

羊水の抗菌活性と cefuzonam および lysozyme の抗菌力に対する影響

千村 哲朗・森崎 伸之

山形大学医学部産婦人科教室*

高橋 長一郎

山形大学医学部附属病院検査部

(平成元年3月31日受付)

妊娠 26~42 週 の非感染時の羊水 (N=20) を対象とし、臨床分離された *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* の3菌種に対し、羊水単独、羊水+cefuzonam (CZON), lysozyme 追加時の抗菌活性と協力的作用について検討し、以下の成績を得た。

- 1) 羊水単独の3菌種に対する抗菌作用は、2/20 (10%) のみに認められた。
- 2) CZON および羊水との協力的抗菌作用の検討では、*E. coli* に対しては認められず、*S. aureus* に対しては、熱処理羊水追加時で4時間、未処理羊水追加時で8時間の静菌作用を認めた。
- 3) CZON+未処理羊水時の MIC の変動では、*E. coli* では認められず、*S. agalactiae* で 2/20 (10%), *S. aureus* で 7/20 (35%) に各1管の低下を認めた。熱処理羊水追加時では、*E. coli* に 2/20 (10%) で1管の上昇を認めた。
- 4) Lysozyme 追加の影響では、CZON+未処理羊水で3菌種に対し、一部羊水での MIC の低下を認めたが、熱処理羊水への影響は認められなかった。

Key words : 羊水の抗菌活性, Cefuzonam, Lysozyme

羊水の抗菌活性については、羊水中の抗菌物質の分析と各種細菌に対する抗菌作用の面から検討されてきたが、その本体と作用で不明な点が多い。羊水自体の抗菌作用と菌種に関する検討は、LARSEN ら (1974)¹⁾ が妊娠末期羊水での *Escherichia coli* に対する抗菌作用を認めた報告に始まるが、妊娠週数および菌種で報告者により異なった成績が認められる。

生体防御機構面からみて、羊水の抗菌作用は当然考えられるが好気性菌・嫌気性菌で認められる報告が多いが、妊娠時期や個体差を認め一定の見解を得るには至っていない。

したがって、ここでは妊娠各期の羊水の抗菌作用と、cefuzonam (CZON) および lysozyme の抗菌作用に及ぼす影響を検討したので報告したい。

I. 研究方法

妊娠 26~42 週 の羊水を帝王切開時、分娩時および経腹的羊水穿刺により採取 (N=20) し、検材とした。なお対象の背景因子を Table 1 を示す。

1) 羊水の抗菌作用の検討は、Muller Hinton broth の培地を control とし、*Staphylococcus aureus*, *E.*

coli, *Streptococcus agalactiae* に対し、各株に対する CZON の MIC を求め、CZON+羊水 (in situ/除蛋白)、CZON+lysozyme (6.25, 12.5, 25, 50 µg/ml) 時の MIC と比較し、協力的抗菌作用の有無を検討した。この場合の接種菌量は、 $10^2 \sim 10^8$ CFU/ml とした。なお MIC は、日本化学療法学会による標準法で測定した。

2) 上記の検討で得られた協力的抗菌作用の有無を考慮し、*S. aureus*, *E. coli*, *S. agalactiae* に対する増殖曲線上における変化を CZON (1/8~1 MIC) で検討した上で、協力的抗菌作用が得られた組合せで検討した。

接種菌量は、 10^4 CFU/ml とし、増殖曲線上の菌量測定は 2~24 時間後とした。なお羊水の熱処理 (heated) は、100°C 5 分間とした。

II. 成績

1) 羊水の抗菌作用

羊水単独での抗菌作用の検討で、3菌種に認められたのは2例 (NO-2, NO-11) のみで (Fig. 1), 他羊水での抗菌作用は認められない。

2) CZON+羊水の抗菌作用

羊水の抗菌作用を認めた NO-2 の羊水における

* 山形市飯田西2丁目 2-2

Table 1. Characteristics of study cases

Case no.	Maternal age (yrs)	Gestation at delivery (wks)	Route of delivery
1	30	39	C/S
2	32	39	VD
3	30	38	C/S
4	25	39	VD
5	31	42	C/S
6	30	42	VD
7	38	38	C/S
8	29	40	VD
9	25	40	VD
10	36	39	C/S
11	25	34	C/S
12	28	33	C/S
13	25	41	C/S
14	26	38	C/S
15	28	37	VD*
16	24	35	C/S
17	24	35	C/S
18	25	26	VD
19	24	26	VD*
20	28	36	VD

