

## 外眼部感染症における表皮ブドウ球菌の病因的 役割に関する研究 (図 5, 表 8)

朝岡 勇 (東京女子医科大学附属第二病院)

### 要 約

外眼部感染症における原因菌としてのコアグラゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) について 57 眼を対象 (正常対象 14 眼) に分類を行った。さらにこれ等 CNS の薬剤感受性を検討し、ウサギ角膜に接種実験を行い下記の結果を得た。1. CNS を分類した結果 *S. epidermidis* は 43.9% であり他は、*S. hominis*, *S. capitis* などであり同定不能の菌が 38.6% も認められた。2. これ等 CNS の薬剤感受性は、アミノグリコシド系、マクロライド系薬剤に耐性のものが多く、現在、繁用されている点眼剤の種類と一致していた。3. 又、これ等 CNS のウサギ角膜への感染実験では強い感染による炎症所見を示したものは殆どなく、表皮ブドウ球菌そのものには殆ど病原性のないことが示され、現在の結膜炎の原因菌としての表皮ブドウ球菌はそれほど多いものではなく、宿主の抵抗性にその感染の主原因があるように思われた。(日眼会誌 93: 351—357, 1989)

キーワード：日和見感染, 表皮ブドウ球菌, コアグラゼ陰性ぶどう球菌, 外眼部感染症, 薬剤感受性

## Role of Staphylococcus Epidermidis in Outer Eye Infections

Isamu Asaoka

*Department of Ophthalmology, Tokyo Women's Medical College Daini Hospital,*

### Abstract

Coagulase-negative staphylococci (CNS) from 57 patients with outer eye infections and healthy control eyes were isolated according to the Schleifer and Cloos classification and the sensitivity to antibiotics of the isolated CNS was examined. The pathogenicity of CNS in rabbit cornea was studied by direct inoculation of CNS.

The results showed that of 57 strains of CNS, 25 strains (43.9%) belonged to *S. epidermidis*, 22 (38.6%) belonged to non-detectable strains, 4 (7%) belonged to *S. capitis*, 3 (5.3%) belonged to *S. hominis* and 2 (3.5%) belonged to *S. saprophyticus*.

Furthermore these CNS were resistant to aminoglycoside and macrolide antibiotics which are commonly used as eye drops for ocular infectious diseases. Control rabbit corneas inoculated with CNS almost became clear within 24 hours. Therefore, it was suggested that ocular CNS infections can occur in immunologically compromised host patients. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 93: 351—357, 1989)

**Key words:** Opportunistic infection, Staphylococcus epidermidis, Coagulase-negative staphylococci, Outer eye infectious disease, Antibiotic sensitivity

別刷請求先：116 荒川区西尾久 2-1-10 東京女子医大第二病院眼科 朝岡 勇  
(昭和63年11月28日受付, 平成元年 2 月 3 日改訂受理)

Reprint requests to: Isamu Asaoka, M.D. Tokyo Women's Medical College, Daini Hospital  
2-1-10 Nishioku, Arakawa-Ku, Tokyo 116, Japan

(Received November 28, 1988 and accepted in revised form February 3, 1989)

## I 緒 言

近年、眼科領域に限らず感染症の原因菌については強毒菌が問題であった時代から弱毒菌による日和見感染がクローズアップされる時代へと変遷して来た。

眼科領域においても感染症の原因菌に弱毒菌が数多く報告されている<sup>1)~3)</sup>。就中、人の結膜囊常在菌でもある表皮ブドウ球菌「Staphylococcus epidermidis (以下 S. epidermidis)」については結膜炎をはじめとして角膜炎や、眼内炎の原因菌としての報告も見られるようになって来た<sup>4)</sup>。しかしながら、外眼部感染症、特に結膜炎の原因菌としての表皮ブドウ球菌がはたして、それほど多くの結膜炎の原因菌になっているかどうかについては多くの問題が残るところである。

