

臨床分離 *Citrobacter freundii* の病原性 に関する研究

神戸大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 石神襄次教授)

神戸大学医学部微生物学教室 (主任: 堀田 進教授)

片 岡 陳 正

THE PATHOGENICITY OF CLINICALLY ISOLATED *Citrobacter freundii*

Nobumasa KATAOKA

From the Department of Urology, School of Medicine, Kobe University

(Director: Prof. J. Ishigami, M.D.)

From the Department of Microbiology, School of Medicine, Kobe University

(Director: Prof. S. Hotta, M.D., Ph.D.)

Clinical and experimental studies were performed using *Citrobacter freundii* organisms which were isolated from urine specimens of in- and out-patients who visited our Department between January 1980 and July 1981. Specimens from other clinics were examined similarly for comparison. The results are summarized as follows;

(1) Most of the *C. freundii* isolated at our hospital were from urine specimens (80%). At our department, *C. freundii* tended to be isolated at a higher frequency as the years passed (in-patients, from 18.4% (1980) to 19.0% (1981); out-patients, from 4.1% (1980) to 6.4% (1981)).

(2) Examination by the disc method showed the *C. freundii* organisms to be sensitive to AMK and PL, but to be resistant to 9 other drugs, especially β -lactam antibiotics. Examination by the MIC method showed the same organisms to be highly sensitive to PPA, FOM and GM, as well as CMX (a β -lactam antibiotic).

(3) Phenol coefficients of Hibitane and Osvan to *C. freundii* were not particularly, different from those obtained for the Enterobacteriaceae.

(4) Experimental urinary tract infection was produced by 12 strains of *C. freundii* in female ddY mice by injection into exposed urinary bladder.

The mortality ratio in the bladder infection were calculated at 5 days after inoculation of bacilli. Strain No.12 and No.53 induced a relatively high mortality ratio (100% mortality at an infection dose of 5.0×10^5 CFU/mouse and 7.0×10^6 CFU/mouse, respectively). Rates of recovery of the organisms from kidney and urinary bladder of the infected mice were high (In the case of No.12, the recovery rate was 100% when the organisms of 5.0×10^4 CFU/mouse were inoculated; similarly 100% recovery was attained when the No.53 organisms of 7.0×10^3 CFU/mouse were inoculated).

(5) Histopathologically, the infected kidney showed a severe inflammatory reaction associated with abscess formation and necrosis of medulla, pelvis and papilla. The overall pictures were of typical acute pyelonephritis.

Key words: *Citrobacter freundii*, Experimental infection, Pathogenicity, Urinary tract infection, Susceptibility

緒 言

化学療法剤の投与にさいしては、起炎菌の薬剤感受性を知ることが原則であるが、起炎菌およびその薬剤感受性の年次的動向を知ること重要である。近年、感染症の変貌はめまぐるしく、従来弱毒菌あるいは非病原菌と考えられていた細菌による感染症が注目されて来ている。いわゆる opportunistic infection¹⁻³⁾ とよばれているものがそれであり、その主な原因菌としては *Pseudomonas* やグラム陰性桿菌ブドウ糖非醗酵菌群および *Serratia* があげられる。しかし著者は、尿からの分離頻度が最近増加し、薬剤感受性も低下して、耐性菌が多く検出される *Citrobacter freundii* に注目し、1980年1月より1981年7月末日までの期間における神戸大学医学部附属病院泌尿器科外来患者、同科入院患者、および他科入院患者の尿から検出した細菌、その検出率およびディスク感受性を比較し、とくに一部の *C. freundii* に関しては MIC (minimum inhibitory concentration) および石炭酸系数を検討した。ついで患者尿由来の *C. freundii* を用いてマウス膀胱内接種による実験的腎盂腎炎を作製し、菌の感染能力、臓器からの菌回収および病理組織学的変化を検討した。その結果、*C. freundii* の病原性についていくつかの興味ある知見を得たのでここに報告する。

実験材料および方法

1) 対象：1980年1月から1981年7月末日までの19カ月間における神戸大学医学部附属病院の泌尿器科外来、同科入院および他科入院患者の尿を対象とした。

2) 尿採取方法：男性では中間尿、女性ではカテテル尿とした。

3) 細菌学的検査：尿中細菌数が 10^5 CFU/ml 以上認められた場合を尿路感染症起炎菌とし、その同定および薬剤感受性試験を行なった。 10^5 CFU/ml 未満の分離菌についても可能な限り同様の検査を行なった。生菌数の測定は dip slide 法 (ウリカルト) を、*C. freundii* の同定には API-20E (API System S.A., France) および MINITEK (BBL, Division of Becton, Dickinson & Company, U.S.A.) を用いた。

4) ディスク法による薬剤感受性試験：ディスクはモノディスク昭和 (昭和薬品工業) を用い、培地は感受性用ディスク培地 (栄研化学) を使用した。ディスクは ampicillin (AB-PC), carbenicillin (CB-PC), sulbenicillin (SB-PC), cephaloridine (CER), cephalixin (CEX), cefazolin (CEZ), gentamicin (GM), streptomycin (SM), amikacin (AMK), dibekacin (DKB),

tetracycline (TC), minocycline (MINO), doxycycline (DOXY), chloramphenicol (CP), polymyxin-B (PL), colistin (CL), nalidixic acid (NA), sulfamethizol (SA), sulfamethoxazole+trimethoprim (ST), nitrofurantoin (FT) および dihydroxymethyl furatrizine (FS) の種類であるが、年度により使用ディスクの差異は多少あった。

5) MIC の測定：新鮮分離同定した *C. freundii* 53 株を用いて各種抗生物質の MIC を測定した。測定方法は日本化学療法学会規定⁴⁾ により、Muller 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 10^6 CFU/ml の菌液を接種した。使用した抗生物質は AB-PC, SB-PC, piperacillin (PI-PC), pivmecillinam (PM-PC), BRL-25000, CEX, cefmetazole (CMZ), cefotiam (CTM), cefoperazone (CPZ), cefotaxime (CTX), ceftizoxime (CZX), latamoxef (LMOX), cefmenoxime (CMX), T-1982, SN-401, CEZ, cefoxitin (CFX), GM, cinoxacin (CINX), fosfomycin (FOM), ST, trimethoprim (TMP), NA および pipemidic acid (PPA) の計24種である。

6) 石炭酸系数の測定：使用菌株は *C. freundii* No. 12, No. 21, No. 53 ならびに対照菌として *Staphylococcus aureus* 209P JC-1, *Escherichia coli* NIHJ JC-2, *Klebsiella pneumoniae* No. 13, *Pseudomonas aeruginosa* No. 12, *Proteus morgani* Kono, *Serratia marcescens* S-9 の計7菌種9菌株である。使用消毒薬は phenol (和光純薬, 特級), Hibitane (chlorhexidine gluconate 5%; 住友化工), および Osvan (benzal konium chloride 10%; 武田薬品工業) を原液として用いた。すなわち上記消毒薬を滅菌蒸留水に溶解し、適当な濃度に希釈し、その 5 ml ずつを滅菌試験管に入れる。被検菌を heart infusion broth (栄研化学) で 37°C , 18時間培養し、消毒薬が入っている試験管にその培養液 1 ml を加え、5分後および10分後に各試験液から1白金耳ずつ取って、同 broth に植え継いで再び培養した。培養後の菌の生死は濁度で判定され、5分間接触で生存・10分間接触で死滅する時の希釈度を各薬剤別に求め、それを phenol の希釈度で除したものを石炭酸系数とした。

7) 動物感染実験

a) 使用菌株：用いた菌株は *C. freundii* No. 1, No. 7, No. 11, No. 12, No. 16, No. 21, No. 22, No. 30, No. 32, No. 43, No. 45 および No. 53 の計12株である。対照菌として *Escherichia coli* P5101, *Proteus morgani* Kono, *Proteus mirabilis* 3003, *Klebsiella pneumoniae* No. 13, *Serratia marcescens* S-2 および *Pseudomonas ae-*

ruginosa No. 12 の 5 菌種 6 菌株を用いた。

b) 実験動物: 静岡実験動物農業協同組合より購入した ddY 系マウス(雌, 5週齢, 体重23~27 g)を用いた。

c) 感染方法: マウスを pentobarbital-Na (25~50 mg/kg, 尾静脈) により麻酔後, 下腹部切開により膀胱を露出させ, 0.25 ml ツバルクリン注射筒, 26G 注射針にて菌懸濁液 ($10^8 \sim 10^9$ CFU/ml) 0.1 ml を膀胱内に注入, ただちに腹壁を縫合閉鎖した。尿が貯留している場合は, 膀胱圧迫により排尿させた後, この操作を行なった。菌感染前後の24時間(計48時間)は絶水させた。膀胱内への異物挿入および膀胱粘膜上皮細胞への薬剤処理等の前処理は一切行わず, 外尿道口閉塞もおこなわなかった。

d) 感染死亡率の算定: 各菌株を HIB で 37°C, 18時間培養後, 同培養液の10倍希釈系列を作り, 各濃度ごとに3匹のマウスを感染させ, 対照菌群は5匹を用いた。観察は5日間で, 各群の死亡率を算出した。

e) 感染後生存マウスからの菌回収: 感染5日後に生存していたマウスの腎および膀胱から菌回収を試みた。すなわちマウスの頸椎脱臼により殺し, 腎および膀胱を摘出した後, 縦切斷し, その内側面を DHL 寒天平板培地上におしつけ, 37°C, 18時間培養してコロニー形成の有無を調べ, 菌回収率を算出した。

f) 病理組織標本の作製: 同上マウス腎を10%ホルマリン液で固定, パラフィン包埋, 薄切後, HE (hematoxylin-eosin) 染色を型のごとく施し, 組織学的検索をおこなった。