C/S: cesarean section VD: vaginal delivery

* Transabdominal amniocentesis

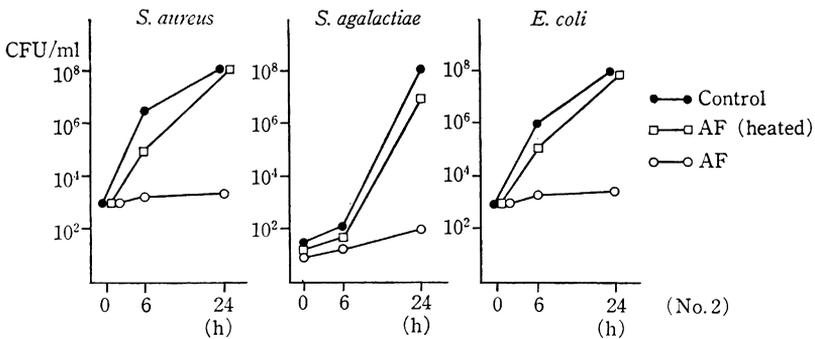


Fig. 1. Antibacterial activity of amniotic fluid (AF) against aerobic bacteria

CZON 単独および、羊水との協力的抗菌作用を検討した。*E. coli* に対する作用では特記すべき変動は、control に比し未処理羊水、熱処理羊水追加時とも認められない (Fig. 2)。

S. aureus に対する作用では、熱処理羊水追加時で 4

時間の静菌的作用を、未処理羊水追加時で 8 時間の静菌的作用を認めた (Fig. 3)。しかし、24 時間後の CZON 1/2 MIC 値は、羊水追加時に上昇傾向を示している。

3) 菌種別での抗菌作用の検討

CZON 単独時の 3 菌種に対する MIC の検討では、

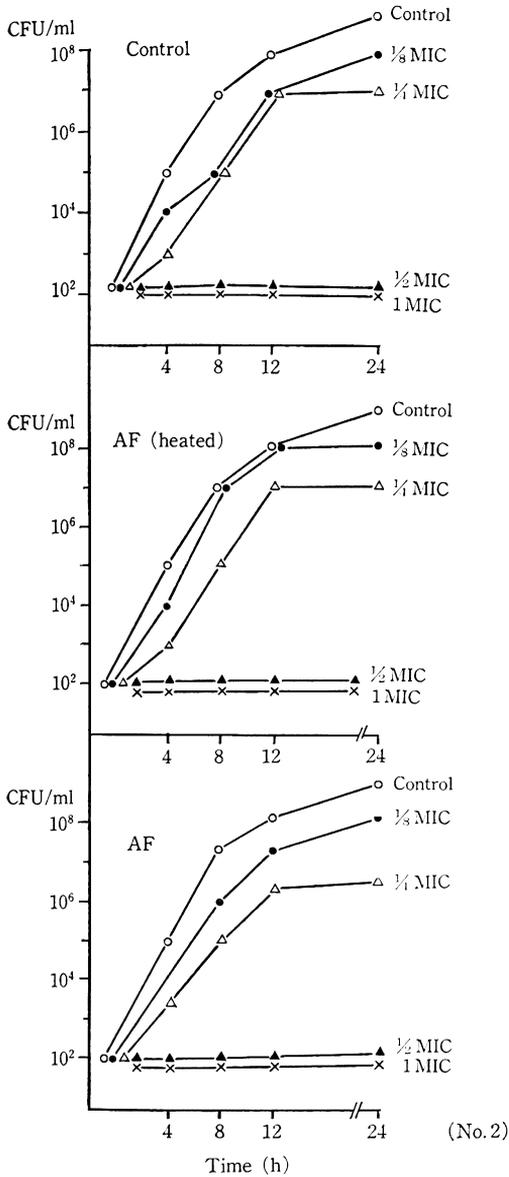


Fig. 2. Effect of cefuzonam (CZON) on viability of *Escherichia coli* in amniotic fluid (AF)

E. coli に対し 0.09~0.39 $\mu\text{g/ml}$ に, *S. agalactiae* で 0.02~0.09 $\mu\text{g/ml}$ に, *S. aureus* で 0.09~0.78 $\mu\text{g/ml}$ に感受性を示した。