著者は、この点を明らかにすべく健康人と外眼部感染症患者の結膜囊より分離されたコアグラゼ陰性ブドウ球菌「Coagulase Negative Staphylococcus (以下 CNS)」について詳細な同定を行い、薬剤感受性を検索するとともにさらに同定された各 CNS についてウサギ眼角膜接種実験を行い、その病原性について検討を加え若干の結果を得たので報告する。

## II 実験材料及び方法

### 1. 材料

1) 当科外来を訪れた外眼部感染症例患者より分離した CNS 57株である。外眼部感染症患者の内訳は表 I の如く結膜炎44眼、涙囊炎7眼、角膜潰瘍6眼である。

2) 対照として健康人結膜囊より分離した CNS 14株を用いた。

3) 分離培地—血液寒天 (栄研)

チョコレート寒天 (栄研)

サブロー (栄研)

チオグリコレート (栄研)

ガム (栄研)

4) AP1 Staph-Ident System (Analytab Products Inc, Plainview (NY)) (アスカ純薬工業)

5) カジトン培地 (栄研)

6) 白色ウサギ約2,500gのもの40羽

7) 眼科用トレパン他実験器具一式

### 2. 方法

1) 結膜囊よりの菌の分離

当科外来を訪れた外眼部感染症患者について用意された5種の分離培地に結膜囊より滅菌硝子棒にて分泌

表1 対象とした外眼部感染症例

結膜炎	44眼
涙囊炎	7眼
角膜潰瘍	6眼

物を直接塗抹し、直ちに当病院中央検査科細菌室に分離同定を依頼した。

### 2) CNS の同定

中央検査部細菌室にて CNS と同定されたものについては直ちにカジトン培地に保存した。CNS の同定については図1の如く19種 (ブドウ糖, マンノース, 麦芽糖, 乳糖, トレハース, マンニット, キシリット, メリビオース, 硝酸カリウム,  $\alpha$ -メチルリン酸塩, ビルビン酸ナトリウム, ラフィノース, キシロース, 白糖,  $\alpha$ -チルグルコシド, N-アセチルグルコサミン, アルギニン, 尿素) の生化学的性状を調べる AP1-staph system を用いた。即ちカジトン培地に保存した菌を実験前日に血液寒天培地に増菌させた。18時間後、19種の基質に入れ、その反応色により番号をチェックした。1975年の Schleifer & Kloos<sup>5)6)</sup>の提唱した分類にしたがって分類同定を行った。

### 3) CNS の感受性テスト

同定された CNS について、栄研三濃度モノディスク法による薬剤感受性テストを施行した。検討を行った薬剤は SBPC (sulbenicillin), MCIPC (cloxacillin), CMX (cefmenoxime), KM (kanamycin), DKB (dibekacin), TOB (tobramycin), MCR (micronomicin), TC (tetracycline), MINO (minocycline), EM (erythromycin), CP (chloramphenicol), OFLX (ofloxacin) の12種の抗菌薬である。

### 4) ウサギ角膜への接種実験

角膜接種実験をはじめにあたり使用ウサギの結膜囊常在菌を調べる目的で人と同様の培地に菌の分離を試みた。その結果、CNS の存在しないものを実験対象とし、また、健康結膜を保有し外眼部炎症のないウサギを対象とした。先ずウサギ角膜を4%塩酸オキシブプロカイン (ベノキシール®) を1~2滴点眼して表面麻酔し、10分放置後滅菌食塩水で洗浄し術野を滅菌ドレープで覆った。煮沸消毒した8mm径トレパンを使用して深さ0.2mmに円型の創を作る。この時、トレパンは固定した角膜上で一回転させることとした。創が確認されたら、直ちにマクファーランド標準液 No. 05 ( $1.5 \times 10^8$ /ml 菌数) に調整した菌液を23G針にて2

表2 炎症反応のスコアー表

結膜炎	
3	高度充血・結膜腫張
2	中等度充血（血管判別困難）
1	軽度充血（血管を鮮明に透見できる）
0	正常
角膜炎	
3	肉眼で観察できるビラン・潰瘍
2	肉眼で観察できる混濁
1	顕微鏡でのみ観察できる細胞浸潤
0	正常
虹彩炎	
3	前房混濁のため虹彩血管透見不能
2	前房混濁のため虹彩血管を不鮮明に透見できる
1	軽度前房混濁を認めるが虹彩血管を鮮明に透見できる
0	正常