実験結果

1) 細菌分離頻度: 1980年1月から1981年7月末日までの期間の全科における入院と泌尿器科外来患者尿より分離した菌種およびその頻度を Fig. 1 に示した。1980年度の分離菌株数は2821株, 1981年度(1月~7月)は1575株であった。両年度におけるグラム陰性桿菌の分離率は80%を起え, 両年を通して分離頻度の高いものは *Proteus* (19%), *E. coli* (18%), *S. marcescens* (15%), *Pseudomonas* (12%), および *C. freundii* (9%) であった。年次推移では *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* および *S. faecalis* が増加していた。*Klebsiella* の中では *K. pneumoniae* が大部分をしめており, 他に *K. oxytoca* が分離された。本論文中の *Proteus* には IPA (Indol-Pyruvic-Acid) 陽性株すべてを含めた。また *Pseudomonas* では *Ps. aeruginosa* が大部分をしめ, 他に *Ps. fluorescens*, *Ps. cepacia* および *Ps. maltophilia* が分離された。一方 *E. coli*, *S. marcescens*, および *Enterobacter* はやや減少傾向を示している。全科的に見た場

	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Proteus</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>S. faecalis</i>	Others
1980 (2821)	18.72% (528)	15.53 (438)	6.31 (178)	10.95 (309)	11.31 (319)	16.52 (466)	4.40 (124)	8.40 (237)	7.87 (222)
1981 (1575)	17.27% (272)	14.98 (236)	7.62 (120)	13.08 (206)	6.35 (100)	21.65 (341)	3.75 (59)	11.24 (177)	4.07 (64)

() = number of isolated strains

Fig. 1. Annual changes of organisms isolated from urine specimens of all departments. The organisms from other out-patients departments were excluded.

	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>C. freundii</i>	<i>Proteus</i>	<i>S. faecalis</i>	Others
1980 (169)	34.9%	10.1	12.4	7.7	4.1	13.0	12.4	15.4
1981 (94)	41.5%		11.7	12.7	3.2	6.4	5.3	9.6

() = number of isolated strains

Fig. 2. Annual changes of organisms isolated from urine specimens of out-patients in Department of Urology.

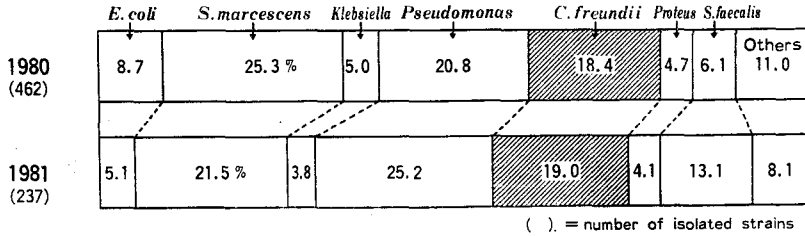


Fig. 3. Annual changes of organisms isolated from urine specimens of in-patients in Department of Urology.

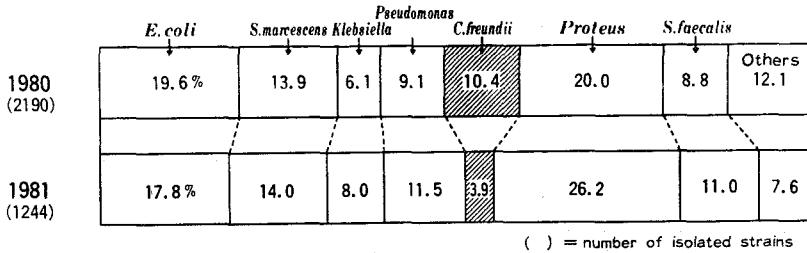


Fig. 4. Annual changes of organisms isolated from urine specimens of in-patients in other departments.

合、*C. freundii* はかなりの減少を示していた。

Fig. 2 は 1980年および1981年度の泌尿器科外来患者由来菌の分離頻度である。*E. coli* が約40%で最も多数をしめ、次いで *Klebsiella*, *S. marcescens* および *S. faecalis* が多く、*Pseudomonas* は低下していた。*C. freundii* に関しては1980年度は4.1%であったが1981年度には6.1%とわずかであるが上昇していた。

Fig. 3 には泌尿器科入院患者尿由来菌の分離頻度を示す。*S. marcescens*, *Pseudomonas* および *C. freundii* の分離頻度が高く、3菌の2年間の分離頻度を平均するとそれぞれ25.2%, 23.1%および18.7%となり、全体の60%をこの3菌種で占めた。*E. coli* は減少傾向を示していた。*S. marcescens* がやや減少傾向を示している一方、*Pseudomonas* が増加していた。以上、外来および入院の分離率をまとめると泌尿器科全体として増加を示したのは *C. freundii* のみであった。

Fig. 4 には他科入院患者尿由来菌の分離頻度を示す。*S. marcescens* および *Pseudomonas* の分離頻度が泌尿器科のそれと比較してかなり少なかった。その反面 *Proteus* がかなり大きな比率をしめているのが特徴的であった。*C. freundii* は10.4%から3.9%に減少した。

2) 検体別 *C. freundii* 分離菌株数と年次推移: Table 1 は *C. freundii* の検体別分離株数を示し、1972年、1980年および1981年度の3群に分け比較したものである。各群ともに尿検体からの分離が最も多く、1972

Table 1. Number of *Citrobacter freundii* isolated from various specimens and its annual changes.

Sample		1972 (1-12)	1980 (1-12)	1981 (1-7)
Urine	10 ⁸ ≤	2	85 (in) 7 (out)	45 (in) 6 (out)
	<10 ⁸	1	7 (in) 1 (out)	2 (in)
	10 ⁸ ≤	62	227	49
	<10 ⁸	6	15	3
Sputum	URO	0	0	0
	OTH	5	4	4
Blood	URO	0	1	0
	OTH	1	4	2
Bile	URO	0	0	0
	OTH	7	12	5
Cerebro-spinal fluid	URO	0	0	0
	OTH	1	0	1
Pus	URO	0	4	0
	OTH	4	16	12
Pharyngeal discharge	URO	0	0	0
	OTH	0	1	0
Unknown	URO	0	0	1
	OTH	0	4	3
Total		89	388	133
From urine samples		71/89=79.8%	342/388=88.1%	105/133=78.9%
From urine samples of Dept. Urol.		3/89=3.4%	100/388=25.8%	53/133=39.9%

年度では全 *C. freundii* 中の79.8%にあたる。しかし泌尿器科由来は3.4%にすぎない。1980年度では尿由

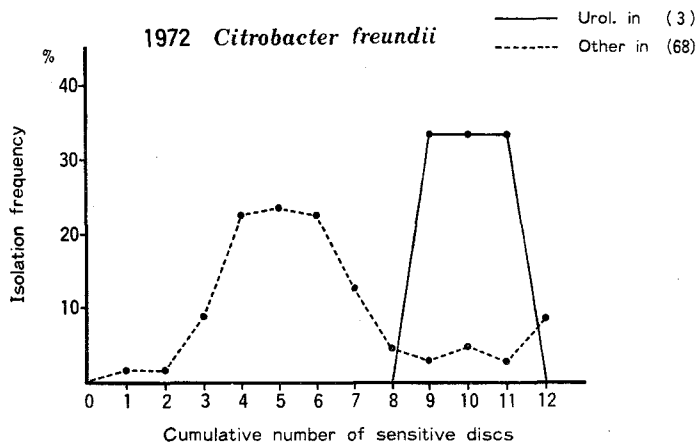


Fig. 5. Sensitivity distributions of *Citrobacter freundii* in 1972 by cumulative number of sensitive discs.

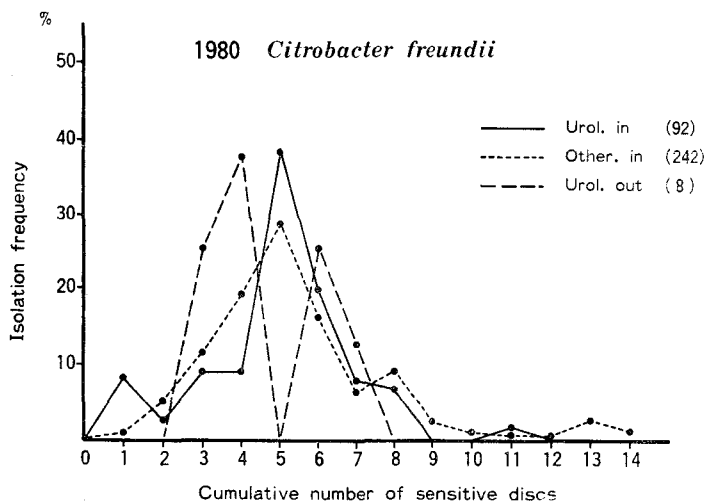


Fig. 6. Sensitivity distribution of *Citrobacter freundii* in 1980 by cumulative number of sensitive discs.