未処理羊水の追加時の MIC の変動では, *E. coli* で認められず, *S. agalactiae* で 2/20 (10%), *S. aureus* で 7/20 (35%) に各 1 管の低下を認めた。熱処理羊水の追加時では, *E. coli* に 2/20 (10%) の 1 管の上昇を認めたが, *S. aureus*, *S. agalactiae* での変動は認められなかった (Fig. 4)。

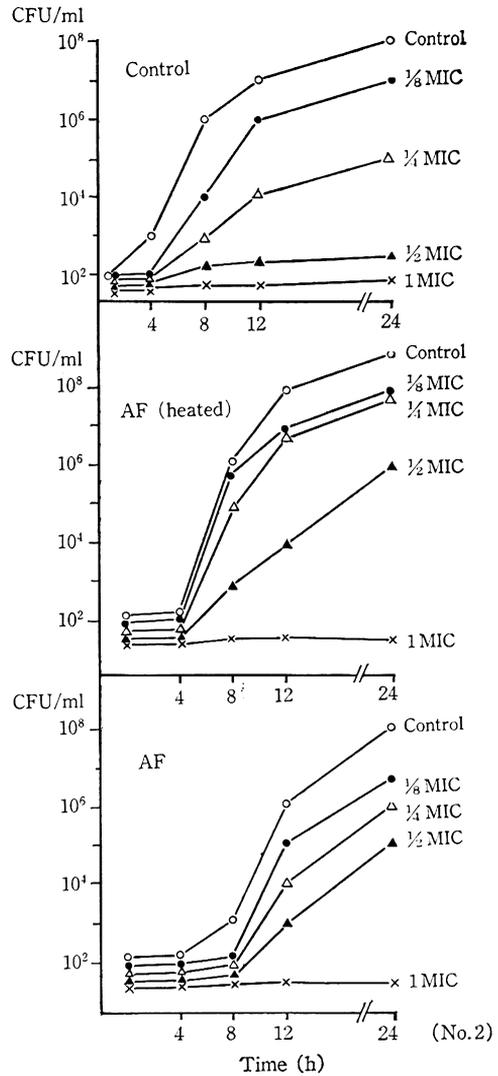


Fig. 3. Effect of cefuzonam (CZON) on viability of *Staphylococcus aureus* in amniotic fluid (AF)

4) Lysozyme の影響

CZON+未処理羊水に lysozyme 6.25~25.50 $\mu\text{g/ml}$ 追加時の MIC の変動を検討した (Fig. 5)。Lysozyme 6.25 $\mu\text{g/ml}$ 追加時の MIC の変動では, *S. aureus*, *S. agalactiae* に各 1 例, 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 追加時で *S. aureus* に 1 例, 25.50 $\mu\text{g/ml}$ 追加時で *S. aureus* に 2 例, *E. coli* に 1 例, *S. agalactiae* で 1 例に認められた。

熱処理羊水+CZON に対する lysozyme の追加時 3 菌種に対する変動は認められなかった。Case No. 20 での協力作用 (Fig. 6) をみると, 未処理羊水および lysozyme の dose-response 的傾向を認めるが, 熱処理羊水

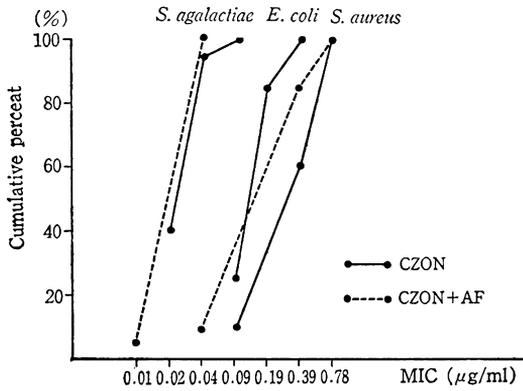


Fig. 4. Susceptibility distribution of clinical isolates of *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

追加時での変動は認められない。

III. 考 案

羊水の抗菌作用に関する研究は、各種の好気性菌・嫌気性菌に対する妊娠各期の羊水の静菌的または殺菌的作用から検討されてきた。しかし、これらの報告を分析すると、報告者によりその成績が異なり統一された見解が得られていない。その背景としては、対象羊水が妊娠時期により抗菌物質を始めとした組成が異なる点と、臨床的背景因子が異なる点を考慮しなければならない。