滴（約 $0.75 \times 10^7$ 菌数）滴下し、眼瞼の上から1～2回軽くマッサージを行った。一晚放置後翌日より肉眼と手持細隙灯顕微鏡にて1, 3, 7日目に2名の観察者により観察を行いその所見をチェックした。また、この時、5眼をコントロールとし生理食塩水を点眼した。

#### 5) 炎症反応のスコアーの設定

実験的炎症反応を判定する場合、現在まで定量的な良い方法が確立されていない。したがって今回は諸家の報告などを参考として著者独自の判定基準を考えた。即ち表2の如くスコアーを0～3までそれぞれ結膜炎、角膜炎、虹彩炎についてチェック出来るように設定した。

このスコアーにしたがってそれぞれのウサギ眼について炎症をチェックした。

### III 結果

#### 1. 本実験の背景因子について

本実験については表2に示すごとく外眼部感染症例57株、健常人から14株のCNSが対象となった。年齢は平均32.2歳、39.5歳。性別についても健常人の男性が3名とやや少なかったが、すべてこれ等の因子が結果に及ぼす影響はないと思われた。

#### 2. CNS 同定結果

外眼部感染症例患者57例から分離したCNSについてAPI1 staph systemを用いて同定し、Schleifer & Koolsの分類した結果を表4に示した。これによると感染症例では43%が*S. epidermidis*であり、ついで*S. capitis*, *S. hominis*の如く同定されたが同定不能の菌が22株38.6%も認められた。一方健常人14例について

表3 CNS分離実験対象の背景

	感染症例	健常人
CNS	57株	14株
症例数（眼数）	56（57）	13（14）
年齢（平均）	0～84（32.2）	21～78（39.5）
性別 男性（眼数）	25（26）	3（3）
女性（眼数）	31（31）	10（11）

表4 CNSの分離同定結果

	感染症例（%）	健常人（%）
<i>S. epidermidis</i>	25（43.9）	8（57.1）
<i>S. capitis</i>	4（7.0）	
<i>S. hominis</i> 1	3（5.3）	1（7.2）
<i>S. saprophyticus</i>	2（3.5）	
<i>S. xylosum</i> 2	1（1.7）	
同定不能	22（38.6）	5（35.7）
合計	57（100）	14（100）

表5 感染症患者よりのCNS分離同定結果の内訳

	結膜炎症例（%）	結膜炎以外症例（%）
<i>S. epidermidis</i>	17（38.6）	8（61.5）
<i>S. capitis</i>	3（6.8）	1（7.7）
<i>S. hominis</i> 1	2（4.5）	1（7.7）
<i>S. saprophyticus</i>	1（2.3）	1（7.7）
<i>S. xylosum</i> 2	1（2.3）	0（0）
同定不能	20（45.5）	2（15.4）
合計	44（100）	13（100）

も*S. epidermidis*は57.1%に、同定不能の菌が35.7%に認められている。さらに外眼部感染症例を結膜炎とその他の感染症例に分けて検討してみると表5の如く結膜炎においては、38.6%が*S. epidermidis*で他のものでは61.5%が*S. epidermidis*であった。同定不能のCNSについては、結膜炎で45.5%、他のものでは15.4%と圧倒的に結膜炎の症例が多いことが判明した。

#### 3. CNSの薬剤感受性

分類されたCNSについて*S. epidermidis*と他のCNSに分けて12種の薬剤感受性を検討したものが図3、図4、図5である。いずれの場合もアミノグリコシド系に対する耐性菌が顕著であった。これは現在使用されている点眼剤の使用率に比例する成績を示している。即ち、頻繁に使用する点眼薬はアミノグリコシド系薬剤であり、又アミノグリコシド系薬剤が最も多

