14) 公文裕巳, 宮田和豊, 那須良次, 津川昌也, 岸幹雄, 水野全裕, 大森弘之：複雑性尿路感染症における *Enterococcus faecalis* の臨床的検討。西日泌尿 49 : 495～501, 1987
- 15) KAMIDONO, S FUJII A HARADA M ARAKAWA S UMEZU K KATAOKA N MITA T and ISHIGAMI J : Studies on *Citrobacter freundii*. Nishinohon J Urol 47 : 421～429, 1985
- 16) GORRILL, R H and DE NAVASQUEZ S : The pathogenesis and evolution of experimental pyelonephritis in the mouse with special reference to comparable conditions in man. J Path Bact 80 : 239～247, 1960
- 17) ANDERSEN, B R and JACKSON G G : Pyelitis, an important factor in the pathogenesis of retrograde pyelonephritis. J Exp Med 114 : 375～383, 1961
- 18) COTRAN, R S VIVALDI E ZANGWILL D P and KASS E H : Retrograde *Proteus* pyelonephritis in rats. Am J Pathol 43 : 1～31, 1963
- 19) ARANA, J A KOZIJ V M and JACKSON G G : Retrograde *E. coli* urinary tract infection in rats. Arch Path 78 : 558～567, 1964
- 20) NISHI, T and TSUCHIYA K : Experimental urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa* in mice. Infect Immun 22 : 508～515, 1978
- 21) SCHULZ, E MARRE R SACK K and HERHAHN D : Standardization of a model of *E. coli*-pyelonephritis in rats. Zbl Bakt Hyg A 256 : 490～496, 1984
- 22) 熊澤浄一：実験的腎盂腎炎研究の現況。Chemotherapy 29 : 1～8, 1981
- 23) 大井好忠：実験的腎盂腎炎。臨泌 38 : 7～17, 1984
- 24) 大井好忠：実験的腎盂腎炎。腎と透析 16 : 683～688, 1984
- 25) 土田正義, 西本 正：実験的腎盂腎炎。化学療法の領域 1 : 847～852, 1985
- 26) HARTER, D H and PETERSDORF R G : A consideration of the pathogenesis of bacterial meningitis : Review of experimental and clinical studies. Yale J Biol Med 32 : 280～309, 1960
- 27) MCRIPLEY, R J and WHITNEY R R : Characterization and quantitation of experimental surgical-wound infections used to evaluate topical antibacterial agents. Antimicrob Agents Chemother 10 : 38～44, 1976
- 28) 岩日朋幸, 土屋皖司：*Proteus mirabilis* によるマウスにおける実験的尿路感染症について。感染症学雑誌 55 : 254～261, 1981
- 29) HAGBERG, L ENGBERG I FRETTER R LAM J OLLING S and EDÉN C S : Ascending unobstructed urinary tract infection in mice caused by pyelonephritogenic *Escherichia coli* of human origin. Infect Immun 40 : 273～283, 1983
- 30) 田中紀子, 采 孟, 小河秀正：実験的尿路感染症。臨床と細菌 7 : 15～24, 1980
- 31) 尾花芳樹, 折笠義則, 西野武志, 谷野輝雄：*Acinetobacter calcoaceticus* に関する研究，第4報：マウス実験的尿路感染症について。Chemotherapy 30 : 996～1003, 1982
- 32) 大森康男, 小川正俊, 宮崎修一, 五島瑳智子：各種グラム陰性桿菌による実験的尿路感染症に関する基礎的研究。Chemotherapy 30 : 1237～1250, 1982
- 33) GUZE, L B GOLDNER B H and KALMANSON G M : Pyelonephritis. I. Observations on the