また抗菌作用の判定にあたっては、菌種・菌量・判定時間などによる影響を比較検討しなければならない。

妊娠週数の増加に伴い羊水中の抗菌物質の増量が報告されてきたが、抗菌作用も妊娠末期で上昇する報告がある。SCHLIEVERT ら (1974)²⁾ は、妊娠 20 週の羊水が嫌気性菌に対し抗菌作用を示さないが、妊娠 36~40 週にかけて上昇することを認めている。また THADEPALL ら (1978)³⁾ は、*E. coli*, *Bacteroides fragilis*, *Petostreptococcus*, *Fusobacterium lentum* の 4 菌種の検討で、妊娠時期による差は認めるが、妊娠末期では SCHIEVERT

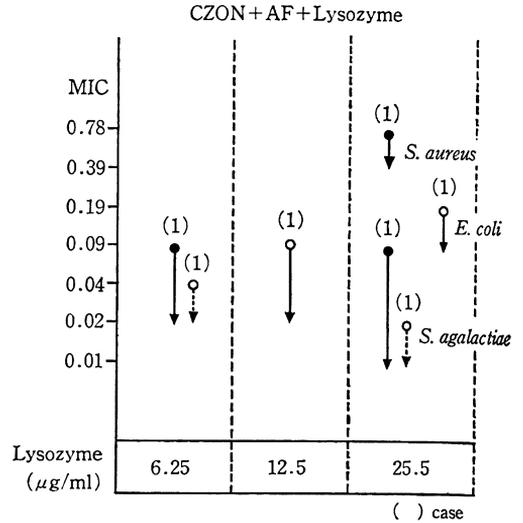


Fig. 5. Enhancement of the antibacterial property of amniotic fluid by addition of lysozyme

ら²⁾と同様の傾向を認め、菌種と妊娠週数により異なった結果をもたらすことが報告⁵⁾されてきた。

また感染時の羊水と抗菌作用に関する検討では、*S. agalactiae* への静菌的作用や、37°C 以上の羊水の *E. coli* に対する静菌的作用が報告⁴⁾されている。臨床的に羊水の抗菌作用の低下と絨毛羊膜炎の発生および早産・PROM との関連性は重要な問題であるが、最近、NAZIR ら (1988)⁶⁾ が始めて羊水の抗菌作用と早産の関係について検討し、早産群での羊水が、*E. coli*, *B. fragilis* に対する抗菌作用で低下していることを報告した。この低下が、感染の結果なのか原因なのかは不明であるが、臨床的にはきわめて重要である。

さて羊水の抗菌作用の基礎的問題点について考察してみると、妊娠各時期の羊水が各菌種に対し抗菌作用を有する率はきわめて低い、特に殺菌的作用よりは静菌的作用による抗菌作用が主体であり、妊娠時期や個体差を認

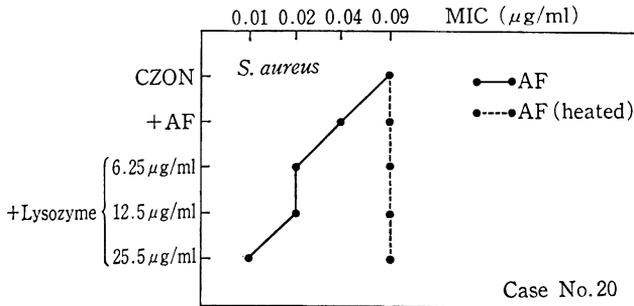


Fig. 6. Enhancement of the antibacterial property of amniotic fluid by addition of lysozyme

める^{1,2,5,6)}。また静菌的作用は、6~32 h^{3,6)}に認められ、菌種による差を示している。

今回の成績からみると、羊水の抗菌作用は *E. coli*, *S. agalactiae*, *S. aureus* の3菌種に対し2/20 (10%)のみしか認められず、萩尾ら(1985)⁶⁾の *S. aureus* 9/10 (90%), *E. coli* 9/11 (82%), *S. agalactiae* 0/8 (0%)の成績とは相違している。また羊水中での細菌の増殖曲線に及ぼす抗生物質の殺菌効果の検討では、張ら(1987)⁷⁾の報告で ceftriaxone (CTRX) およびアミノ配糖体 (AMK) が羊水中で抗菌力を増強することを報告している。この菌種として *S. aureus*, *E. coli* で検討しているが、今回の成績では、CZON との協力作用の検討では、*E. coli* では認められず、*S. aureus* では熱処理羊水で4時間、未処理羊水で8時間の静菌作用を認めたが、抗菌力の増強は明らかではなかった。逆に24時間後の CZON 1/2 MIC 値は、羊水追加時に上昇傾向を示し培地的作用を呈している。