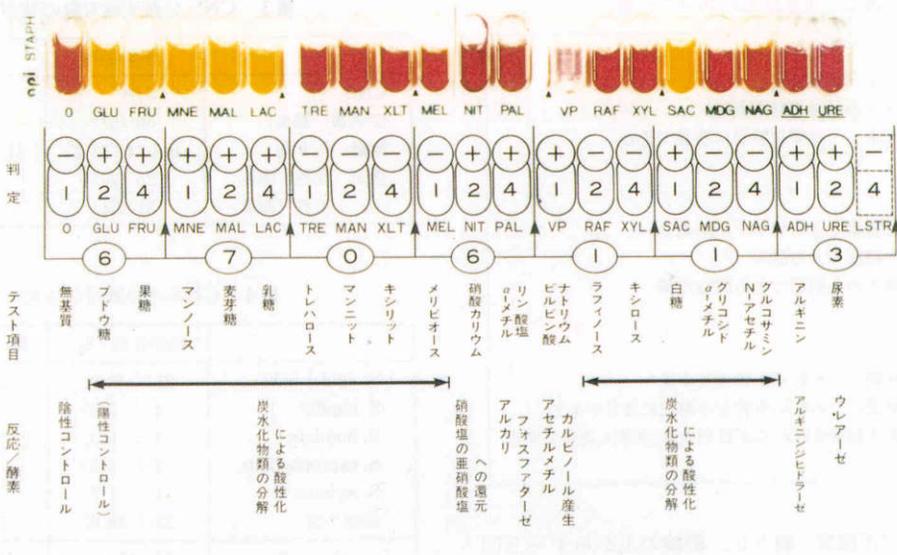


図1 Apl-Staph system による6706113: Staph. epidermidis のモデル

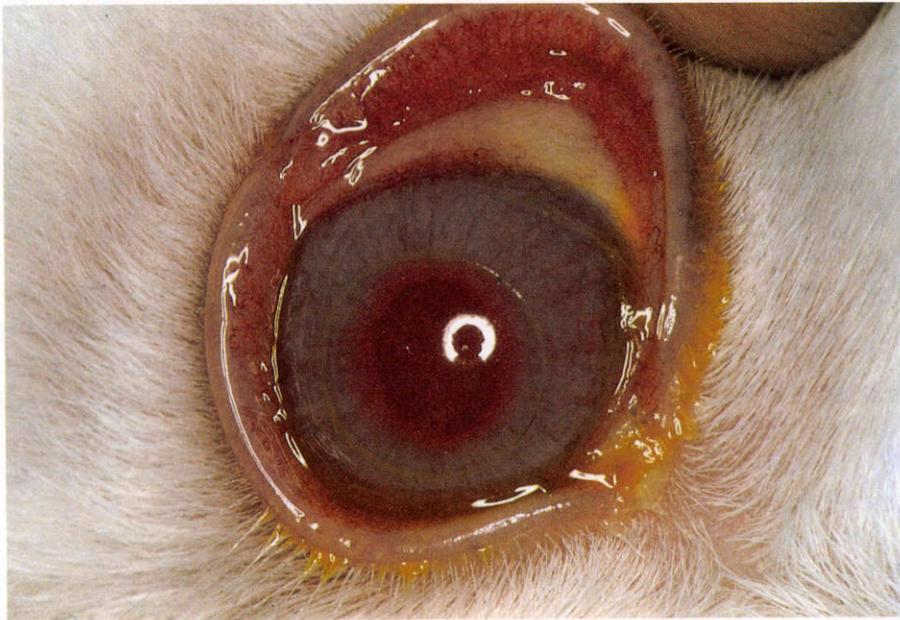


図2 CNS ウサギ角膜接種実験 (結膜炎スコア=1)

く点眼薬として開発されている。

4. CNS 角膜感染実験

CNSをウサギ角膜に感染させ1日, 3日, 7日目に観察し, その炎症強度をスコアにした成績を表6,

7, 8に示した。コントロール眼ではまったく炎症所見はみられず, すべてスコアは0であった。表にみる如く S. epidermidis については結膜炎症状も25眼中21眼までがスコア0であり殆ど重篤な所見はみられ

