

アデノウイルス結膜炎患者結膜における細菌感染

渡辺洋一郎¹⁾, 内尾 英一²⁾, 伊藤 典彦²⁾, 薄井 紀夫³⁾, 中川 尚⁴⁾
井上 幸次⁵⁾, 日隈陸太郎⁶⁾, 安里 良盛⁷⁾, 青木 功喜⁸⁾, 大野 重昭²⁾

¹⁾藤岡眼科病院, ²⁾横浜市立大学医学部眼科学教室, ³⁾東京医科大学眼科学教室, ⁴⁾東京女子医科大学眼科学教室,
⁵⁾大阪大学医学部眼科学教室, ⁶⁾日隈眼科医院, ⁷⁾安里眼科医院, ⁸⁾青木眼科医院

要 約

目 的：アデノウイルス感染結膜における細菌感染の検討を行った。

対象と方法：全国 6 施設において、アデノウイルス結膜炎が分離された症例 82 眼を対象に細菌培養を行った。アデノウイルスの免疫クロマトグラフィ (IC) 法および polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法による血清型同定, 単純ヘルペスウイルス (HSV) と *Chlamydia trachomatis* の PCR 法による検出を行った。

結 果：アデノウイルス結膜炎 82 眼のうち, 病原性細菌は 6 眼 (7.3%) から検出され, グラム陰性桿菌が 6 眼

中 5 眼であり, その多くは *Flavobacterium meningosepticum* (4 眼) であった。これらの混合感染症例からは, すべてアデノウイルス 8 型が分離された。HSV-1, *Chlamydia trachomatis* は検出されなかった。

結 論：グラム陰性桿菌, とりわけ *F. meningosepticum* はアデノウイルス結膜炎における重複細菌感染の主たる原因菌であることが示された。(日眼会誌 104: 555—558, 2000)

キーワード：アデノウイルス結膜炎, 細菌感染, *F. meningosepticum*, 重複感染

Bacterial Infection in the Conjunctiva of Patients with Adenoviral Conjunctivitis

Yoichiro Watanabe¹⁾, Eiichi Uchio²⁾, Norihiko Itoh²⁾, Norio Usui³⁾, Hisashi Nakagawa⁴⁾, Koji Inoue⁵⁾
Rikutarō Hinokuma⁶⁾, Yoshimori Asato⁷⁾, Koki Aoki⁸⁾ and Shigeaki Ohno²⁾

¹⁾Fujioka Eye Hospital, ²⁾Department of Ophthalmology, Yokohama City University School of Medicine

³⁾Department of Ophthalmology, Tokyo Medical University

⁴⁾Department of Ophthalmology, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine

⁵⁾Department of Ophthalmology, Osaka University Medical School

⁶⁾Hinokuma Eye Clinic, ⁷⁾Asato Eye Clinic, ⁸⁾Aoki Eye Clinic

Abstract

Purpose : We evaluate the microbiological features of mixed infection in adenovirus- infected conjunctiva.

Subjects : Isolation of bacteria was performed in 82 samples of adenoviral conjunctivitis at six eye clinics in Japan.

Methodods : For microbiological diagnosis, we performed immunochromatography (IC) and polymerase chain reaction -restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis for detection and serotyping of adenovirus, and PCR for detection of herpes simplex virus (HSV) and *Chlamydia trachomatis* antigens out of 82 samples with adenoviral conjunctivitis.

Results : Pathogenic bacteria were isolated in 6

samples out of 82. Out of these 6 cases, 5 samples were gram-negative rods and most of them were *Flavobacterium meningosepticum* (4 samples). Adenovirus type 8 was isolated from all these mixed infection cases. However, HSV-1 and *Chlamydia trachomatis* were not found.

Conculusions : From these results, it is suggested that gram-negative rods, especially *F. meningosepticum*, are the most common bacteria causing mixed bacterial infection in adenoviral conjunctivitis. (J Jpn Ophthalmol Soc 104: 555—558, 2000)

Key words : Adenovirus, Bacterial infection, *F. meningosepticum*, Mixed infection

別刷請求先：236-0004 横浜市金沢区福浦 3-9 横浜市立大学医学部眼科学教室 内尾 英一
(平成 11 年 5 月 17 日受付, 平成 12 年 2 月 28 日改訂受理)

Reprint requests to: Eiichi Uchio Department of Ophthalmology, Yokohama City University School of Medicine,
3-9 Fuku-ura, Kanazawa-ku, Yokohama 236-0004, Japan

