

急性単純性尿路感染症の菌交代実験

信州大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 小川秋實 教授)

酒 井 善 之*

EXPERIMENTAL STUDIES ON SUPERINFECTION OF
ACUTE SIMPLE URINARY TRACT INFECTION

Yoshiyuki Sakai

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

Experimental acute simple urinary tract infections were induced in female rats to determine whether low-virulent bacteria can reside in the simple urinary tract, whether minor flora can co-exist with major flora, and whether the bacterial population changes when antibiotics, to which major flora is sensitive and minor flora is resistant, is administered. "*Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) and *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) were instilled into the bladder transurethraally. Most rats had more than 1×10^4 CFU/ml of *E. faecalis* and *P. aeruginosa* two and four days after inoculation. Rats were divided into three groups. Mitomycin C injection group, acetic acid bladder instillation group, hydrocortisone injection group. *E. faecalis* (1×10^7 CFS/ml) and *P. aeruginosa* (1×10^4 CFS/ml) were instilled into the bladder. Bacterial count of *E. faecalis* was over 1,000 times that of *P. aeruginosa* in 14 rats two days after inoculation and in two rats six days after inoculation. Ampicillin (ABPC) was administered once a day for four days from two to five days after inoculation under the same condition. Bacterial count of *E. faecalis* was over 1,000 times that of *P. aeruginosa* in 26 rats two days after inoculation. The bacterial population changed in seven of the 26 rats after administration of ABPC, and in three of the 12 untreated rats.

(Acta Urol. Jpn. 39: 919-922, 1993)

Key words: Acute simple urinary tract infection, Superinfection

結 言

慢性複雑性尿路感染症ではしばしば菌交代が起きるが、急性単純性尿路感染症では菌交代はごく稀である。また、慢性複雑性尿路感染症では複数菌感染であることが多いが、急性単純性尿路感染症はほとんどが単一菌による感染である。

これはなぜであろうか。その理由として、熊本¹⁾はつぎのような説を唱えている。急性単純性でも慢性複雑性でも、いろいろな組み合わせの細菌群が尿路に侵入してくることに変わりはない。宿主の感染防御能の破綻度の少ない単純性感染症では強毒菌しか定着しえないが、複雑性感染症では強毒菌のみならず弱毒菌も定着して感染発症に至る可能性が高い。また、複数菌種が定着した場合でも、ある菌種は増殖して major flora として、他の菌種は細菌検査で見逃されるような minor flora として定着している。抗生物質を投

与すると、薬剤感受性の高い major flora が消去され、薬剤耐性の高い minor flora が残り、菌交代を起こすことがある。

たしかに複雑性感染症では、複数菌感染の頻度が高く、いわゆる弱毒菌が分離されることが多い。また、交代菌は多剤耐性であることが多いことは、周知のとおりである。

しかし、単純性尿路感染症の場合は、はたして本当に強毒菌しか定着できないのであろうか。major flora と minor flora が共存することはないのであろうか。もし、共存することがあるならば、major flora には有効で minor flora には無効な抗生物質を投与すれば、菌交代が起きるのではないか。それを明らかにするために、以下の動物実験を行った。

材 料 と 方 法

1) 実験動物

Wister 系 7 週齢雌ラット (体重 110~130 g) を用

* 現: 市立甲府病院泌尿器科

いた。ラットに ampicillin (ABPC) 4 mg を皮下注射し、尿中の ABPC 濃度を測定した。3 時間後は 390 $\mu\text{g/ml}$, 6 時間後は 12.5 $\mu\text{g/ml}$, 12 時間後は 0.28 $\mu\text{g/ml}$, 18 時間以後は 0.25 $\mu\text{g/ml}$ 未満であった。

2) 接種細菌

尿道狭窄を基礎疾患とする47歳の慢性膀胱炎の男性患者の恥骨上膀胱穿刺尿から分離した, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) と *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) を使用した。両菌は混合感染しており、ともに β -lactamase 非産生株であった。日本化学療法学会標準法に準じて測定した ABPC の最小発育阻止濃度 (MIC) は, *E. faecalis* が 1×10^8 CFU/ml で 3.13 $\mu\text{g/ml}$, *P. aeruginosa* が 1×10^5 CFU/ml で 2,000 $\mu\text{g/ml}$ であった。細菌接種時には、それぞれトリプトソイブイオンで 37°C 一昼夜培養した細菌液を用いた。