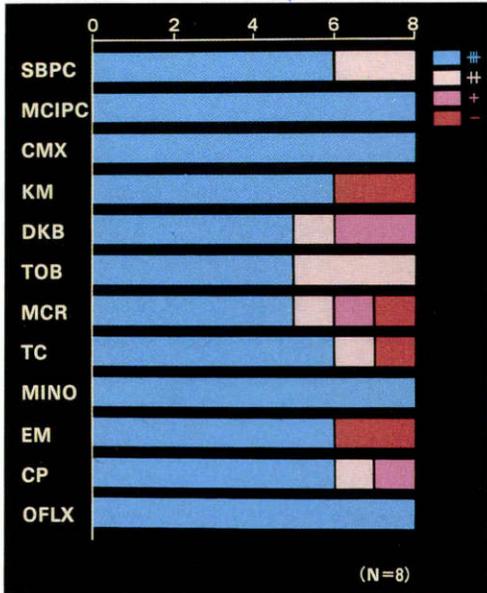


図3 S. epidermidis の薬剤感受性 (健常人)

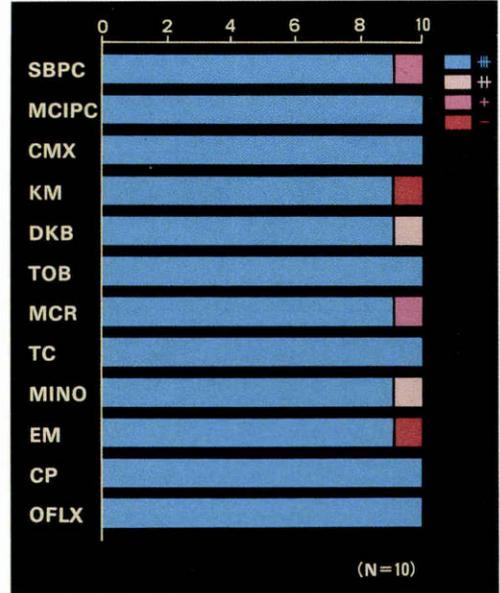


図5 S. epidermidis 以外の CNS の薬剤感受性

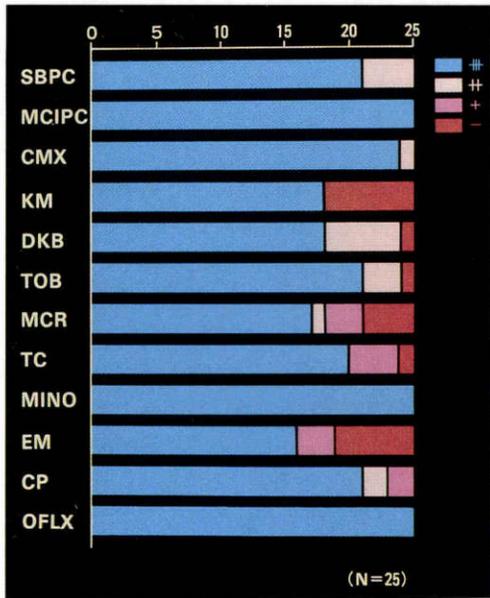


図4 S. epidermidis の薬剤感受性 (外眼部感染症)

なかった。また、角膜炎症状については、3日目の観察で25眼中一眼にのみスコア1がみられるだけであった。これ等の所見は、健常人から分離したCNSについてもまったく同様であり、患者分離のS. epidermidis と健常人分離のS. epidermidis の間に病因的強

表6 CNS ウサギ角膜接種実験結膜炎の所見

		スコア			
		3	2	1	0
S. epidermidis (N=25)	1日目	0	1	3	21
	3日目	0	0	4	21
	7日目	0	0	5	20
その他の菌 (N=10)	1日目	0	1	0	9
	3日目	0	1	0	9
	7日目	0	0	3	7
健常人 (N=8)	1日目	0	0	3	5
	3日目	0	0	3	5
	7日目	0	0	0	8

