

## コンタクトレンズ装用者保存液からの アカントアメーバの培養について

渡邊 亮子<sup>1)</sup>, 石橋 康久<sup>2)</sup>, 本村 幸子<sup>3)</sup>, 石井 圭一<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>猿島協同病院眼科, <sup>2)</sup>東京女子医科大学第二病院眼科

<sup>3)</sup>筑波大学臨床医学系眼科, <sup>4)</sup>法政大学生物学研究室

### 要 約

アカントアメーバ角膜炎の発症とコンタクトレンズ装用の関連が重要視されていることから、コンタクトレンズ保存液のアカントアメーバによる汚染状況を調査し、汚染をもたらす要因と予防法について検討した。角膜炎を伴っていないコンタクトレンズ装用者93名を対象とし、アンケート票を用いた調査によってコンタクトレンズの管理状況について明らかにするとともに、保存液の一部を採取したものを検体としてアカントアメーバの培養を行った。その結果、93例中9例に自由生活性のア

メーバが検出され、うち4例がアカントアメーバであった。比率としてソフト系コンタクトレンズの場合に陽性例が多くみられ、また、水道水を用いているもの、煮沸消毒を行わないもので、陽性率が高かった。(日眼会誌 98:477-480, 1994)

キーワード: アカントアメーバ, コンタクトレンズ, コンタクトレンズ保存液

## Acanthamoeba Isolation from Contact Lens Solution of Contact Lens Wearers without Keratitis

Ryoko Watanabe<sup>1)</sup>, Yasuhisa Ishibashi<sup>2)</sup>, Sachiko Hommura<sup>3)</sup> and Keiichi Ishii<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Eye Clinic, Sashima-Kyodo Hospital

<sup>2)</sup>Department of Ophthalmology, Second Hospital, Tokyo Womens Medical University

<sup>3)</sup>Department of Ophthalmology, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba

<sup>4)</sup>Laboratory of Biology, Hosei University

### Abstract

Acanthamoeba keratitis seems to be associated with wearing contact lenses. As controls, we surveyed contact lens wearers without keratitis. Contact lens solutions of 93 persons were examined in order to identify risk factors for contamination by Acanthamoeba. Therefore, the contact lens disinfection system and storage schedules were studied in each case. Acanthamoeba organisms were isolated from 4 specimens (4.3%). The incidence of

Acanthamoeba was higher in specimens of soft contact lens solution than in those of hard contact lens solution, and all the Acanthamoeba positive cases had been using tap water. (J Jpn Ophthalmol Soc 98:477-480, 1994)

Key words: Contact lenses, Contact lens solution, Acanthamoeba

### I 緒 言

アカントアメーバによる角膜炎は、1974年に Nagington<sup>1)</sup>によって初めて報告されて以来、欧米において注目され、多数の報告例をみてきた。そのなかで本症の発

症におけるコンタクトレンズ装用との関連が明らかとなり<sup>2)-8)</sup>、コンタクトレンズ装用による角膜上皮障害とコンタクトレンズ保存液の汚染が、本症の発症要因として重要視されてきている<sup>8)</sup>。

本邦においては、1988年に我々<sup>9)</sup>がその第1例を報告

別刷請求先: 305 茨城県つくば市並木4-1-1 421-207 渡邊 亮子

(平成4年4月29日受付, 平成6年1月17日改訂受理)

Reprint requests to: Ryoko Watanabe, M.D. 421-207 4-1-1 Namiki, Tukuba-shi, Ibaraki-ken 305, Japan

(Received April 29, 1992 and accepted in revised form January 17, 1994)