来が83.5%で、そのうち泌尿器科由来が25.8%と多くを占めるようになり、1981年度では尿由来が80.0%、泌尿器科尿由来が39.9%と多かった。その他の検体として、膿汁および胆汁からの分離があった。

3) *C. freundii* のディスク感受性の分布状況: Fig. 5 から Fig. 9 までは *C. freundii* および *S. marcescens* の年度別ディスク感受性分布を示した。各菌株の感受性はモノディスクで卍, 卅, +, - の4段階で表示されているが、卍および卅を感受性、+および-を耐性とした。図の横軸は感受性を示したディスクの数の和 (cumulative number of sensitive discs), 縦軸は分離率 (isolation frequency, %) を示す。

Fig. 5 は1972年度の泌尿器科入院患者尿由来 *C. freundii* と他科入院患者尿由来の感受性分布を示したものである。泌尿器科の3株は、12剤中それぞれ9種、10種および11種の薬剤に対して感受性を示した。他科入院患者尿由来株は主に、4ないし5剤に対して感受性を示した。

1980年度においては Fig. 6 に示すごとく、泌尿器科入院患者尿由来株では5剤に感受性の株が多く、また他科入院患者尿由来株も同様であり、泌尿器科外来患者尿由来株では、4種6種の薬剤に感受性を示す株が多かった。

Fig. 7 は1981年度の成績で、泌尿器科入院患者尿由

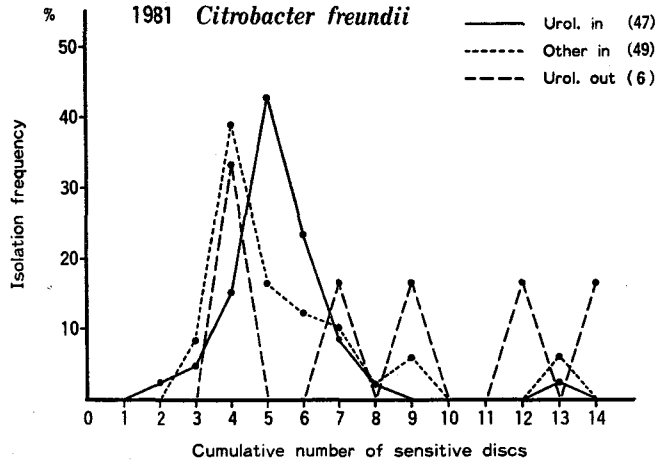


Fig. 7. Sensitivity distributions of *Citrobacter freundii* in 1981 by cumulative number of sensitive discs.

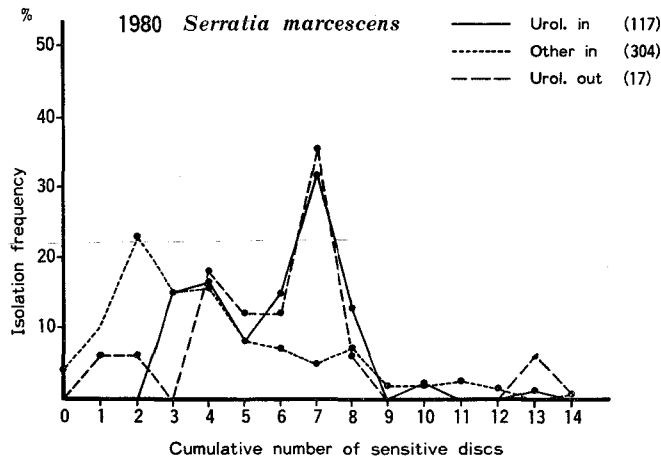


Fig. 8. Sensitivity distributions of *Serratia marcescens* in 1980 by cumulative number of sensitive discs.

来株では5剤に、他科入院患者尿由来株では4剤に感受性を示す株が多い。泌尿器科外来患者尿由来株は6株であるが、このうち4剤に感受性を示した株が2株、7種、9種、12種、14種の薬剤に感受性を示した株が各1株ずつ検出された。

S. marcescens については Fig. 8 に示すごとく、1980年度においては、泌尿器科入院および外来患者尿由来株では、14剤中7種の薬剤に感受性を示す株が多く、他科入院患者尿由来株では2剤のみに感受性を示す株が多く検出された。

1981年度においては Fig. 9 に示すごとく、大部分が4剤に感受性を示した。*S. marcescens* に対しては感受

性を示す薬剤が少なくなっているが、*C. freundii* では *S. marcescens* のような短期間内での薬剤感受性の変動は認められなかった。

4) *C. freundii* の各ディスク薬剤の耐性率の比較：薬剤別に感受性の頻度を年度、外来および入院別に比較した。

Fig. 10 は泌尿器科入院患者尿由来菌と他科入院患者尿由来菌を比較したものである。β-ラクタム系抗生物質には大部分の株が耐性を示し、1972年度と比較すると耐性化の進行が明確に認められた。1972年度では他科由来菌の方が耐性化を示していたが、1980年と1981年度では耐性化には差が認められなかった。GM

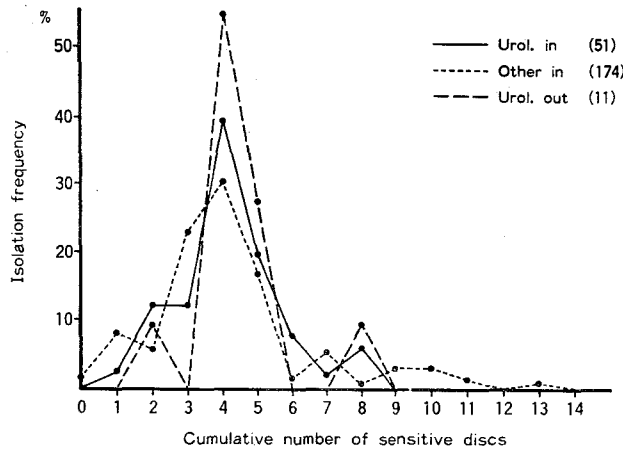
1981 *Serratia marcescens*

Fig. 9. Sensitivity distributions of *Serratia marcescens* in 1981 by cumulative number of sensitive discs.

に関しては他科由来菌の方が耐性菌が多く、半数近くをしめた。しかし泌尿器科由来では20%に満たなかった。DKB もかなり耐性化を示していたが、他科由来株の方に耐性菌が多く認められた。SM は1972年度より1980年度の方が耐性菌が少なかった。全体としてAMK には耐性菌が少ないが、他科由来株の方に耐性菌が多い。TC に関しては1972年度の泌尿器科入院患者尿由来の耐性菌は認められなかったが、1980年度では高率(94.6%)に耐性菌が検出された。他科入院患者尿由来では1972年度にすでに72.1%の耐性菌を検出している。DOXY においては泌尿器科入院患者尿由来株の85.1%に耐性菌を認めたのに対し、他科入院患者尿由来株では30.8%と少なかった。CP においては1972年度は泌尿器科入院患者尿由来の耐性菌は見出されなかったが、他科入院患者尿由来株では72.1%も認められた。しかし1980年および1981年度ではむしろ泌尿器科入院患者尿由来株の方が耐性菌が多く見出された。PL および CL 等のポリエチレン系においては耐性菌の検出は少ない。NA では1972年度の泌尿器科入院患者尿由来の耐性菌は皆無であったが、1980年度には65.2%に耐性を示し、他科入院患者尿由来のそれは約40%で、耐性菌の出現頻度は一定している。

Fig. 11 は泌尿器科外来患者尿由来の薬剤耐性を示したもので、 β -ラクタム系では入院患者尿由来におけるほど耐性は認められなかったが、1980年度のCB-PC にはすべて耐性を示した。アミノ配糖体系の中では泌尿器科入院患者尿由来株と同様、AMK には耐性

が認められなかった。GM に関しては1981年度はすべて感受性を示した。SM では1980年度泌尿器科外来由来株の方が耐性菌が多い。DKB は1981年度の方が1980年度より感受性菌が多かった。他の薬剤に関しては泌尿器科入院患者尿由来株と比較して耐性パターンの大きな差は認められなかった。

5) MIC の測定：最近分離同定した *C. freundii* 53 株の各種抗生物質に対する MIC の分布を Table 2 に示した。ペニシリン系では大部分が100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC であった。なお本表には100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC は示し核いないが、AB-PC, SB-PC および PI-PC に対し400 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示したものがそれぞれ94.3%, 90.1%および73.6%存在した。PM-PC は50 $\mu\text{g/ml}$ に MIC 分布のピークを示し、ペニシリン系の中では本菌に対し最も有効であった。AM-PC とクラブラン酸の合剤である BRL-25000 は100 $\mu\text{g/ml}$ にピークを示した。セファロsporin系薬剤の CEX, CEZ, CFX は大部分の菌株に対して100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC を示した。最近開発されたいわゆる第2, 3世代のセフェム系では LMOX が12.5 $\mu\text{g/ml}$, CMX が12.5 $\mu\text{g/ml}$ および SN-401 が6.25 $\mu\text{g/ml}$ にピークを有し、従来の薬剤に対し良好であった。GM は0.78 $\mu\text{g/ml}$ 以下および25 $\mu\text{g/ml}$ の二峰性のピークを示し、TMP および NA も同様であった。とくに TMP は両極にピークを有し、100 $\mu\text{g/ml}$ 以上の株すべてが400 $\mu\text{g/ml}$ 以上の MIC であった。ST 合剤より TMP 単独の方が *C. freundii* に対して