3) 膀胱内細菌接種

ラットにペントバルビタールを 5 mg 腹腔内注射して麻酔した。外陰部を消毒用アルコールで消毒し、細菌液 0.2 ml をプラスチック製のマイクロチューブを使って経尿道的に膀胱内に注入した。細菌の定着を促す目的で、長さ 10 mm のマイクロチューブを経尿道的に異物として挿入し、外尿道口を10分間クランプした。マイクロチューブは、挿入後24時間以内にすべて自然排出された。

4) 尿定量培養

ラットをペントバルビタールの腹腔内注射で麻酔し、陰部をアルコールで消毒した後、マイクロチューブを使って経尿道的に 0.1 ml 採尿した。採尿後ただちに、腸球菌の選択培地である EF 寒天培地と緑膿菌の選択培地である NAC 寒天培地を用いて、37°C で48時間定量培養した。

実験 1

E. faecalis 細菌液と *P. aeruginosa* 細菌液を、それぞれ 1×10^6 CFU/ml になるように生理食塩水で希釈して混合し接種細菌液とした。18匹のラットに 0.2 ml を膀胱内に接種した。接種 2 日後と 4 日後に採尿して培養し *E. faecalis* と *P. aeruginosa* が定着できるか調べた。

実験 2

E. faecalis 細菌液 (1×10^8 CFU/ml) と希釈した *P. aeruginosa* 細菌液 (1×10^5 CFU/ml) を混合して接種細菌液とし、0.2 ml を膀胱内に注入し、2 日後と 6 日後に採尿して培養した。2 日後に *E. faecalis* の細菌数が *P. aeruginosa* の細菌数の 1,000 倍以上になるラットが何匹いるか、6 日後にはそのラットの細

菌数がどのように変化するかを調べた。易感染性を高めるために、ラットに下記の処置を施した。

- i) mitomycin C (MMC) 腹腔内注射群19匹は、細菌接種 5 日前に MMC 0.2 mg を腹腔内に注射した。
- ii) 酢酸膀胱内注入群13匹は、細菌接種直前に 0.5 mol 酢酸 0.2 ml を膀胱内に注入し、1 分後に排除して磷酸塩緩衝液で洗浄した。
- iii) コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム (コルチゾン) 皮下注射群23匹は、細菌接種当日、2 日後、4 日後にコルチゾン 10 mg を皮下注射した。

実験 3

細菌液は実験 2 と同様に調製した。ラットに細菌液を 0.2 ml 注入し、2 日後に採尿して培養した。2 日後の採尿直後、3 日後、4 日後、5 日後の4日間1日1回 ABPC を 4 mg 皮下注射した。6 日後に再度採尿して培養した。接種 2 日後の *E. faecalis* の細菌数が *P. aeruginosa* の細菌数の 1,000 倍以上のラットを対象とした。6 日後に、何匹に菌交代が起きるかを調べた。実験 2 に準じてラットに処置を施した。

i) MMC 腹腔内注射群は38匹

ii) 酢酸膀胱内注射群は22匹

iii) コルチゾン皮下注射群は25匹

実験 4

易感染性を高めるための処置を施さない場合にはどのくらいの頻度に菌交代が起きるか調べる目的で、46 匹の処置を施していないラットに実験 3 と同様の方法で実験を行った。

結 果

実験 1

人の尿路感染症に準じて 1×10^4 CFU/ml 以上を有意の細菌数とした。細菌接種 2 日後の尿中細菌数は、*E. faecalis* は18匹のうち17匹、*P. aeruginosa* は18匹すべてが 1×10^4 CFU/ml 以上であった。4 日後でも、*E. faecalis* は 18匹中14匹 (78%), *P. aeruginosa* は18匹中16匹 (89%) が 1×10^4 CFU/ml 以上であった (Table 1)。