し、その後臨床診断例1例、確実例5例の自験例があるが<sup>10)~12)</sup>、これらのうち1例を除いてすべてコンタクトレンズの装用者であり、その保存液からアカントアメーバが分離されている。また、他施設からの報告<sup>13)~16)</sup>においても、同様にコンタクトレンズ装用との関連が示唆されている。米国では、Stehr-Greenら<sup>17)</sup>がアカントアメーバ角膜炎発症者と角膜炎を伴っていないコンタクトレンズ装用者との間でcase-control studyを行い、角膜炎を伴っていない装用者のコンタクトレンズ保存液からも2.5%にアカントアメーバが分離されたと報告している。本邦では、加藤ら<sup>18)</sup>がソフトコンタクトレンズ装用者の保存液の微生物学的汚染状況を調査し、アカントアメーバの検出率として4.2%との数字を示している。以前我々<sup>19)</sup>が行った報告では、対象10例のすべてが陰性であったが、今回、母集団を広げ、また培養実験の方法を一部変更して、アカントアメーバによるコンタクトレンズ保存液の汚染状況の実態を明らかにすることを目的として実験を行った。その結果、コンタクトレンズ保存液は、Stehr-Greenら<sup>17)</sup>、加藤ら<sup>18)</sup>によって示されたと同様に、かなりの頻度で汚染されていることが明らかとなり、コンタクトレンズの使用状況とアカントアメーバ角膜炎の関連、およびその予防に関して若干の考察を加えたので報告する。

## II 対象および方法

角膜炎を伴っていないコンタクトレンズ装用者93名を対象とした。地域的には、東京地区12名、筑波学園地区81名であった。コンタクトレンズの管理状況について、表1に示す項目についてアンケート票を用いて調査を行い、コンタクトレンズの種類、保存液の種類、消毒・洗浄の方法を各症例について明らかにした。

表1 アンケート票調査項目

|                     |
|---------------------|
| ・現在装用中コンタクトレンズの使用期間 |
| ・コンタクトレンズ使用歴        |
| ・コンタクトレンズの種類        |
| ・管理状況一・洗浄法          |
| ・消毒                 |
| ・除蛋白                |
| ・1日の装用時間            |
| ・コンタクトレンズによるトラブルの既往 |
| ・眼疾患の既往             |
| ・眼科定期検査の頻度          |
| ・保存液(検体)のケース内保留時間   |

表2 NKCMT 生理食塩水 (×200)

|                                       |          |
|---------------------------------------|----------|
| NaCl                                  | 207.2 mM |
| KCl                                   | 4.7 mM   |
| CaCl <sub>2</sub>                     | 2.7 mM   |
| MgSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O | 1.6 mM   |
| Tris·HC 1, pH 6.8                     | 50.0 mM  |

保存液からのアカントアメーバの培養方法として、コンタクトレンズ保存ケースをよく振盪したうえで、白金耳を用いて直接保存液の一部を採取し、アメーバ分離の検体とした。アカントアメーバ用生理食塩水であるNKCMT生理食塩水(表2)により作製したN-N培地(non-nutrient 培地)にナットウ菌(Bacillus natto)の生菌液を塗布し分離用の培地とした。培養条件としては、暗所で30℃を保ち、光学顕微鏡で2週間にわたり観察し培養結果を判定した。

## III 結果

今回、対象とした93例中9例に自由生活性のアメーバが検出され、うち4例がアカントアメーバであった(表3)。コンタクトレンズの種類別にみた結果を表4に示した。ハード系では62例中5例に自由生活性のアメーバが検出され、このうち2例がアカントアメーバであった。ソフト系では、31例中4例に自由生活性のアメーバが検出され、うち2例がアカントアメーバであった。比率としてはソフト系に陽性例が多くみられたわけであるが、Fisherの直接危険率による比率の差の検定では、統計学的な有意差は認められなかった。

コンタクトレンズの保存液の種類との関係については、水道水にコンタクトレンズを保存している11例からは、アカントアメーバ1例と、その他の自由生活性アメーバ5例が検出され、全体の比率より高率に陽性例がみられたが、一方、市販保存液を使用している例にも82例中3例にアカントアメーバが検出された。しかし、この市販保存液を使用しながらも、アカントアメーバ陽性であった3例については、3例ともに水道水でコンタクトレンズの洗浄を行っていた。今回の対象者においては93例中85例が水道水によるコンタクトレンズの洗浄を行っており、アカントアメーバ陽性例4例とその他の自由生活性アメーバ陽性例5例のすべてにおいて、何らかの形で水道水とコンタクトレンズとの接触があることが判明した(表5)。

消毒法については、煮沸消毒を行っている19例では、

表3 地域別アカントアメーバ検出頻度

|        | アカントアメーバ   | その他の自由生活性<br>アメーバ |
|--------|------------|-------------------|
| 東京地区   | 1/12(8.3%) | 1/12(8.3%)        |
| 筑波学園地区 | 3/81(3.7%) | 4/81(4.9%)        |