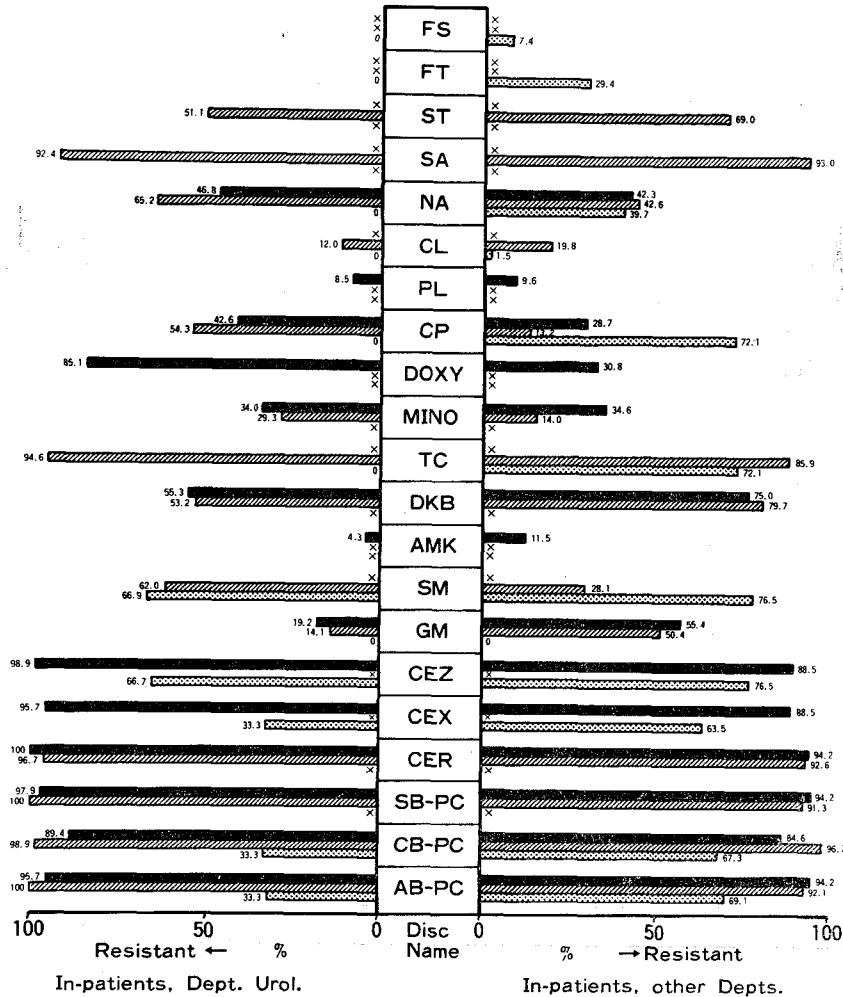


Fig.10 Drug-resistance patterns of *Citrobacter freundii* from urine specimens.

= 1981 x = Not tested in this year
 = 1980
 = 1972

は有効であった。FOM では 12.5 µg/ml, PPA では 1.56 µg/ml にピークを有した。以上を総括すると, *C. freundii* 53株に対して高い感受性を示す薬剤は PPA, FOM, GM および CMX であった。

6) 石炭酸係数: 前述の尿由来 *C. freundii* 53株の中から No.12, No.21 および No.53 を選定し, 対照菌として *S. aureus* 209P JG-1, *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* No.13, *Ps. aeruginosa* No.12, *Pr. morganii* Kono および *S. marcescens* S-9 の計 9株を用い, これらに対するヒピテンおよびオスパンの石炭酸

係数を求めた。その成績は Table 3 に示される。対照菌の *Ps. aeruginosa* No.12 および *Pr. morganii* Kono はヒピテンやオスパンに対して石炭酸係数は小さく, かなり耐性を示したが, *C. freundii* は腸内細菌の *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* No.13 および *S. marcescens* S-9 と同等の成績で, 石炭酸係数は大きかった。

7) マウス感染実験

a) 死亡率: *C. freundii* と対照菌の各成績を Table 4-1, 4-2 および Table 5 に示したが, *C. freundii* の

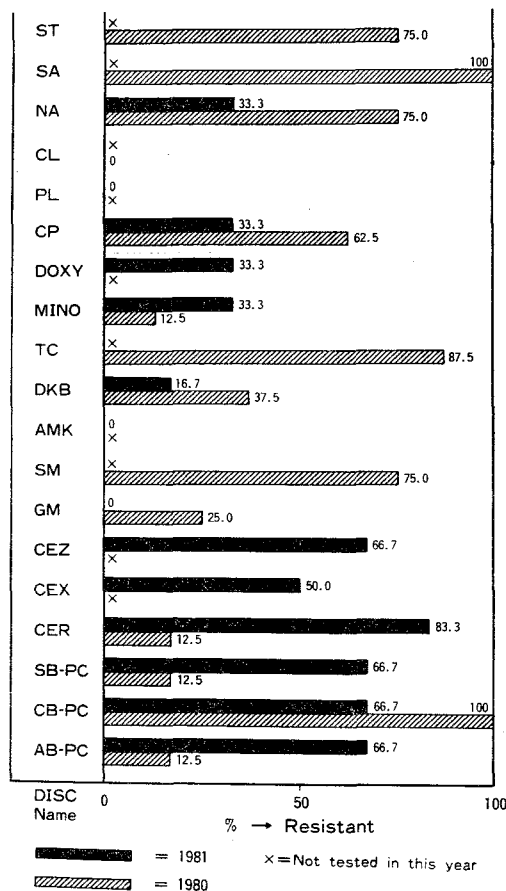


Fig. 11. Drug-resistance patterns of *Citrobacter freundii* from out-patients urine specimens.

感染力は、(i) No. 53 株のごとく 7.0×10^5 CFU/mouse の challenge で 100% mortality を示すような感染力の強い株、(ii) No. 11, No. 22, No. 45 のように 10^7 CFU/mouse の challenge に対し 0% mortality を示すもの、および (iii) その中間の病原性を有する株 No. 1, No. 7, No. 12, No. 16, No. 21, No. 30, No. 32 および No. 43) すなわち高濃度菌接種ではマウスを死亡させることができるが、中低濃度では死亡させることができないものの3つに大別された。Table 5 においては *S. marcescens* S-2 のみが 1.3×10^8 CFU/mouse challenge で 100% mortality を示したのみで、他の対照菌は高濃度接種による感染でもマウスを死亡させることはできなかった。

b) 臓器からの菌回収率：菌感染5日後に生存していたマウスに対する腎および膀胱内の菌の存在を、コロニー形成の有無で判定し、Table 4 および5に記載した。Table 4 に示すごとく *C. freundii* のうち No.

1, No. 12, No. 32 および No. 53 では 10^2 CFU/mouse 接種で mortality は0%であったが、腎および膀胱からは菌が検出された。No. 11, No. 21, No. 22, No. 30, No. 43 および No. 45 では 10^4 CFU/mouse の接種で、また No. 7 および No. 16 では 10^5 CFU/mouse の接種でそれぞれはじめて菌回収がなされた。Table 5 は対照菌の回収率で、すべての株において最低濃度接種で、臓器から菌が回収され、特に *Pr. mirabilis* 3003 でその程度が強かった。

Fig. 12 は *C. freundii* No. 12, 5.0×10^3 CFU/mouse 感染時の DHL 寒天平板培地を示し、左右両腎からほぼ同じ菌量が回収され、膀胱からもかなりの菌量で回収された。

c) 病理組織学的所見：Table 6 には肉眼および顕微鏡での病変を示したマウスの匹数をまとめたものであるが、肉眼的観察上明らかな病変が認められたのは No. 53 による感染例であって、マウスの半数以上において片側あるいは両側の腎上極に白変した病変が認められた。ついで No. 45, No. 11 および No. 21 の感染においては、マウスの約40%に同様な病変が認められた。しかし No. 30 においては、 7.3×10^6 CFU/mouse の接種にもかかわらず、マウス腎に肉眼的病変を認めなかった。

Fig. 13 に No. 53, 7.0×10^3 CFU/mouse 接種後の標本で、右腎上極全体および左腎上極の一部に病変が認められる。観察した172例のすべてにおいて腎の肥大は認められなかった。病理組織学的に腎に病変を認めたマウスは No. 12 および No. 53 接種の群に最も多く(約70%の頻度)、次いで No. 1 および No. 45 接種群(約60%)、No. 11, No. 21 および No. 32 接種群(約50%)、No. 30 接種群(14%)の順であった。全体としてマウスの半数近くに何らかの組織学的病変が認められた。

Fig. 14 は No. 53, 7.0×10^2 CFU/mouse 感染5日後の腎で、乳頭の壊死、腎盂に膿汁の貯留、髄質に化膿性炎症が認められ、典型的な化膿性腎盂腎炎の像を呈していたが、病理組織学的には、乳頭部の強い細胞浸潤、表層の剝離、破壊がみられ、集合管に細胞浸潤性の少ない、強度の壊死がみられる (Fig. 15)。

また、髄質内側部尿管内への好中球の浸潤があり、周囲の腎実質に化膿性炎症がみられ、その外側の尿管は拡張している (Fig. 16)。

自然治癒率を Table 6 に記した。No. 30 が85.7%と最も高く、感染力が弱いことを示しており、No. 7, No. 16, No. 43, No. 22, No. 32 の順であった。No. 12 および No. 53 は自然治癒率は低かった(約28%)。

Table 2. MIC distribution of 53 strains of newly isolated *Citrobacter freundii* from urine specimens against 24 antimicrobial agents.