Table 1. Number of rats that had over 1×10^4 CFU/ml of *E. faecalis* and *P. aeruginosa*

細菌接種後の日数	細菌数が 1×10^4 CFU/ml 以上のラット数 (匹)	
	<i>E. faecalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
2 日後	17/18 (94%)	18/18 (100%)
4 日後	14/18 (78%)	16/18 (89%)

Table 2. Change of bacterial count between two and six days after inoculation

処 置	2日後のE/P $\geq$ 1000 のラット数 (匹)	4日後のE/Pのラット数 (匹)			
		<1 (菌交代)	1 $\leq$ <1000	$\geq$ 1000	<i>P. aeruginosa</i> 消失
M M C	4	0	1	0	3
酢 酸	5	2	0	1	2
コルチゾン	5	1	1	1	2
合 計	14	3	2	2	7

E/P: *E. faecalis* の細菌数/ *P. aeruginosa* の細菌数

Table 3. Bacterial population change by administration of antibiotics

処 置	2日後のE/P $\geq$ 1000 のラット数 (匹)	4日後のE/P (匹)	
		<1 (菌交代)	<i>P. aeruginosa</i> 消失
M M C	5	0	5
酢 酸	3	1	2
コルチゾン	6	3	3
合 計	14	4	10

E/P: *E. faecalis* の細菌数/ *P. aeruginosa* の細菌数

実験2

E. faecalis の尿中細菌数が *P. aeruginosa* の尿中細菌数の1,000倍以上であったのは、

- i) MMC 腹腔内注射群19匹では、2日後には4匹であった。6日後には3匹は *P. aeruginosa* が消失し1匹は細菌数の差が1,000倍未満に縮まった。
- ii) 酢酸膀胱内注入群13匹では、2日後には5匹であった。6日後には2匹は *P. aeruginosa* が消失し2匹は菌交代が起きた。1匹だけが細菌数の差が1,000倍以上であった。
- iii) コルチゾン皮下注射群23匹は、2日後には5匹であった。6日後には2匹は *P. aeruginosa* が消失し1匹は菌交代が起きた。1匹は細菌数の差が1,000倍未満に縮まった。1匹だけが細菌数の差が1,000倍以上であった。

全体では、2日後には、55匹のうち14匹が *E. faecalis* の細菌数が *P. aeruginosa* の1,000倍以上であった。その14匹のうち、6日後には、7匹 (50%) で *P. aeruginosa* が消失し、3匹 (22%) が菌交代を起こした。2匹 (14%) は細菌数の差が1,000倍未満になり、2匹 (14%) だけが1,000倍以上であった (Table 2)。

実験3

細菌数接種2日後の *E. faecalis* の尿中細菌数が *P. aeruginosa* の1,000倍以上のラットを対象とした。

- i) MMC 腹腔内注射群38匹のうち5匹が対象となっ

たが菌交代は1匹も起きなかった。4匹は *P. aeruginosa* が消失し、1匹は減少した。

- ii) 酢酸膀胱内注入群22匹のうち3匹が対象となり、1匹に菌交代が起きた。残り2匹のうち1匹は *P. aeruginosa* が消失し、1匹は減少した。
- iii) コルチゾン皮下注射群25匹のうち6匹が対象となり、3匹に菌交代が起きた。残り3匹は *P. aeruginosa* が消失した。

全体としては85匹中14匹が対象となり、4匹 (29%) に菌交代が起きた。残りの10匹 (71%) は *P. aeruginosa* が消失ないし減少したために、菌交代が起きなかった (Table 3)。

実験4

無処置のラット46匹のうち12匹が対象となり、3匹 (25%) に菌交代が起きた。その他の9匹 (75%) は *P. aeruginosa* が消失した。

考 察

実験1で、弱毒菌といわれる *E. faecalis* と *P. aeruginosa* がラットの尿路にかなり高率に定着することが明らかになった。臨床では、急性単純性膀胱炎の原因菌は、*Escherichia coli* (*E. coli*) が80~90%を占めている。しかし、いわゆる日和見感染菌が、少数例ながら原因菌として分離されており²⁻⁴⁾、急性単純性尿路感染症でも弱毒菌が定着しうる。