表4 コンタクトレンズの種類別によるアカントアメーバ検出頻度

|      | アカントアメーバ   | その他の自由生活性<br>アメーバ |
|------|------------|-------------------|
| ハード系 | 2/62(3.2%) | 3/62(4.8%)        |
| ソフト系 | 2/31(6.5%) | 2/31(6.5%)        |

表5 保存液の種類と洗浄法によるアcantアメーバ  
検出頻度

| 保存液     | アcantアメーバ  | その他の自由生活性<br>アメーバ |
|---------|------------|-------------------|
| 市販保存液   | 3/82(3.7%) | 0/82(0%)          |
| 水道水     | 1/11(9.1%) | 5/11(45.5%)       |
| 水道水洗浄 有 | 4/85(4.7%) | 5/85(5.0%)        |
| 無       | 0/8(0%)    | 0/8(0%)           |

表6 煮沸消毒とアcantアメーバの検出頻度

| 煮沸消毒 | アcantアメーバ  | その他の自由生活性<br>アメーバ |
|------|------------|-------------------|
| 有    | 0/29(0%)   | 0/19(0%)          |
| 無    | 4/74(5.4%) | 5/74(6.8%)        |

アcantアメーバ、その他の自由生活性のアメーバともに全く検出されなかった(表6)。

#### IV 考 按

アcantアメーバは、淡水、土壌などに生息する自由生活性のアメーバで、栄養体は運動性を有し、また二重壁をもった嚢胞を形成する<sup>1)</sup>。人体に及ぼす病原性としては以前から髄膜炎や脳炎が知られていたが、1974年のNagingtonら<sup>1)</sup>によるアcantアメーバ角膜炎の報告以来、アcantアメーバによる角膜炎もしくは強膜炎<sup>2)</sup>の多数の報告例が相次ぎ、重要な眼感染症の一因を成すものとして注目されている。

近年になってアcantアメーバ角膜炎の出現あるいは増加をみたことに関しては、それが発病率自体の増加を一次元的に反映しているものではなく、診断学上の問題が加味されることが考慮されなければならない。すなわち、過去においては診断上の困難さのために本症と診断され得なかった症例のあったことも考えられる。本症の診断には、病原体であるアcantアメーバの検出が必要であり、直接鏡検・培養による他、Wilhelumら<sup>21)</sup>によるcalcofluor whiteを用いた診断法や、Epsteinら<sup>22)</sup>によるindirect fluorescent antibody stainingなど、新しい診断法も提唱されていて、このように診断法が工夫され、また本疾患が注目されることによって、本症と正しく診断され得るケースが増加していることが考えられる。

しかし一方では、近年の多くの報告例において、コンタクトレンズ装用と本症との関連が示唆されており、疫学的研究からも、コンタクトレンズ装用者の増加あるいはコンタクトレンズの消毒法や管理法における問題がアcantアメーバ角膜炎の増加につながっていると考えられている<sup>8)23)</sup>。

Stehr-Greenら<sup>17)</sup>は、1987年、アcantアメーバ角膜炎発症者27名と、対照群である一般のコンタクトレンズ使用者81名の間で、コンタクトレンズの種類や管理状況に

ついてcase-control studyを行い、発症者群では、コンタクトレンズの保存液として自家製の生理食塩水を用いている率が有意に高いことを示した。さらに、一般のコンタクトレンズ使用者81名について、そのコンタクトレンズ保存液からのアcantアメーバの培養実験を行い、81名中2名(2.5%)にアcantアメーバが検出されたこと、この2名とも自家製生理食塩水を保存液として用いていたこと、また自家製生理食塩水の全例に細菌もしくは真菌汚染があったことを報告している。

加藤ら<sup>18)</sup>は、1989年1月から3月の間に徳島市内の眼科診療所から集めた、ソフトコンタクトレンズ使用者の所持するソフトコンタクトレンズ保存液(レンズケースに注入する前のstock solution)96検体からのアメーバの分離を行い、96検体中16検体(16.7%)から自由生活性のアメーバが検出され、このうち4検体(4.2%)がアcantアメーバであったこと、さらにアcantアメーバ陽性の4検体とも自家製生理食塩水を保存液として使用していたことを報告している。