(Received May 17, 1999 and accepted in revised form February 28, 2000)

表1 症例の内訳

施設名	眼数	期間(1997)
青木眼科	8	2/28~7/23
女子医大	11	2/17~4/28
東京医大	9	2/24~4/10
横浜市大	11	6/16~8/11
日隈眼科	20	4/14~7/7
安里眼科	23	2/5~2/17
合計	82	2/5~8/11

表2 アデノウイルス血清型別陽性率

血清型	3	7	8	19	37	合計
PCR 陽性	6	2	37	16	21	82
アデノチェック [®] 陽性	1	0	25	5	11	42
感度(%)	17	0	68	31	52	51

PCR: polymerase chain reaction

I 緒 言

アデノウイルス結膜炎は、我が国をはじめ、東南アジア諸国において頻度の高い感染症であり、臨床的にも公衆衛生学的にも重要な疾患である。近年、分子遺伝学および分子免疫学の進歩により、従来の細胞培養法を用いたアデノウイルスの分離および中和法による同定に加えて、polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法による血清型判定¹⁾や、免疫クロマトグラフィ法による迅速診断法²⁾が開発され、臨床的に用いられている。病因診断の進歩によって本症の臨床像は明らかになってきているが、重複感染に関しては、アデノウイルス結膜炎症例の3%からクラミジアがPCR法によって検出された報告³⁾がある以外は今まで報告されておらず、アデノウイルス結膜炎における細菌重複感染の実態は不明であった。

今回、我々は全国6施設において結膜拭い液からのアデノウイルスが検出された症例に対して細菌培養を行い、アデノウイルス感染結膜における細菌感染の状況をその地域差も含めて検討した。

II 対象および方法

今回の解析は、表1に示す全国6施設において prospective に多施設共同研究として行われた。全体としては1997年2月5日から8月11日の間に、各施設を受診した急性濾胞性結膜炎症例で、外来初診時に採取した結膜擦過物から細胞培養法によるアデノウイルス分離培養でウイルスが分離され、アデノウイルスであることが確認された症例82眼を対象に検討した。被験者にはあらかじめインフォームド・コンセントを十分行い、結膜擦過物を2検体採取し、一つの検体を用いてウイルス学的検索を、もう一つの検体を用いて細菌培養を行った。細菌培養は1日寒天培地で培養し、コロニーの範囲を肉眼的に確認後、1+, 2+, 3+と判定する簡易定量で行った。ウイルス学的検索は、免疫クロマトグラフィ (immunochromatography, IC) 法 (アデノチェック[®]) による迅速診断と、培養細胞を用いたウイルス分離およびPCR-RFLP法によるアデノウイルス DNA の検出と血清型同

III 結 果

定を行った。さらに同じ検体を用いて、PCR法による単純ヘルペスウイルス (HSV)⁴⁾と *Chlamydia trachomatis*⁵⁾ の検出も行った。

1. アデノウイルス分離および免疫クロマトグラフィ法

ウイルス分離培養法でアデノウイルスが検出され、今回対象とした対象症例82眼のうち、PCR法では82眼全例でアデノウイルスに特異的なバンドが出現し、感度、特異性ともに100%であったが、IC法では42眼のみで陽性で、感度は51.2%、特異性は100%であった。血清型別では8, 37, 19, 3, 7型の順に多く分離され、型別陽性率はD亜属(8, 19, 37型)に比し、B亜属(3, 7型)に対する感度は低かった(表2)。

2. 細菌培養

検出菌種の中で簡易定量2+以上を病原性細菌とみなした。γ-hemolytic streptococcus, α-hemolytic streptococcus, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus aureus* の4菌種は、細菌培養1+でも病原性細菌と判定した。病原性細菌陽性例はアデノウイルス陽性例の6眼(7.3%)から検出された。これらの中にグラム陰性桿菌が5眼から検出され、さらに、この5眼のうち4眼から *Flavobacterium meningosepticum* が得られた。また、*Corynebacterium* が1眼検出された。この全6例は沖縄における症例で、アデノウイルス8型からの症例であった。これらの症例の臨床像は細菌重複感染のない症例と特に差はなかった。

アデノウイルス陽性例からは検出された病原性と考えられない常在細菌は36眼/82眼(44%)であった。その内訳は、沖縄を除いた本土では *Propionibacterium acnes* が22眼/59眼(37%)と最も多く、次に、*Corynebacterium* 4眼/59眼(4.9%)、*Staphylococcus epidermidis* 2/59眼(2.4%)の順であった(表3)。沖縄における常在細菌も本土とは異なる傾向を示した(表4)。*P. acnes* が11眼/23眼(48%)と割合は本土と同様に多いものの、次に *F. meningosepticum* が10眼/23眼(43%)と多く、*Corynebacterium* は5眼/23眼(21%)であった。