- course of chronic non-obstructed enterococcal infection in the kidney of the rat. *Yale J Biol Med* 33 : 372~385, 1961
- 34) KALMANSON, G M SOMMERS S C and GUZE L B : Pyelonephritis. VII. Experimental ascending infection with progression of lesions in the absence of bacteria. *Arch Path* 80 : 509~516, 1965
- 35) ERLANDSON, Jr. A L and GAGLIARDI L A : The pathogenesis of experimental enterococcal pyelonephritis in mice. *J Infect Dis* 108 : 181~188, 1961
- 36) PITCHON, H GLASSOCK R KALMANSON G M and GUZE L B : Experimental pyelonephritis. The effect of T-cell deficiency on the course of hematogenous enterococcal pyelonephritis in the mouse. *Am J Pathol* 115 : 25~30, 1984
- 37) 守殿貞夫, 藤井 明, 原田益善, 梅津敬一, 片岡陳正, 荒川創一, 石神襄次 : 細菌性前立腺炎に関する実験的研究, 第1報 : 各種臨床分離菌の病原性について。西日泌尿 47 : 1083~1088, 1985
- 38) RERUP, C C : Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacological Reviews* 22 : 485~518, 1970
- 39) LEVISON, M E and PITSAKIS P G : Effect of insulin treatment on the susceptibility of the diabetic rat to *Escherichia coli*-induced pyelonephritis. *J Inf Dis* 150 : 554~560, 1984
- 40) EDWARDS, M S and FUSELIER P A : Enhanced susceptibility of mice with streptozotocin-induced diabetes to type II group B streptococcal infection. *Infect Immun* 39 : 580~585, 1983
- 41) FROMTLING, R A ABRUZZO G K and GADEBUSCH H H : Antibacterial efficacy of norfloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, and gentamicin in experimentally-infected normal and streptozotocin-induced diabetic mice. *Meth and Find Exptl Clin Pharmacol* 6 : 731~735, 1984
- 42) SAIKI, O NEGORO S TSUYUGUCHI I and YAMAMURA Y : Depressed immunological defense mechanisms in mice with experimentally induced diabetes. *Infect Immun* 28 : 127~131, 1980
- 43) RAFFEL, L PITSAKIS P LEVISON S P and LEVISON M E : Experimental *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus faecalis* pyelonephritis in diabetic rats. *Infect Immun* 34 : 773~779, 1981
- 44) FAIR, W R CRANE D B SCHILLER N and HESTON W D W : A re-appraisal of treatment in chronic bacterial prostatitis. *J Urol* 121 : 437~441, 1979
- 45) 村中幸二, 鈴木裕志, 中村直博, 河原 優, 米田尚生, 岡野 学, 秋野裕信, 磯松幸成, 柳本雄右, 清水保夫, 河田幸道 : 慢性細菌性前立腺炎に対する治療薬剤の再検討, 第1報 : 抗菌力に及ぼす pH の影響。Chemotherapy 35 : 824~832, 1987
- 46) FROMTLING, R A ABRUZZO G K GILFILLAN E C PELAK B A and GADEBUSCH H H : Norfloxacin versus trimethoprim-sulphamethoxazole : Efficacy in a model of ascending urinary tract infection in normal and streptozotocin-induced diabetic mice. *J Antimicrobial Chemotherapy* 16 : 735~741, 1985
- 47) 尾花芳樹, 国安朋子, 長尾晃裕, 和田勝夫, 西野武志, 谷野輝雄 : 糖尿病マウスにおける実験的治療法—治療効果に及ぼす insulin の影響—。Chemotherapy 33 : 625~630, 1985
- 48) RAYFIELD, E J AULT M J KEUSCH G T BROTHERS M J NECHEMIAS C and SMITH H : Infection and diabetes : The case for glucose control. *Am J Med* 72 : 439~450, 1982
- 49) 熊坂義裕, 中畑 久, 平井裕一, 小沼富男, 工藤幹彦, 今村憲市, 武部和夫, 工藤 肇 : 糖尿病患者多核白血球の貪食, 殺菌能。感染症学雑誌 57 : 487~494, 1983
- 50) 後藤由夫 : 各種病態における感染症対策—糖尿病—。日本臨床 43 : 1050~1056, 1985
- 51) KITAHARA, Y ISHIBASHI T HARADA Y TAKAMOTO M and TANAKA K : Reduced resistance to *Pseudomonas septicaemia* in diabetic mice. *Clin Exp Immunol* 43 : 590~598, 1981
- 52) COIL, J A and DAVIS J H : Altered host response to experimental pyelonephritis in alloxan diabetic rats. *J Surg Res* 7 : 26~34, 1967
- 53) IKE, Y HASHIMATO H and CLEWELL D B : Hemolysin of *Streptococcus faecalis* subspecies zymogenes contributes to virulence in mice. *Infect Immun* 45 : 528~530, 1984
- 54) 小林寅詔, 宮崎修一, 西田 実, 五島憲智子, 手塚孝一, 草野朱美, 佐藤弓枝, 鈴木美幸, 高橋かおる : *Enterococcus faecalis* その他のD群連鎖球菌の分離材料別溶血性, プロテアーゼ活性および各種抗菌剤感受性の比較。Chemotherapy 34 : 1238~1245, 1986
- 55) YU, V L : Enterococcal superinfection and colonization after therapy with moxalactam, a new broad-spectrum antibiotic. *Annals of Internal Medicine* 94 : 784~785, 1981

STUDIES ON THE PATHOGENICITY OF *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

—EXPERIMENTAL ASCENDING PYELONEPHRITIS IN
NON-TREATED AND DIABETIC MICE—

GAKU KAWABATA, SOICHI ARAKAWA and SADA0 KAMIDONO

Department of Urology (Director : Prof. S. KAMIDONO), School of Medicine,
Kobe University, 7-5-1 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe 650, Japan

We experimentally investigated the pathogenicity of clinically isolated *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) in urinary tract of non-treated and diabetic mice. The results are summarized as follows.

(1) *In vitro*, new pyridonecarboxylic acids (CPFX, OFLX, ENX and NFLX) were most effective against 23 clinically isolated strains of *E. faecalis*, followed by ST, MINO, ABPC and IPM/CS. Most of the isolates showed high resistance to cepheims.

(2) In non-treated mice, ascending pyelonephritis occurred with 9 of 11 *E. faecalis* strains tested. These strains showed similar pathogenicity (ID_{50}) compared with four standard Gram-negative species.

(3) In streptozotocin-induced diabetic mice, ascending pyelonephritis occurred with 5 of 5 *E. faecalis* strains tested and values of ID_{50} were 1/1.3-1/477 of those in non-treated mice.

(4) As to drug efficacy against experimental ascending pyelonephritis in non-treated mice, CPFX was most effective, followed by OFLX, MINO and ENX.

(5) Against experimental ascending pyelonephritis in streptozotocin-induced diabetic mice, ABPC was most effective, followed by CPFX, MINO and ENX; a longer administration period was necessary to eradicate *E. faecalis* than in non-treated mice.