我々<sup>19)</sup>は1988年、角膜炎を伴っていないコンタクトレンズ装用者10名を対象として、それぞれの保存液からのアcantアメーバの培養実験を行い、すべて陰性であったことを報告した。今回は対象を93例に広げ、またアcantアメーバの培養にあたっては、今回は大腸菌死菌液を用いたのに対し、今回はナットウ菌を用いてこの生菌液をN-N培地に塗布し、分離用の培地とし検討を行った。これは、アcantアメーバが最も好むとされるナットウ菌を用いることにより、検出の感度を上げるよう試みたものである。その結果、93例中4例すなわち4.3%にアcantアメーバが検出された。今回の結果から、コンタクトレンズ保存液は、角膜炎を伴っていない装用者においても、高頻度にアcantアメーバによる汚染をうけていると考えられた。また、汚染をもたらす条件としては、水道水との接触の機会のあること、煮沸消毒を行わないことが重要視されるべき点であると考えられた。

これらの要因を踏まえ、アcantアメーバの汚染から防御するためには、どのような管理が必要であろうか。石橋ら<sup>24)</sup>は、アcantアメーバに対する温度と時間の関係について報告しており、このなかで70℃、20分間の加熱でアcantアメーバは死滅することを明らかにしている。今回の調査結果で、煮沸消毒を行っている19例すべて、アcantアメーバその他の自由生活性のアメーバともに検出されなかったことから、熱消毒は最も有効な手段と考えられた。したがって、ソフトコンタクトレンズについては煮沸消毒を確実に行うこと、各種コンタクトレンズの保存ケースについても煮沸消毒して清潔に保つこと、コンタクトレンズは保存液中に保存し、水道水をはじめいわず生水を保存液がわりに用いないことがアcantアメーバによる汚染を防ぐと考えられる。さらには、コンタクトレンズの着脱の際、手指の洗浄やコン

タクトレンズの濯ぎ洗いにも、いったん沸かした水や滅菌水を用いることが望ましいと考えられる。

アカントアメーバ角膜炎は、宿主側の要因としての角膜上皮の障害と、病原体であるアカントアメーバと角膜との接触の、両者がそろった場合に感染が成立し発症すると考えられるが、コンタクトレンズ保存液にアカントアメーバによる汚染があった場合、コンタクトレンズそのものによる機械的もしくは低酸素状態に基づく角膜上皮障害と、保存液に由来するアカントアメーバとの接触という形で感染成立の条件が整い得る。アカントアメーバ角膜炎が、その診断と同様に治療法において、有効な薬物が限られる点や角膜移植後にも再発があり得る点など困難を伴い、進行すれば失明に至り得る重篤な疾患であることから、本症の予防は重要な問題であり、コンタクトレンズの使用にあたっては、今回の検討で示されたような危険因子に対し、これを避けるべく対策を要するものと考えられた。