3. ヘルペスウイルスおよびクラミジア

PCR法によってHSV-1, *Chlamydia trachomatis* は検出されなかった。

表 3 常在細菌の内訳(本土)

	検出眼数	割合(%)
<i>P. acnes</i>	22	37.3
<i>F. meningosepticum</i>	0	0
<i>Corynebacterium</i> sp.	4	4.9
<i>S. epidermidis</i>	2	2.4
検出なし	36	61.0

表 4 常在細菌の内訳(沖縄)

	検出眼数	割合(%)
<i>P. acnes</i>	11	48
<i>F. meningosepticum</i>	10	43
<i>Corynebacterium</i> sp.	5	21
<i>S. epidermidis</i>	0	0
検出なし	2	8.7

IV 考 按

今回の研究における IC 法のアデノウイルス検出の成績は、感度、特異性、血清型別陽性率のいずれも既報²⁾と同様のものではあった。初めて行われた全国レベルの多施設検討であったが、IC 法による迅速診断キットの特性は安定したものであると考えられた。

重複感染(multiple infection)とは、同一臓器が同時に2種以上の病原体によって感染を受けることをいう⁶⁾。これは広い疾患概念を含む用語で、混合感染(mixed infection)、多重感染(multiple infection)や二重感染(coinfection)はほぼ同義語であり、菌交代症(superinfection)も含まれる。複数菌感染の機序や分離された各病原体の病的意義は必ずしも明らかではなく、それぞれの典型的な病像を併せもつ必然性もない。

今までアデノウイルスと細菌の結膜における重複感染の報告はほとんどされていなかった⁷⁾。これは培地や培養方法の異なるアデノウイルスと細菌を同時に検査することの困難さに加えて、臨床症状の重症な D 亜属によるアデノウイルス結膜炎が欧米では低頻度であるために、臨床的な検討の対象になりにくいことがあるものと考えられる。アデノウイルスと細菌を急性角結膜炎において病因別に集計した報告はいくつかあるが、いずれも新生児ないし小児のものである⁸⁾⁹⁾。成人を含めた急性結膜炎および角結膜炎からアデノウイルスが75%から分離され、その15%に細菌ないし *Chlamydia trachomatis* が分離されたパキスタンの報告があるが、細菌と *Chlamydia trachomatis* の病原性に関する評価は行われていない⁹⁾¹⁰⁾。

今回の我々の結果で *Chlamydia trachomatis* は分離されなかったが、アデノウイルス結膜炎から病原性ありと考えられる細菌が6眼/82眼、7.3%から検出されたのは、前述の結果と比較的類似していたといえる。一般にアデノウイルスが増殖している結膜からの細菌が検出されることは少ないとされているが、構造的に未熟な幼児では重複感染は稀ではないとされている¹¹⁾。

今回の細菌重複感染と考えられる症例からすべてアデノウイルス8型症例から分離されていること、そして、中でも *F. meningosepticum* が多く検出されていることは注目すべき点である。アデノウイルスは、主として結膜の

上皮細胞に感染が生じ得る。結膜がアデノウイルスに対して上皮細胞が親和性のある受容体を有しており、アデノウイルスのファイバが接着して感染が始まるとされている。一方 *F. meningosepticum* は、自然界、特に土、水中に広く存在するブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌であり、病原性はあまり強くないとされている。今まで眼科領域における感染症例としては、角膜移植後に移植角膜に感染した症例が報告¹²⁾¹³⁾されている。眼科領域以外での症例は新生児髄膜炎、腎移植患者からの報告¹⁴⁾¹⁵⁾などがあり、*F. meningosepticum* は免疫状態が十分発達していないか、低下した compromised host に対してのみ感染しやすいと考えられている。