Lysozyme の影響に関しては、未処理羊水+CZON 時のみに MIC の変動を少数例に認めたが、熱処理羊水への追加時では認められなかった。萩尾⁶⁾の成績でも *S. aureus*, *E. coli* に対する lysozyme の影響は認めていない。

以上、今回の検討からみて羊水単独の3菌種に対する抗菌作用は、10% のみにしか認められず、CZON との協力作用および lysozyme と羊水との協力作用も *E. coli*, *S. agalactiae* では低く、*S. aureus* でやや認められ

たのみであった。したがって、これら3菌種に対する羊水の抗菌作用は、従来報告されている成績に比較し低率かつ弱く、生体防御面からの意義は期待したほど高いものではなかった。

文 献

- 1) LARSEN B, SNYDER I S, GALASK R P: Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. Am. J. Obstet. Gynecol. 119: 492~495, 1974
- 2) SCHLIEVERT P, LARSEN B: Bacterial growth inhibition by amniotic fluid: Am. J. Obstet. Gynecol. 122: 809~813, 1974
- 3) THADEPALLI H, BACH U T, DAVIDSON E C: Antimicrobial effect of amniotic fluid. Obstet. Gynecol. 52: 198~204, 1978
- 4) LARSEN B, DAVIS B: Enhancement of the antibacterial property of amniotic fluid by hyperthermia. Obstet Gynecol. 63: 425~429, 1984
- 5) 千村哲朗, 森崎伸之: 破水時の子宮頸管細菌叢と羊水の Antibacterial effect の検討。Jap. J. Antibiotics, 38: 69~73, 1985
- 6) 萩尾洋介: 羊水の抗菌作用と Lysozyme, 日産婦誌, 37: 2369~2375, 1985
- 7) 張 南蕪, 福永完吾, 国井勝昭: 羊水と抗生物質。産婦治療, 54: 49~54, 1987
- 8) 二宮敬宇, 長谷川幸生: 細菌感染と羊水。産婦治療, 54: 59~64, 1987
- 9) NAZIR M A, PANKUCH G A, BOTTI J J, APPELBAUM P C: Antibacterial activity of amniotic fluid in the early third trimester. Am. J. Perinat. 4: 59~62, 1987

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF AMNIOTIC FLUID
AND ITS EFFECTS ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY
OF CEFUZONAM AND LYSOZYME

TETSURO CHIMURA and NOBUYUKI MORISAKI

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Yamagata University,
2-2-2 Iidanishi, Yamagata 990-23, Japan

CHOICHIRO TAKAHASHI

Central Laboratory, Yamagata University Hospital

The antibacterial activity and/or synergistic effects of amniotic fluid alone, amniotic fluid+cefuzonam (CZON) and amniotic fluid+CZON+lysozyme on clinical isolates of the following three organisms were evaluated: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Streptococcus agalactiae*. The amniotic fluid was obtained from 20 pregnant women with no infection between weeks 26 and 42 of pregnancy.

1) Only 2 of the 20 amniotic fluid samples (10%) showed antibacterial activity against the three organisms when used alone.

2) CZON and amniotic fluid showed no synergistic effect on *E. coli*, while bacteriostatic activity was noted against *S. aureus* for 4 and 8 hours, respectively, when the drug was used in combination with heat-treated and untreated amniotic fluid.

3) The MIC of CZON remained unchanged upon addition of untreated amniotic fluid with respect to *E. coli*, while it decreased (by one dilution) with respect to *S. agalactiae* (2/20 samples or 10%) and *S. aureus* (7/20 samples or 35%). The MIC of CZON increased (by one dilution) with respect to *E. coli* upon addition of heat-treated amniotic fluid (2/20 samples or 10%).

4) The MIC decreased with respect to the three organisms in some amniotic samples when lysozyme was added to mixtures of CZON and untreated amniotic fluid. However, lysozyme had no effect on heat-treated amniotic fluid.