#### 文 献

- 1) Nagington J, Watson PG, Playfair TJ, McGill J, Jones BR: Amebic infection of the eye. *Lancet* 28: 1537-1541, 1974.
- 2) Koenig SB, Solomon JM, Hyndiuk RA, Sucher RA, Gradus MS: Acanthamoeba keratitis associated with gas-permeable contact lens wear. *Am J Ophthalmol* 103: 832-833, 1987.
- 3) Samples JR, Binder PS, Luibel FJ, Font RL: Acanthamoeba keratitis possibly acquired from a hot tub. *Arch Ophthalmol* 102: 707-710, 1984.
- 4) Scully RE, Mark EJ, McNeel BU: Case records of the Massachusetts General Hospital. *New Engl J Med* 312: 634-641, 1985.
- 5) Hirst LW, Green ER, Merz W, Kaufmann C, Visvesvara GS, Jensen A, et al: Management of Acanthamoeba keratitis. A case report and review of the literature. *Ophthalmology* 91: 1105-1111, 1984.
- 6) Moor MB, McCulley JP, Luckenbach M, Gelerder H, Neuton C, McDonald B, et al: Acanthamoeba keratitis associated with soft contact lenses. *Am J Ophthalmol* 100: 396-403, 1985.
- 7) Cohen EJ, Parlato CJ, Arentsen JJ, Genvert JJ, Eagle RC, Wieland MR, et al: Medical and surgical treatment of Acanthamoeba keratitis. *Am J Ophthalmol* 103: 615-625, 1987.
- 8) Jones DB: Acanthamoeba—The ultimate opportunist? *Am J Ophthalmol* 102: 527-530, 1986.
- 9) 石橋康久, 松本雄二郎, 渡邊亮子, 本村幸子, 安羅岡一男, 石井圭一, 他: Acanthamoeba keratitis の 1 例. *日眼会誌* 92: 963-972, 1988.
- 10) 石橋康久, 渡邊亮子, 加畑隆通, 本村幸子, 安羅岡一男, 石井圭一: イトラコナゾール内服が奏効したアカントアメーバ角膜炎の 2 例. *臨眼* 44: 551-555, 1990.
- 11) 石橋康久, 加畑隆通, 本村幸子, 渡邊亮子, 石井圭一: フルコナゾール内服, ミコナゾール点眼, 病巣搔爬の 3 者併用によるアカントアメーバ角膜炎の治療. *臨眼* 46: 1081-1086, 1992.
- 12) 石橋康久, 加畑隆通, 本村幸子, 渡邊亮子, 水流忠彦, 石井圭一: ディスポーザブルコンタクトレンズ装用者に生じたアカントアメーバ角膜炎の 1 例. *臨眼* 46: 1181-1184, 1992.
- 13) 塩田 洋, 水野研治: 眼科領域の日和見感染. *あたらしい眼科* 5: 1697-1703, 1988.
- 14) 伊藤陽一, 月川一恵, 佐藤憲夫, 神田尚孝, 八子恵子, 紺野謙治, 他: 重症化した Acanthamoeba 角膜炎の 1 例. *あたらしい眼科* 6: 1362-1366, 1989.
- 15) 塩田 洋, 内藤 毅, 小西裕美子, 谷 英紀, 大谷知子, 三村康男, 他: 角膜ヘルペスと誤診されたアカントアメーバ角膜炎の 2 例. *臨眼* 44: 302-303, 1990.
- 16) 中山 尚, 風見宣生, 伊在井久美子, 岩崎美紀, 内田幸男, 山浦 常, 他: 初期アカントアメーバ角膜炎の 2 例. *日眼会誌* 97: 544-550, 1993.
- 17) Stehr-Green JK, Bailey TM, Brandt FH, Carr JT, Bond WW, Visvesvara GS: Acanthamoeba keratitis in soft contact lens wearers, a case-control study. *JAMA* 258: 57-60, 1987.
- 18) 加藤俊彦, 塩田 洋, 三村康男, 伊藤義博, 程 争平, 東堤 稔, 他: ソフトコンタクトレンズ保存液の微生物学的汚染状況の検索. *臨眼* 44: 1037-1040, 1990.
- 19) 渡邊亮子, 石橋康久, 河野恵子, 本村幸子: CL 保存液からの Acanthamoeba の培養について. *日コレ誌* 30: 265-268, 1988.
- 20) Mannis MJ, Tamaru R, Roth AM, Burns M, Thirkill C: Acanthamoeba sclerokeratitis determining diagnostic criteria. *Arch Ophthalmol* 104: 1313-1317, 1986.
- 21) Wilhelmus KW, Osato MS, Font RL, Robinson NM, Jones DW: Rapid diagnosis of Acanthamoeba keratitis using calcofluor white. *Arch Ophthalmol* 104: 1309-1312, 1986.
- 22) Epstein RJ, Wilson LA, Visvesvara GS, Plourde EG: Rapid diagnosis of Acanthamoeba keratitis from corneal scraping using indirect fluorescent antibody staining. *Arch Ophthalmol* 104: 1318-1321, 1986.
- 23) Stehr-Green JK, Bailey TM, Visvesvara GS: The epidemiology of Acanthamoeba keratitis in the United States. *Am J Ophthalmol* 107: 331-336, 1989.
- 24) 石橋康久, 渡邊亮子, 河野恵子, 本村幸子: Acanthamoeba に対するタップソーク®および温度の影響. *日コレ会誌* 30: 257-260, 1988.