筆者は、かつて尿路感染症例に選択培地を用いて尿定量培養を行ったことがある⁵⁾。尿細菌培養検査はかなりの誤差があるので⁶⁾、major flora の存在下では minor flora が相当見落とされているだろうと予想していたが、予想に反して少数菌の頻度は少なかった。河田ら⁷⁾によれば、少数菌が存在していても、主感染菌との間に1,000倍以上の細菌数の差があれば、臨床検査に使用される増殖培地では少数菌の検出は不可能である。実験2の結果から、1,000倍以上の細菌数の差がある major flora と minor flora が共存することはありうるが、その頻度は低く、日数がたつにつれて抗生物質を投与しなくても少数菌は自然に消滅していくことがわかった。これは、膀胱の感染防御機構によると考えられる⁸⁾。正常な尿路には強力な感染防御能があり、細菌が尿路に侵入しても感染症には至らないことが知られている^{9,10)}。

急性単純性膀胱炎では、菌交代の頻度は非常に低い^{2,7,11)}。ところが、実験3と4からは、菌交代の頻度は処置群も無処置群もともに20%台後半であった。実験3と4では、主感染菌には有効だが少数感染菌にはまったく無効な抗生物質を投与した。しかも投与は1日1回で4日間のみであった。一方、臨床で急性単純性尿路感染症の治療に用いられるのは、ニューキノロンやセフェム系などの、抗菌力が強く抗菌域の広い抗生物質である^{4,7,11)}。これらの抗生物質はきわめて高濃度に尿中に排泄されるので、少々感受性が低い菌にも充分に有効である。そのうえ、1日量を分2ないし分3で7日間程度投与するのが普通である。従って、菌交代が起きるのは、主感染菌と少数感染菌が共存していて、少数感染菌が投与された抗生物質にきわめて耐性の場合にかぎられる。しかも、実験2で判明したように、少数菌は抗生物質を投与しなくても自然に消滅ないし減少する傾向があるので、実験3と4のように菌交代を起こしやすいように造られた系でも、菌交代は20%台しか起きなかった。臨床でも、抗生物質の投与回数と投与期間が少なければ、菌交代がかなりの頻度で起こることが知られている¹²⁾。

実験3と4から、処置群と無処置群との間に菌交代の頻度に差がなかった。易感染性を高めるために行った処置だが、膀胱の感染防御力は低下させるには充分ではなかった。

文 献

- 1) 熊本悦明：尿路感染症における複数菌感染症。臨と細菌 8：141-150, 1982
- 2) 藤田公正, 村山猛男, 亀山周二, ほか：急性膀胱炎における尿中分離菌の MIC に関する検討。Chemotherapy 34：577-581, 1986
- 3) 兼松 稔, 林 秀治, 永井 司：女子急性単純性膀胱炎の臨床的研究。泌尿紀要 37：945-951, 1991
- 4) 近藤捷嘉, 近藤 淳：急性単純性膀胱炎に関する臨床的検討。西日泌尿 48：1519-1523, 1986
- 5) 酒井善之, 小川秋實：尿路感染症の菌交代における交代菌の由来の探求。日泌尿会誌 76：1717-1718, 1985
- 6) 河村信夫, 宮北英司, 稲土博右, ほか：尿中細菌検査に生じ得る誤差について。泌尿器外科 3：845-848, 1990
- 7) 河田幸道, 西浦常雄：尿路感染症における菌交代。医学の進歩 34：1759-1768, 1979
- 8) 折笠精一：膀胱の感染防御機構。臨泌 38：745-756, 1984
- 9) Cox CE and 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
- 10) Stacy C: Current diagnosis and treatment of urinary tract infections. Urology 40: 295-299, 1992
- 11) Faro S: New considerations in treatment of urinary tract infections in adults. Urology 39: 1-11, 1992
- 12) 坂田孝雄, 三宅弘治, 絹川常郎, ほか：急性単純性膀胱炎に対する Cefixime (CFIX) の1日1回投与への有用性について。泌尿紀要 38：1337-1342, 1992

(Received on March 18, 1993)
(Accepted on June 3, 1993)