Antibiotics	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)											(%)	
	<0.78	0.78	1.56	3.12	6.25	12.5	25	50	100	100<			
AB-PC						1	1	1			50	(94.3)	
SB-PC				1	2						50	(94.3)	
PI-PC			1	2				2			48	(91.0)	
PM-PC		3		1	1	4	8	28		1	7	(52.8)	
BRL-25000								12		37	4	(69.8)	
CEX											53	(100)	
CMZ							1	4	6		42	(79.3)	
CTM	3	1					1	22	5		21	(39.6)	
CPZ	3				1	1	24	11	1		11	(45.3)	
CTX	4			2	9	12	11	1			13	(24.5)	
CZX	4		1	2	4	15	9	5	2		11	(20.8)	
LMOX	5	1		9	16	5	1	7	3		6	(30.2)	
CMX	3	1		7	20	5	4	5	8			(37.7)	
T-1982	4					1	14	16	2		16	(26.4)	
SN-401	3		1	1			23	10	2		13	(43.4)	
CEZ										1	52	(98.1)	
CFX								1	2		50	(94.3)	
GM	12		1	3	5	9	19	2	2			(22.6)	
CINX				6	24	4	1	2	2		14	(45.3)	
FOM					17	33	2				1	(62.3)	
ST				6		4	5	2	1		35	(66.0)	
TMP	11		5		2						35	(20.8)	
NA				12	18	4	1				18	(34.0)	
PPA			28	2	3	1	3	10			6	(52.8)	

Table 3. Phenol coefficient of Hibitane and Osvan against representative microorganisms.

Organism		Phenol coefficient	
		Hibitane	Osvan
<i>C. freundii</i>	No. 12	15.0	35.0
	No. 21	10.0	25.0
	No. 53	15.8	36.8
<i>S. aureus</i>	209P JC-1	12.5	43.8
<i>E. coli</i>	NIHJ JC-2	21.1	31.6
<i>K. pneumoniae</i>	No. 13	7.9	26.3
<i>Ps. aeruginosa</i>	No. 12	6.3	12.5
<i>Pr. morgani</i>	Kono	2.6	5.6
<i>S. marcescens</i>	S-9	11.8	23.5

Hibitane: Chlorhexidine gluconate 5% (W/V)
Sumitomo Kagaku
Osvan: Benzalkoniumchloride 10% (W/V)
Takeda Yakuhin

考 察

複雑性尿路感染症の起炎菌は現在ではグラム陰性桿菌が大部分を占め、中でも *S. marcescens* や *Ps. aeruginosa* が大半を占めていることは周知の事実であるが、著者は上記菌以外に最近しばしば検出される *C. freundii* に注目し、その年次推移を観察するとともに、本菌の病原性についての基礎実験を行なった。

中牟田⁵⁾らは臨床分離菌の年次変遷に関する報告において、1978年までは *Citrobacter* が検出されなかったが、1979年に2.7%、1980年に4.2%と検出されたと報告している。永友⁶⁾は泌尿器科外来患者尿で1978年には3.2%、1979年には3.5%認めたとし、入院患者由来菌では5.6%から16.5%へと大巾な増加を見たと報告している。著者の成績によれば、当院泌尿器科における *C. freundii* の推移および Table 1 に示した検体別 *C. freundii* の分離株数の成績で示したごとく、1972年度の尿中分離率は3.4%であったが、1980年および1981年度では25.8%および39.9%と明らかに増加

Table 4-1. Mortality and infectivity titrations of ascending kidney infection with *Citrobacter freundii* in mice.

<i>C. freundii</i>	Challenge dose (CFU/mouse)	Mortality* rate (%)	Bacterial recovery rate**	
			Kidney (%)	Bladder (%)
No 1	2.2×10^7	66.7	100	100
	2.2×10^6	0	100	100
	2.2×10^5	0	66.7	100
	2.2×10^4	0	66.7	66.7
	2.2×10^3	0	66.7	66.7
	2.2×10^2	0	33.3	0
No 7	2.1×10^7	33.3	100	100
	2.1×10^6	0	33.3	33.3
	2.1×10^5	0	33.3	33.3
	2.1×10^4	0	0	0
	2.1×10^3	0	0	0
	2.1×10^2	0	0	0
No 11	1.0×10^8	100	—	—
	1.0×10^7	0	100	100
	1.0×10^6	0	100	100
	1.0×10^5	0	66.7	33.3
	1.0×10^4	0	0	33.3
	1.0×10^3	0	0	0
No 12	5.0×10^7	100	—	—
	5.0×10^6	100	—	—
	5.0×10^5	33.3	100	100
	5.0×10^4	0	100	100
	5.0×10^3	0	66.7	66.7
	5.0×10^2	0	33.3	0
No 16	1.0×10^7	33.3	100	100
	1.0×10^6	33.3	100	100
	1.0×10^5	0	33.3	33.3
	1.0×10^4	0	0	0
	1.0×10^3	0	0	0
	1.0×10^2	0	0	0
No 21	1.0×10^8	66.7	100	100
	1.0×10^7	33.3	100	100
	1.0×10^6	0	100	100
	1.0×10^5	0	33.3	66.7
	1.0×10^4	0	33.3	33.3
	1.0×10^3	0	0	0
No 22	3.1×10^7	0	100	100
	3.1×10^6	0	100	100
	3.1×10^5	0	33.3	33.3
	3.1×10^4	0	0	33.3
	3.1×10^3	0	0	0
	3.1×10^2	0	0	0

* Mortality was calculated at 5 days after challenge.

** Bacterial recovery tests were carried out with survived mice at 5 days after challenge.

しており、このことは前者らの報告と一致している。一方他科入院患者尿の *C. freundii* 検出率は減少しており、この結果全科的に見ると減少を示すに至った。このように当院全科尿由来菌中の *C. freundii* の検出率は減少しているものの、*C. freundii* は尿検体からの検出が他検体のそれよりも著しく多く、このことは *S. marcescens* に関する諸家の成績⁷⁻¹⁵⁾と同様であることがわかった。それ故尿路感染症起炎菌としての *C. freundii* の意義は重要であり、その動向に関しては十分な注意をはらう必要がある。また *C. freundii* は *S. marcescens* と同様、尿路に何らかの基礎疾患を有する患者から多く検出されていた。最近の *C. freundii* の感受性分布については、平均9剤に耐性を示し、4ないし5剤に感受性を示した。しかし1972年度の他科における *C. freundii* はすでに12剤中5薬剤にしか感受性を示さなかったことを考慮すると、診療科の違いは別にして1980年および1981年の感受性分布状況はあまり大

きな変化を示していないことがわかる。*C. freundii* の泌尿器科外来由来株数は少なかったので十分に検討を加えることができなかった。当院由来の *C. freundii* の大部分の株はβ-ラクタム系抗生物質に耐性を有していたが、AMK および PL には感受性を示した。永友⁶⁾ は本菌が PL および CL に感受性を示し、β-ラクタム系、アミノ配糖体系、マクロライド系に耐性を有しており、特に入院患者由来株にその傾向が強いと報告している。また岡本¹⁶⁾ は尿路感染症から分離された *Citrobacter* 92株の9剤に対するMICを求め、本菌の感受性はPM-PCに対して最も良く、次にPPA、NA、ST合剤の順であり、AB-PCには耐性を示したと報告している。著者の成績の中ではペニシリン系の中ではPM-PCは良好な感受性を示したが、PPA および NA にはおぼなかつた。ST合剤に対しては供試菌株の66%が100 μg/ml以上の耐性を示し岡本¹⁶⁾の報告と異なったパターンを示した。出口¹⁷⁾は

Table 4-2. Mortality and infectivity titrations of ascending kidney infection with *Citrobacter freundii* in mice.

<i>C. freundii</i>	Challenge dose (CFU/mouse)	Mortality* rate (%)	Bacterial recovery rate**	
			Kidney (%)	Bladder (%)
No 22	3.1×10^7	0	100	100
	3.1×10^6	0	100	100
	3.1×10^5	0	33.3	33.3
	3.1×10^4	0	0	33.3
	3.1×10^3	0	0	0
	3.1×10^2	0	0	0
No 30	7.3×10^7	100	—	—
	7.3×10^6	33.3	50	50
	7.3×10^5	0	33.3	33.3
	7.3×10^4	0	0	33.3
	7.3×10^3	0	0	0
	7.3×10^2	0	0	0
No 32	3.6×10^7	100	—	—
	3.6×10^6	33.3	100	100
	3.6×10^5	0	66.7	33.3
	3.6×10^4	0	33.3	33.3
	3.6×10^3	0	33.3	33.3
	3.6×10^2	0	33.3	33.3
No 43	7.6×10^7	66.7	100	100
	7.6×10^6	33.3	100	100
	7.6×10^5	33.3	66.7	66.7
	7.6×10^4	0	33.3	33.3
	7.6×10^3	0	0	0
	7.6×10^2	0	0	0
No 45	4.3×10^7	0	100	100
	4.3×10^6	0	100	100
	4.3×10^5	0	66.7	66.7
	4.3×10^4	0	66.7	33.3
	4.3×10^3	0	0	33.3
	4.3×10^2	100	—	—
No 53	7.0×10^7	100	—	—
	7.0×10^6	100	—	—
	7.0×10^5	100	—	—
	7.0×10^4	33.3	100	100
	7.0×10^3	33.3	100	100
	7.0×10^2	0	33.3	33.3

* Mortality was calculated at 5 days after challenge.