F. meningosepticum がアデノウイルス8型によるアデノウイルス結膜炎患者に感染しやすい理由は明らかでないが、その理由はいくつか考えられる。第一にアデノウイルス8型は増殖が遅く、細胞変性効果が出現するまで長期間を要するが、臨床的には重症で、院内感染を生じやすいことが知られている。結膜炎を発症し重症化した結膜の免疫機構が一時的に低下し、いわば compromised host の状況となって *F. meningosepticum* が感染しやすくなっている可能性が疑われる。第二に *F. meningosepticum* が分離されたのはいずれも沖縄の症例であったが、地域差に関連して、沖縄ではアデノウイルス結膜炎の発症頻度が年間を通して本土より非常に高率である地域的特徴があり¹⁶⁾、その血清型もアデノウイルス8型が卓越し¹⁷⁾、周期的に優位な血清型が変化する本土とはアデノウイルス結膜炎の臨床および疫学的に大きく異なっていることがあげられる。亜熱帯に位置する自然条件のために、沖縄では結膜常在細菌叢が本土とは異なり、アデノウイルス8型が血清型の中で大部分を占めていることとも関連して *F. meningosepticum* が重複細菌として分離された可能性が考えられる。この点については、感染免疫の立場から現在解明が進んでいるアデノウイルスのファイバとそのレセプターの解析に加えて、*F. meningosepticum* についても同様の検討が今後の課題といえる。アデノウイルス結膜炎も含め、それ以外の急性結膜炎における細菌の関与、さらに、正常対象における結膜常在細菌についての検討が必要なことも、今後の重要な検討項目であることは論を待たない。

文 献

- 1) Saitoh-Inagawa W, Oshima A, Ithoh N, Isobe K, Uchio E, Ohno S, et al: Rapid diagnosis of adenoviral conjunctivitis by PCR and restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol* 34: 2113—2116, 1996.
- 2) Uchio E, Aoki K, Saitoh W, Itoh N, Ohno S: Rapid diagnosis of adenoviral conjunctivitis on conjunctival swabs by 10-minute immunochromatography. *Ophthalmology* 104: 1294—1297, 1997.
- 3) Mellman-Rubin TL, Kowalski RP, Uhrin M, Gordon YJ: Incidence of adenoviral and chlamydial coinfection in acute follicular conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 119: 652—654, 1995.
- 4) Aono T, Murakami S, Yanagihara N, Yamanishi K: Detection of human alpha-herpesvirus DNA using consensus primers and specific probes. *Acta Otolaryngol Suppl (Stockh)* 514: 132—134, 1994.
- 5) Isobe K, Aoki K, Itoh N, Ohno S, Takashima I, Hashimoto N: Serotyping of Chlamydia trachomatis from inclusion conjunctivitis by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *Jpn J Ophthalmol* 40: 279—285, 1996.
- 6) 南山堂医学大辞典 第17版: 南山堂, 東京, 868, 1994.
- 7) 青木功喜: ウイルス性結膜炎の混合感染. *臨眼* 38: 174—175, 1984.
- 8) Harding SP, Mallinson H, Smith JL, Clearkin LG: Adult follicular conjunctivitis and neonatal ophthalmia in a Liverpool eye hospital, 1980—1984. *Eye* 1: 512—521, 1987.
- 9) Gigliotti F, Williams WT, Hayden FG, Hendley JO, Benjamin J, Dinckens M, et al: Etiology of acute conjunctivitis in children. *J Pediatr* 98: 531—536, 1981.
- 10) Woodland RM, Darougar S, Thaker U, Cornell L, Siddique M, Shah M: Causes of conjunctivitis and keratoconjunctivitis in Karachi, Pakistan. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 56: 317—320, 1992.
- 11) 青木功喜: 重複感染. 大野重昭(編): 結膜クリニック. 医学書院, 東京, 35, 1997.
- 12) Bucci FA, Holland EJ: *Flavobacterium meningosepticum* keratitis successfully treated with sulfamethoxazole. *Am J Ophthalmol* 111: 116—118, 1991.
- 13) Le François M, Braum JL: *Flavobacterium endophthalmitis* following keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 94: 1907—1909, 1976.
- 14) Abrahamsen TG, Mollnes TE, Vandvik B: Intrathecal immune response in neonatal *Flavobacterium meningosepticum* meningitis. *Biol Neonate* 68: 153—156, 1995.
- 15) Malagon M, Hogg RJ: Renal transplantation after prolonged dwell peritoneal dialysis in children. *Kidney Int* 31: 981—985, 1987.
- 16) 内尾英一, 青木功喜, 大野重昭: 流行性角結膜炎の発症頻度の地域差. *眼紀* 47: 597—601, 1996.
- 17) 内尾英一, 大野重昭, 石川秀夫, 照屋昌男, 松永 功, 青木功喜: 沖縄における流行性角結膜炎の長期時系列分析. *臨眼* 49: 435—438, 1995.