表7 CNS ウサギ角膜接種実験の角膜炎の所見

		スコア			
		3	2	1	0
S. epidermidis (N=25)	1日目	0	0	0	25
	3日目	0	0	1	24
	7日目	0	0	0	25
その他の菌 (N=10)	1日目	0	0	3	7
	3日目	0	0	1	9
	7日目	0	0	1	9
健常人 (N=8)	1日目	0	0	0	8
	3日目	0	0	0	8
	7日目	0	0	0	8

表8 CNS ウサギ角膜接種実験の虹彩炎の所見

		スコア			
		3	2	1	0
S. epidermidis (N=25)	1日目	0	0	2	23
	3日目	0	0	1	24
	7日目	0	0	1	24
その他の菌 (N=10)	1日目	0	1	1	8
	3日目	0	0	1	9
	7日目	0	0	3	7
健常人 (N=8)	1日目	0	1	0	7
	3日目	0	0	1	7
	7日目	0	0	1	7

度の差はみられなかった。又虹彩炎症状についても同様の結果であり、スコア1以上を示すものは殆どなかった。

#### IV 考 案

日常臨床において結膜炎の原因菌を検索する時、結膜囊からの分離菌が表皮ブドウ球菌であることが多い。そこでグラム陽性球菌に対する感受性の抗生物質点眼を処方すると、菌はすでに3日目の検査で消失していることが殆どである。しかし菌消失後1週間たっても結膜炎の症状が軽減されないと言う症例にしばしば遭遇する。こう言ったケースの場合、はたして原因菌を表皮ブドウ球菌として良いか、そのために症状が出ているのかという疑問が出て来る。即ち菌消失後も炎症症状が続くのならそれは原因菌として考えにくいと言うことである。

今回私は前述の事実について検討を加える目的で、また、眼科領域の CNS が S. epidermidis 以外、現在までまったく臨床に注目を集めていないことに鑑み、CNS の詳細な検討を行うことを第一目標とした。その結果、眼科領域、言いかえれば結膜囊常在菌として現在まで一般にすべて表皮ブドウ球菌とされていた CNS のうち真の表皮ブドウ球菌は約70%前後であり、他に S. hominis, S. capitis, S. simulance, など数種の CNS が存在し、さらに Api staph system では同定不能の菌がかなりの% (約20%前後か) で存在するであろうことが示唆された。以上の事より、今日まで施設の検査室からもどって来る表皮ブドウ球菌とされたものの中に、多くの他の staphylococcus 属の菌が含まれていることは間違いない事実であろう。一方これらの CNS がどのような薬剤感受性パターンを示すかに

ついて検討を加えることは現在市販の点眼薬がどのようなものであり、眼組織常在菌にどのように影響を及ぼしているかを察知するものに大変重要なことである。即ち近年メチシリン、セフェム耐性のブドウ球菌属「Methicilin Cephem Resistant Staphylococcus Aureus(以下 MRSA), Methicilin Cephem Resistant Staphylococcus Epidermidis (以下 MRSE)」が問題となりはじめ、このような多剤耐性ブドウ球菌が眼感染症でも注目を集めるようになって来た<sup>7)</sup>。元来、多剤耐性ブドウ球菌は黄色ブドウ球菌よりも表皮ブドウ球菌に多くみられるのが特徴であり、したがって結膜に存在する表皮ブドウ球菌が多くの耐性を獲得して行くことは、眼感染症のパターンをより広範な複雑なものにして行くと思われる。このような事実にもとずき著者は今回、分離された CNS について薬剤感受性パターンを検討した。その結果、健常人からの表皮ブドウ球菌も KM, DKM, MCR, TOB などのアミノグリコシド系薬剤と TG 系、マクロライド系薬剤に耐性を獲得している菌がかなり存在していることがわかった。これ等耐性菌の存在する薬剤はすべて現在点眼薬として開発、市販されているものであり、OFLX, CMX など市販された直後の新しい点眼剤では殆ど耐性株はみられていない。このことは市販の抗生剤点眼薬が如何に多く広く乱用されているかが示唆される結果である。更に健常人にも同様な結果がみられたことは興味深く、健常人群にも過去においてこれ等薬剤を使用したとも考えられるが耐性菌がすでに感受性菌を駆逐し、常在菌として定着しつつある可能性を示唆していると考えられる。したがって点眼剤の使用で容易に耐性菌が出現するであろうことを示唆している。こう言った意味で新しい新キノロン剤やセフェム系の薬剤に対しても慎重な使用法を啓蒙すべきであろう。さてこれ等 CNS にどのような病因的意義があるか検討することは大変興味のあるところである。Valenton M. J.<sup>8)</sup>は眼瞼結膜炎の患者から分離した S. epidermidis に毒素を産生する株がありこの培養濾液が結膜炎や眼瞼炎をウサギに起すことが出来ると報告している。しかし、この株が果して kloos の分離に基づいた我々の S. epidermidis と同じものであるかどうかは、はっきりしない。あるいは他の、CNS の1 strain である可能性もあろう。又、Mahajan V.U.<sup>9)</sup>等も CNS を動物眼に接種することによって外眼部の炎症症状を惹起することが出来ることを報告している。私は今回分離した同定不能以外の全株について角膜感染実験を行ないそ