** Bacterial recovery tests were carried out with survived mice at 5 days after challenge.

複雑性尿路感染症 患者採取尿由来 *C. freundii* 50株の13剤に対する MIC を求め、これらの菌が PM-PC および GM に対し高い感受性を示し、 β -ラクタム系に対しては高度耐性を有していたと報告し、著者の成績と良く一致している。さらに出口は *Citrobacter* は *K. pneumoniae*, *Enterobacter* および *S. marcescens* と同様に耐性化が顕著な菌であると述べている。後藤¹⁸⁾は *C. freundii* は GM, CL, NA および PL に80%の高い感受性を示したと報告している。以上、程度の差こそあれ、*C. freundii* に対して感受性を示す薬剤は GM, CL, PL, NA および PPA があげられる。著者は新しく開発された抗生物質¹⁹⁻²⁸⁾の一部についてさらに MIC を求めたが、これらの薬剤の中にもすでに 100~400 μ g/ml 以上の株が多数認められた。これら耐性株は PPA, FOM および GM の方がむしろ有効であり、第3世代の抗生物質の中では、CMX が良好な効力を示した。このような *C. freundii* 分離頻度の増加および耐性化の事実は、1970年代より始まった泌尿器

科領域における *S. marcescens*^{29,30)} の急激な増加および薬剤耐性の増大を思いおこさざるを得ない。すなわち、*C. freundii* も泌尿器科由来の *S. marcescens* と同様の道をたどる危険性を十分に含んでいると考えられる。

C. freundii による院内感染を予防する目的で、消毒薬の効果について検討したところ、*C. freundii* は対照菌中の *E. coli* NIHJ JC-2, *K. pneumoniae* No.13 および *S. marcescens* S-9 と同様の成績で、それらの消毒薬に比較的殺菌されやすい成績であった。これに対し *K. pneumoniae* No.13, *Ps. aeruginosa* No.12 および *Pr. morgani* Kono はヒピテンに対し抵抗性を有し *Ps. aeruginosa* No.12 および *Pr. morgani* Kono はオスパンに対し抵抗性を示した。このことから *C. freundii* はヒピテンやオスパンの所定の濃度に5分間手指を浸しておけば、殺菌されることが判明した。

C. freundii の病原性を検討するため、マウスを用い腎盂腎炎発症の程度を検討した。通常、腎盂腎炎の感

Table 5. Mortality and infectivity titrations of ascending kidney infection with 6 gram-negative bacteria in mice.

Organisms		Challenge dose (CFU/mouse)	Mortality* rate (%)	Bacterial recovery rate**	
species	strain			Kidney (%)	Bladder (%)
<i>E. coli</i>	P-5101	1.5×10^7	0	100	100
		1.5×10^6	0	62.5	62.5
		1.5×10^5	0	50	75
		1.5×10^4	0	37.5	37.5
		1.5×10^3	0	12.5	12.5
<i>Pr.morganii</i>	Kono	1.6×10^7	0	50	62.5
		1.6×10^6	0	25	37.5
		1.6×10^5	0	0	12.5
		1.6×10^4	0	12.5	0
<i>Pr. mirabilis</i>	3003	2.0×10^7	20	100	100
		2.0×10^6	0	100	100
		2.0×10^5	0	100	100
		2.0×10^4	0	40	100
<i>k. pneumoniae</i>	No. 13	1.5×10^6	0	100	87.5
		1.5×10^5	0	100	100
		1.5×10^4	0	87.5	87.5
		1.5×10^3	0	37.5	50
		1.5×10^2	0	37.5	25
<i>S. marcescens</i>	S-2	1.3×10^8	100	—	—
		1.3×10^7	20	50	50
		1.3×10^6	0	20	40
<i>Ps. aeruginosa</i>	No. 12	1.5×10^5	0	100	100
		1.5×10^4	0	100	100
		1.5×10^3	0	100	62.5
		1.5×10^2	0	12.5	25

* Mortality was calculated at 5 days after challenge.

** Bacterial recovery tests were carried out with survived mice at 5 days after challenge.

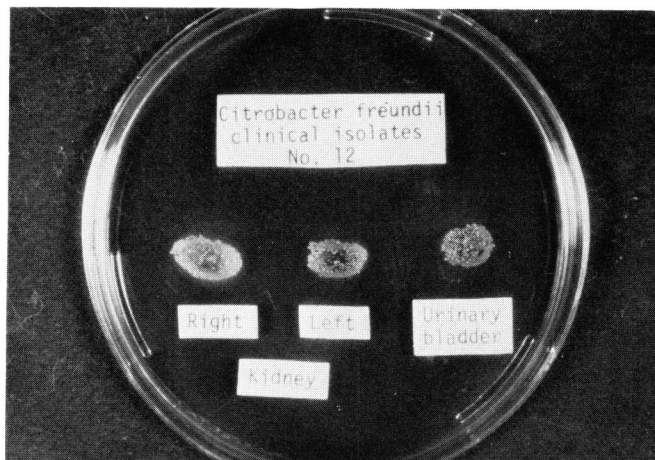
Fig. 12. Colonies on DHL platerial recovery by stamping method from the kidney and bladder of a mouse infected with No. 12, 5.0×10^3 CFU/mouse.

Table 6. Appearance of pathological changes in mouse kidney and rates of natural cure.

<i>C. freundii</i>	Number of mice	Range of challenge dose	Number of mice		Number of mice		Number of mice		Number of naturally cured mice (%)	
			dead	survived	GLK* %	NK** %				
No 1	18	2.2 × 10 ² ~10 ⁷	2	16	5	31.3	11	68.8	5	31.2
No 7	18	2.1 × 10 ² ~10 ⁷	1	17	2	11.8	4	23.5	13	76.5
No 11	18	1.0 × 10 ² ~10 ⁸ *	3	15	6	40.0	8	53.3	7	46.7
No 12	18	5.0 × 10 ² ~10 ⁷	7	11	6	54.5	8	72.7	3	27.3
No 16	18	1.0 × 10 ² ~10 ⁷	2	16	4	25.0	5	31.2	11	68.8
No 21	18	1.0 × 10 ² ~10 ⁸ *	3	15	6	40.0	8	53.3	7	46.7
No 22	18	3.1 × 10 ² ~10 ⁷	0	18	6	33.3	7	38.9	11	61.1
No 30	18	7.3 × 10 ² ~10 ⁷	4	14	0	0	2	14.3	12	85.7
No 32	18	3.6 × 10 ² ~10 ⁷	4	14	3	21.4	7	50.0	7	50.0
No 43	18	7.6 × 10 ² ~10 ⁷	4	14	3	21.4	5	35.7	9	64.3
No 45	15	4.3 × 10 ² ~10 ⁸ *	0	15	7	46.7	10	66.7	5	33.3
No 53	18	7.0 × 10 ² ~10 ⁷	11	7	4	57.1	5	71.4	2	28.6
Total	213		41	172	52	30.2	80	46.5	92	53.5

* GLK : Number of mice which had the gross lesion of kidney

** NK : Number of mice which had the necrosis of kidney as observed microscopically.



Fig. 13. The gross lesion of kidney and bladder of a mouse at 5 days after being infected with No. 53, 7.0 × 10² CFU/mouse.

染実験では、膀胱や尿道に前処理、例えば膀胱内異物挿入^{31~34)}や薬物処理^{35~39)}をおこない、また感染後数時間は外尿道口閉塞をおこない感染成立を補助しているが、著者は前処理をおこなわず、開腹手術にて膀胱を露出させ、直接に菌を接種する方法^{33~35)}を用いた。経尿道感染^{35,40~43)}の方が簡単であるが、尿道常在菌の混入を完全に除外できないと考えられるので、今回はこの方法は用いなかった。著者の実験において、*C. freundii* No. 11, No. 22 および No. 45 のように 10⁷ CFU/mouse を接種しても死亡率が0%である菌か

ら、No. 53 の様に 10⁵ CFU/mouse と接種菌量が少なくても 100% 死亡率を示すものもあり、菌株間の毒力にかなりの差があることが認められた。とくに No. 53 は対照菌のいずれよりも強い病原性を示した。*C. freundii* の接種菌量と死亡率に相関が認められたが、腎および膀胱からの菌の回収率は必ずしも一致しているとは限らず、膀胱よりも腎からの回収率の方が高かった例が2例あった。Norden⁴⁴⁾らは膀胱から腎に菌が逆行するには膀胱内での菌の増殖が必要であると報告しているが、*C. freundii* No. 12 および No. 32 のよ

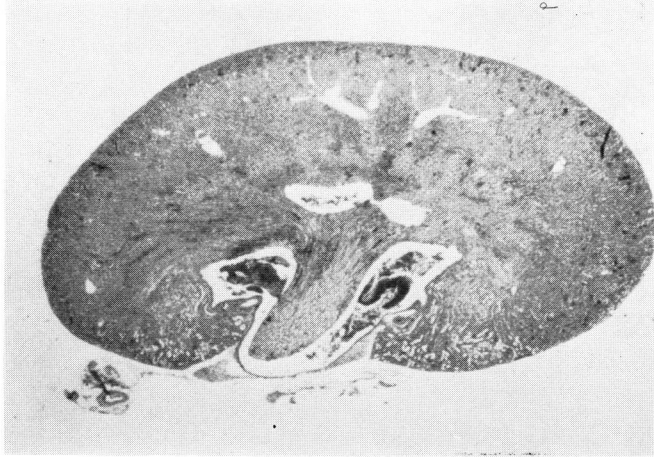


Fig. 14. Low magnification microphotograph of kidney at 5 days after infection with No. 53, 7.0×10^2 CFU/mouse.