の病原性について検討を加えた。しかしその結果は明かな結膜炎、あるいは角膜炎症状を呈する株は一株もなく、わずかに *S. hominis* に軽い結膜炎症状を呈したものがあつたにすぎない。そこでさらに現在数羽のウサギ眼に steroid 剤の点眼を2週間継続して行ない局所を immunological compromised host とした状態で感染実験を行っているが今のところこの状態でも感染による強い炎症は起っていない。やはり全身的な免疫能低下の状態をつくり出して検討するべきであろうと考えている。又、今回の実験では同定不能の菌については感染実験を施行していないのでこれ等の菌の中に病原性を持つものがある可能性もある。いずれにしても今回の私の研究において外眼部から分離される CNS のうち *S. epidermidis* は60~70%であり他は他の CNS か同定不能のものであつた。又これ等の菌が我々が考えているほど結膜炎をはじめとする外眼部感染に真の原因菌として関与していることは少ない。宿主の抵抗性の極端におちた症例のみに真の感染の意義があるように思われる。以上に関して今後さらに詳細な検討が必要であろうことを本研究は示唆したものと考える。

稿を終えるにあたり、宮永嘉隆教授の御指導、御校閲、並びに内田幸男主任教授の御校閲を深謝いたします。

尚、本論文の要旨は第92回日本眼科学会総会一般講演で発表した。

## 文 献

- 1) Riedel KG, Rudin SR, McMahon MS, et al: Histopathologic study of changes occurring in eyes with intraocular lens implantation. *Acta Ophthalmol* 63(Suppl 170): 11-33, 1985.
- 2) Puliafito CA, Baker AS, Haaf J, et al: Infectious endophthalmitis, review of 35 cases. *Ophthalmology* 89: 921-929, 1982.
- 3) Dougherty JM, McCulley JO: Bacterial lipases and chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 486-491, 1986.
- 4) 宮永嘉隆: 眼手術滅菌法. *臨床眼科* 41: 1065-1068, 1987.
- 5) Kloos WE, Schleifer KH: Simplified scheme for routine identification species. *J Clin Microbiol* 1: 82-88, 1975.
- 6) Kloos WE, Schleifer KH, Smith RF: Calculation of staphylococcus sciuri sp nov and its subspecies 1. *Int J Syst Bacteriol* 26: 22-37, 1976.
- 7) 宮永嘉隆: MRSA 感染症—眼科領域の MRSA—。ライフサイエンス, 103-112, 1987.
- 8) Valenton MJ, Okumoto M: Toxin-producing strains of staphylococcus epidermidis (albus). *Arch Ophthalmol* 89: 186-189, 1973.
- 9) Mahajan VM, Alexander TA, et al: Role of coagulase-negative staphylococci and micrococci in ocular disease. *J Clin Pathol* 33: 1169-1173, 1980.