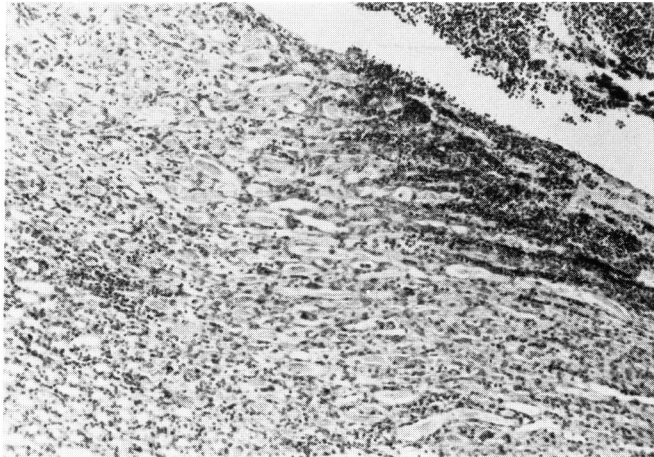


Fig. 15. The necrosis revealed in renal papilla of the same kidney of Fig. 14.

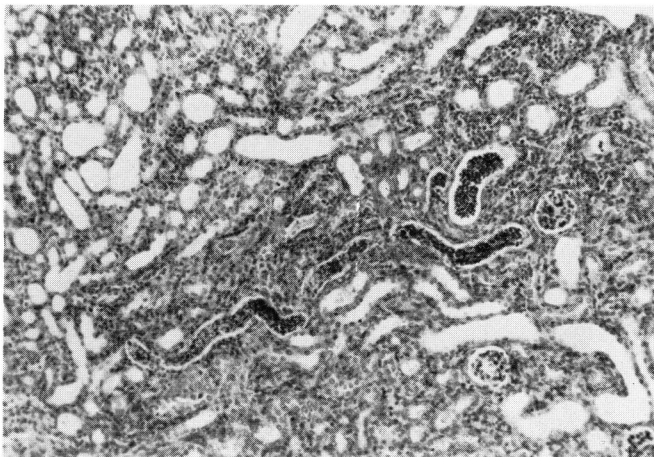


Fig. 16. The lesion of renal tubules of the same kidney of Fig. 14.

Table 7. Mortality and infectivity titrations of ascending kidney infection with *Citrobacter freundii* and 7 gram-negative bacteria in mice.

Organisms		LD ₅₀ (CFU/mouse)	ID ₅₀ (CFU/mouse)	
species	strain		Kidney	Bladder
<i>C. freundii</i>	No. 1	1.48 × 10 ⁷	1.62 × 10 ³	2.57 × 10 ²
	7	> 2.1 × 10 ⁷	1.3 × 10 ⁶	1.3 × 10 ⁶
	11	(5.0 × 10 ⁷)	6.76 × 10 ⁴	5.5 × 10 ⁴
	12	7.25 × 10 ⁸	1.32 × 10 ³	3.39 × 10 ³
	16	> 1.0 × 10 ⁷	1.45 × 10 ⁸	1.45 × 10 ⁸
	21	2.88 × 10 ⁷	5.5 × 10 ⁴	2.75 × 10 ⁴
	22	> 3.1 × 10 ⁷	4.47 × 10 ⁸	1.74 × 10 ⁸
	30	1.07 × 10 ⁷	2.51 × 10 ⁴	1.0 × 10 ⁶
	32	5.25 × 10 ⁶	1.74 × 10 ⁴	8.32 × 10 ⁴
	43	2.1 × 10 ⁷	2.19 × 10 ⁸	1.0 × 10 ⁸
	45	> 4.3 × 10 ⁷	5.63 × 10 ⁴	4.47 × 10 ⁴
	53	3.8 × 10 ⁴	1.0 × 10 ³	1.0 × 10 ³
	<i>E. coli</i>	P-5101	> 1.6 × 10 ⁶	7.25 × 10 ⁴
<i>Pr.morganii</i>	Kono	> 1.6 × 10 ⁶	4.27 × 10 ⁶	2.45 × 10 ⁶
<i>K. pneumoniae</i>	No. 13	1.28 × 10 ⁶	6.61 × 10 ²	7.76 × 10 ²
<i>S. marcescens</i>	S-2	2.57 × 10 ⁷	—	—
	S-9	2.0 × 10 ⁷	6.76 × 10 ⁶	4.17 × 10 ⁶
<i>Ps. aeruginosa</i>	No. 12	7.1 × 10 ⁸	3.54 × 10 ²	5.01 × 10 ²
<i>Pr. mirabilis</i>		> 2.0 × 10 ⁷	2.51 × 10 ⁴	< 2.0 × 10 ⁴

うに腎では菌が回収されたが、膀胱から菌が消失した例もあった。この説明として膀胱粘膜の殺菌作用⁴⁵⁻⁴⁸⁾および排菌作用^{46,47,49)}が考えられる。ところで今回のマウス感染実験に供した菌12株のうち多くのものが強い毒力を有し、死亡率や臓器からの菌回収率が高かったにもかかわらず、各種抗生物質に対するMICが良好であった。このような事実は、今後さらに菌側の要因である血清型、粘膜上皮細胞への粘着性等の検討が必要であることを示唆するものであろう。

C. freundii による腎の病変については、皮質より髓質外側部に膿瘍が見られることが多く、その周辺の尿管上皮に空胞変性あるいは壊死が認められ、腎盂には膿汁が貯留し、腎盂上皮や乳頭部の集合管に小膿瘍形成とその周辺組織の壊死が認められ、典型的な腎盂腎炎の組織像を呈していた。

結 語

神戸大学医学部附属病院における尿検体より分離同定された菌のうちとくに *C. freundii* の病原性について、基礎的、臨床的検討を加え、次の結論を得た。

1) 泌尿器科入院患者尿由来の *C. freundii* は、1972年度では3株、1980年度では462株中85株で18.4%、

1981年度では237株中45株で19.0%、同科外来患者尿由来のそれは、1980年度では169株中7株で4.1%、1981年度では94株中6株で6.4%と泌尿器科入院外来両方で増加していた。

2) 検体別 *C. freundii* の検出率において、尿からの検出が他検体のそれより著しく多く、1972年度では79.8%、1980年度では83.5%、1981年度では80%であり、そのうち泌尿器科尿由来率は1972年度では3.4%、1980年度では25.8%、1981年度では39.9%と年次的増加傾向を示していた。

3) *C. freundii* のディスクによる薬剤感受性は、AMK および PL が感受性を示した。β-ラクタム系薬剤のディスクには90%以上の株が耐性を示した。

4) 新鮮分離 *C. freundii* 53株に対して、24種の抗生物質のMICを測定したが、β-ラクタム系の抗生物質に対しては、100~400 μg/ml 以上の高度耐性を示す株が多かった。いわゆる第2、3世代の抗生物質に対してもかなりの耐性を有していたが、PPA (1.56 μg/ml)、FOM (12.5 μg/ml)、GM (0.78 μg/ml 以下および 25 μg/ml)、および CMX (6.25 μg/ml) に対しては、比較的良好な感受性を示した。

5) 常用されている消毒薬に対する石炭酸係数を求めたが、対照菌の腸内細菌と同等の石炭酸係数で、ヒビテンに対する *C. freundii* 3菌のそれは平均13.6、オスバンに対しては32.3であった。

6) 12株の *C. freundii* を用いて、マウス感染実験を行ない、感染死亡率および、菌回収率を算定した。その結果、菌数 No. 12 の 5.0 × 10⁸ CFU/mouse の challenge で 100% (LD₅₀ = 7.25 × 10⁸ CFU/mouse) および No. 53 の 7.0 × 10⁵ CFU/mouse の challenge で 100% (LD₅₀ = 3.8 × 10⁴ CFU/mouse)、とかなり強度の感染死亡率を有し、腎からの菌回収率では、同じ株において 5.0 × 10¹ CFU/mouse の challenge で 100% (ID₅₀ = 1.32 × 10³ CFU/mouse) および 7.0 × 10³ CFU/mouse の challenge で 100% (ID₅₀ = 1.0 × 10³ CFU/mouse) であり低濃度感染でも腎からの菌回収が認められるような強度の感染力を有する株を認めた。

7) 感染したマウスの肉眼的観察では、腎上部に白変した病巣を認めたが、腎の肥大は認められなかった。病理組織学的所見は、腎盂に膿汁が貯留し、腎盂上皮や乳頭部の集合管に小膿瘍が形成され、その周辺組織や間質の壊死が認められ、典型的な腎盂腎炎の病理所見を得た。

以上、*C. freundii* は病原性が強く、かつ尿より検出される頻度が高いことから、尿路感染症においては、起炎菌として留意すべきものと考えられる。

謝辞

稿を終るに当り、終始御指導御校閲の労を賜った。神戸大学医学部微生物学教室堀田 進教授ならびに本研究着手以来常に温かい御協力と御指導を賜った神戸大学医学部泌尿器科学教室石神襄次教授ならびに守殿貞夫助教授に深甚なる謝意を表します。また研究遂行にあたり多大な御協力をいただきました。神戸大学医学部微生物学的教室ならびに泌尿器科学教室の教室員各位に対し、深く感謝いたします。

なお本論文の要旨は、1981年12月、第29回日本化学療法学会西日本支部総会において発表した。

文 献

- 1) 齊藤 篤・井原裕宣: Opportunistic infection. 医学のあゆみ **III**: 976~981, 1979
- 2) 久米 光・奥平雅彦: 病理学的立場からみた opportunistic infection. モダンメディア **27**: 577~590, 1981
- 3) McGowan JE Jr, Finland M: Infection and antibiotic usage at Boston City Hospital: changes in prevalence during the decade 1964~1973. J Infect Dis **129**: 421~428, 1974
- 4) 日本化学療法学会理事会: 最小 2 倍阻 止濃度 (MIC) 測定法再検討 について Chemotherapy **29**: 76~79, 1981
- 5) 中牟田誠一・坂本泰樹・熊沢浄一・百瀬俊郎・竹森紘一: 尿路感染分離菌の年次的変遷 (第10報) 西日泌尿 **43**: 703~712, 1981
- 6) 永友和之・棚田敏夫・齊藤 康・新川 徹・長田幸夫・石沢端之・大滝幸哉・島田雅巳: 尿路感染分離菌の年次的変遷 (第2報). 西日泌尿 **43**: 713~718, 1981
- 7) Wilkowske CJ, Washington II JA, Wartin WJ, Ritts RE: *Serratia marcescens*: Biochemical characteristics, antibiotic susceptibility patterns, and clinical significance. JAMA **214**: 2157~2162, 1970
- 8) Allen SD, Couger KB: *Serratia marcescens* infection of urinary tract: A nosocomial infection. J Urol **101**: 621~623, 1969
- 9) Lancaster LJ: Role of *Serratia* species in urinary tract infections. Arch Intern Med **109**: 536~539, 1961
- 10) 本多端明・夏目 紘・村瀬達良・安藤 正・小幡浩司: 尿道留置カテーテルに伴うセラチア感染とその対策. 泌尿紀要 **22**: 249~255, 1976
- 11) 那須 勝・齊藤 厚・堤 恒雄・岩永正明・広田正毅: *Serratia* 感染症に関する臨床的研究. 最新医学 **31**: 1370~1375, 1976
- 12) 岸 洋一・高安久雄: セラチアによる尿路感染症の臨床的検討. 臨泌 **31**: 27~31, 1977
- 13) 藤村宣夫: 尿中分離 *Serratia marcescens* の意義. 西日泌尿 **40**: 693~698, 1978
- 14) 中牟田誠一・水之江義充・熊沢浄一・百瀬俊郎・竹森紘一: 尿路感染分離菌の年次的変遷 (第9報) 西日泌尿 **41**: 697~709, 1979
- 15) 酒井 茂・西尾 彰・熊本悦明: *Serratia marcescens* による尿路感染症に関する検討. Chemotherapy **28**: 723~729, 1980
- 16) 岡本綾子・前原敬悟・上田良弘・那須 勝・神木照雄・入 久巳・永井龍男・熊本悦明・酒井茂・茂田士郎・小酒井 望・小栗豊子: 尿路感染症分離菌 *E. coli*, *Klebsiella*, *Citrobacter* および *Proteus* に対する経口抗菌剤の抗菌力比較. Jap J Antibiotics **34**: 959~975, 1981
- 17) 出口浩一: 臨床分離高頻度分離菌株の主な抗菌性物質に対する感受性: 経年的推移に関する検討. 第1報. Jap J Antibiotics **34**: 1263~1277, 1981
- 18) 後藤俊弘・池村紘一郎・野辺 崇・角田和之: 尿路感染分離菌とその薬剤感受性について. 西日泌尿 **39**: 276~285, 1977
- 19) 五島瑳智子・辻 明良・小川正俊・宮崎修一・金子康子・桑原章吾: 7 位に methoxyimino 基, 3 位に methyl-tetrazol-thiomethyl 基を有する Cephalosporine 系新誘導体 Cefmenoxime (SCE-1365) の細菌学的評価. Chemotherapy **29**: 8~31, 1981
- 20) 土屋皖司・近藤正熙・木田 誠・中尾雅文・岩日朋幸・西 武・野路弓子・武内真理子・野崎幸正: Cefmenoxime (SCE-1365) 新広域 cephalosporin の in vitro および in vivo 抗菌作用について. Chemotherapy **29** (sup.1): 96~158, 1981
- 21) 三橋 進・井上松久: 6059-S の抗菌力について. Chemotherapy **28** (Sup.7): 35~41, 1980
- 22) 吉田 正・亀田康雄・元川清司: Oxacephem 系抗生物質 6059-S の in vitro 抗菌作用. Chemotherapy **28** (Sup.7): 86~131, 1980
- 23) 小酒井 望・小栗豊子: 各種臨床分離菌に対する Ceftizoxime の抗菌力の他のセファロsporin 剤との比較. Chemotherapy **28** (Sup.5): 24~37, 1980
- 24) 西田 実・上村利明・岡田直彦・松本佳巳・峯端弘・村川武雄: 新しい cephalosporin Ceftizo-

- xime (CZX) の in vitro および in vivo 抗菌作用. *Chemotherapy* **28** (Sup.5): 83~97, 1980
- 25) 小酒井 望・小栗豊子: 最近臨床材料から分離した各種病原細菌に対する Cefotaxime の抗菌力および他のセファロスポリン剤との比較について. *Chemotherapy* **28** (Sup. 1): 12~22, 1980
- 26) 俵 勝也・吉田 正・竹間盛夫・元川清司: Cinoxacin の in vitro 抗菌作用. *Chemotherapy* **28**: (Sup.4): 46~65, 1980
- 27) 南新三郎・松原信之・村岡拓己・倉茂達徳・三橋進: Cefoperazone (T-1551) の in vitro および in vivo 抗菌作用について. *Chemotherapy* **28** (Sup.6): 1~13, 1980
- 28) 小酒井 望・小栗豊子: 臨床材料から分離した各種病原細菌に対する Cefoperazone (T-1551) の抗菌力その他セファロスポリン剤との比較. *Chemotherapy* **28** (Sup.6): 14~27, 1980
- 29) 三田俊彦: *Serratia* の病原性と尿路感染症. 第23回日本化学療法学会西日本支部総会プログラム講演抄録: 26~27, 1975
- 30) 上田 泰・石山俊次・坂崎利一・川名林治・原耕平・副島林造・島田 馨・佐久一枝・紺野昌俊・西浦常雄・石神襄次・近藤捷嘉・柴田清人・斎藤 篤・清水喜八郎・辻 明良・五島達智子: *Serratia marcescens* に関する基礎的臨床的研究 第1報. *Chemotherapy* **27**: 841~847, 1979
- 31) 荒木 徹: 腎盂腎炎の細胞性免疫に関する研究—変形菌による実験的ラット逆行性腎盂腎炎における adoptive immunity. *日泌尿会誌* **69**: 771~779, 1977
- 32) Vivaldi E, Zangwill DP, Cotran R, Kass, EH: Experimental pyelonephritis consequent to induction of bacteriuria, *Biology of pyelonephritis*. Qunnin EL, Kass EH p 27~37 Little, Brown & Co., Boston, 1960
- 33) 熊沢浄一: 基礎疾患を伴う実験的腎盂腎炎に対する化学療法の効果. *西日泌尿* **33**: 183~189, 1971
- 34) Vivaldi E, Cotran R, Zangwill DP, Kass EH: Ascending infection as a mechanism in pathogenesis of experimental non obstructive pyelonephritis. *Proc Soc Exp Biol (N.Y.)* **102**: 242~244, 1959
- 35) 折戸松男: *Proteus mirabilis* による腎盂腎炎の化学療法に関する研究. *日泌尿会誌* **72**: 680~693, 1980
- 36) 松原秀三・遠藤久男・三木力夫・小川春樹・小山憲次郎: ラット腎盂腎炎モデル作成に関する研究—とくに BEA 前処理について. *Chemotherapy* **27**: 269~274, 1979
- 37) Mayo ME, Hinman F: Structure & function of the rabbit bladder altered by chronic obstruction or cystitis. *Invest Urol* **14**: 6~9, 1976
- 38) Parsons CL, Greenspon C, Moore SW, Mulholland SG: Role of surface mucin in primary antibacterial defense of bladder. *Urol* **9**: 48~52, 1977
- 39) 酒井 晃: 膀胱尿管逆流現象の発現機序に関する実験的研究. *日泌尿会誌* **64**: 238~251, 1973
- 40) Andersen BR, Jackson GG: Pyelitis an important factor in the pathogenesis of retrograde pyelonephritis. *J Exp Med* **114**: 375~384, 1961
- 41) 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. *感染症誌* **55**: 254~261, 1981
- 42) Cotran RS, Vivaldi E, Zangwill DP, Kass EH: Retrograde *Proteus* pyelonephritis in rats. Bacteriologic, pathogenic and fluorescent-antibody studies. *Am J Pathol* **43**: 1~31, 1963
- 43) Nishi T, Tsuchiya K: Experimental urinary tract infection with *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *Infect Immun* **22**: 508~515, 1978
- 44) Norden CW, Kass EH: Bladder defense mechanisms, urinary infections in the male. p.181~188, Workshop Committee on the Genitourinary System, National Academy of Science, Washington, D.C., 1969
- 45) Gobbs CG, Kaye D: Antibacterial activity of the urinary bladder. *J Clin Invest* **45**: 996, 1966
- 46) Cox CE, Hinman F Jr: Experiments with induced bacteriuria, vesical emptying and bacterial growth on the mechanism of bladder defense to infection. *J Urol* **86**: 739~748, 1961
- 47) Gillenwaters JY, Cardozo NC, Tyrone NO, Mulholland SG, Rerez JR: Bladder defense mechanism in the rat and rabbit, urinary infection in the male. p.177~180, Proceeding of Workshop Committee on the Genitourinary System, National Academy of Science, Washington, D.C., 1969
- 48) Vivaldi E, Munoz J, Zangwill DP, Kass EH: Factors affecting the clearance of bacteria within

the urinary tract, Progress in Pyelonephritis.
p.531~535, F.A. Davis Co., Philadelphia, 1965
49) Paquin AJ, Perez J Jr, Kunin CM, Foster EA:
Does the bladder possess an intrinsic antibac-

terial defense mechanism? J Clin Invest 44:
1084, 1965

(1982年1月18日受付)