

# 新生児の院内感染症防止対策の研究

## 羊水の抗菌性に関する検討

広島大学医学部産科婦人科学教室

藤原 篤  
平岡 仁 司  
宮岡 繁 樹

### 研究目的

羊水の抗菌性を検索する目的で、最初、大腸菌、緑膿菌、サルモネラの3菌種を使用し、菌接種と定量回収実験を行なった(実験1)。その後、黄色ブドウ球菌(以下黄色ブ菌と略)についての同様の検討を行なったところ、対照として使用したリン酸緩衝液中で供試菌の急速な死滅がみられたので、作用基質としてリン酸緩衝液にかえて、栄養培地であるトリプト・ソイ・ブイオンを使用し、さらに接種菌数も $10^6$ 個/mlより $10^3$ 個/mlに減じ、抗菌性の対象となる菌種菌株数も増して再検討を行なった(実験2)。

### 研究方法

#### (1) 実験1

羊水は妊娠10ヶ月の帝王切開術の症例18例から無菌的に採取し、直ちに1,580G, 15分間遠心分離し、その上清を24時間以内にもしくは凍結保存( $-20^{\circ}\text{C}$ )後に実験に供した。供試菌は大腸菌(1株)、緑膿菌(1株)、サルモネラ(1株)の3菌種3菌株を使用し、100%羊水、50%羊水(稀釈液は羊水と同一pHの1/20 Mリン酸緩衝液とした。)、そして対照として同緩衝液に、それぞれ個別に約 $10^6$ 個/mlあて接種し、 $37^{\circ}\text{C}$ 24時間静置後に、プレート・カウント法によって生菌数を測定し菌の生存状態を観察した。

#### (2) 実験2

羊水は妊娠10ヶ月の帝王切開術の18例と経産分娩の5例の計23例で、直ちに1,100G, 20分、 $4^{\circ}\text{C}$ で遠心分離し、その上清を0.45μミリポア・フィルターで濾過し、24時間以内に又は凍結保存( $-20^{\circ}\text{C}$ )後に実験に供した。供試菌は大腸菌(2株)、緑膿菌(1株)、レイ

菌(1株)、黄色ブ菌(3株)、サルモネラ(1株)の5菌種8菌株をそれぞれ羊水とトリプト・ソイ・ブイオン(9:1)の混合液に約 $10^3$ 個/ml接種し、 $37^{\circ}\text{C}$ ふらん器内で作用させ、生残菌数の計測は菌接種時(0時間)、7, 24時間後の3回プレート・カウント法により行なった。なお、対照はトリプト・ソイ・ブイオンとした。

### 研究結果

#### (1) 実験1

18例の羊水はすべて同一の傾向を示した。その代表例をみると、大腸菌では $2.8 \times 10^6$ 個/mlの接種菌数が24時間後には対照が $1.2 \times 10^6$ 個/mlと菌数は殆んどかわらなかったのに対し、100%羊水では $3.7 \times 10^7$ 個/mlそして50%羊水でも $3.0 \times 10^7$ 個/mlといずれも菌数の増加がみられた。緑膿菌についても大腸菌とほぼ同じ結果を得、 $2.6 \times 10^6$ 個/mlの接種菌数が対照では $1.5 \times 10^6$ 個/ml、100%羊水では $1.8 \times 10^8$ 個/ml、となった。サルモネラは $3.6 \times 10^6$ 個/mlの接種菌数が対照では $1.6 \times 10^6$ 個/ml、100%羊水では $1.1 \times 10^8$ 個/ml、そして50%羊水では $8.0 \times 10^7$ 個/mlと前2者と同様な結果を得た。

#### (2) 実験2

23例の羊水の各供試菌に対する個々の成績を時間的経過を含めて、類型パターンに整理してみると、おおむね8つのパターンに分けることができた(図1)。(1)(2)(3)のパターンを示したものはそれぞれ6.4%, 1.6%, 7.0%で「抗菌力なし」と判定し、(4)(5)(6)は2.7%, 1.9%, 3.5%で「静菌的抗菌力あり」と判定し、(7)(8)は0.6%, 3.9%で「殺菌的抗菌力あり」と判定

した。以上の基準に従って判定すると、各供試菌に対する各供試羊水の成績は表1の如くで、静菌的抗菌力(s)、殺菌的抗菌力(c)両類型を含めて「抗菌力あり」と判定された羊水について菌株ごとに見ると、黄色ブ菌3株にはそれぞれ23例中9例(39.1%)、4例(17.4%)、2例(8.7%)、大腸菌2株には23例中3例(13.0%)、1例(4.3%)であった。

しかし、緑膿菌、レイ菌、サルモネラの3菌株に対してはいずれの羊水も全く抗菌力を示さなかった。今回検索した羊水のうち供試8菌株中、1菌株以上に対して抗菌力が認められたものは23例中9例(39.1%)で、その抗菌力を示した菌株数は最高5菌株(平均2.1菌株)で、供試羊水並びに菌種菌株間に著明な相違が認められた。

## 考 察

羊水の抗菌性に関しては、1895年Waltherhard が破水後腔内細菌数が減少したことを報告して、羊水の抗菌性を示唆して以来、数多くの実験報告がなされている。羊水の抗菌性を認めた報告としては、Cattaneo、安室ら、Galaskら、Larsenらがあり、羊水の抗菌性を認めなかった報告としては、Waliskら、Sarkanyらがある。

我々の実験1の成績では、羊水の抗菌性を確認し得ず、むしろ羊水がこれらの菌の発育に促進的に作用するものような結果であった。実験2では、黄色ブ菌3株、大腸菌2株に対して抗菌力が認められ、菌種菌株間に差違の存在することが判明した。同時に、抗菌力の認められた羊水も1~5菌株にわたり、個体差が存在することが認められたが、抗菌力の有無の個体差が何に起因するかは今後の検討課題としたい。実験1と2の比較は、方法、供試羊水、接種菌数等の違いにより困難であるが、緑膿菌、サルモネラに関しては同様であり、大腸菌に関しても実験1で使用した株(0144:K<sub>2</sub>)は実験2では羊水23例中1例に静菌的抗菌力が認められたにすぎず、ほぼ同様な結果であった。我々の実験2と同様な方法で行なったBergmanら、Millerら、Appelfaumらの成績と比較検討してみると、各

実験者によりかなりばらつきがみられたが、我々の成績はおおむねやや低率であった。

抗菌性物質や関連因子に関しては、羊水のpHの関与が考えられるが、実験1、2とも羊水のpH値と抗菌力との間には特異的な関連は認められなかった。次に、羊水の低栄養源性が影響しているとする推測もあるが、実験1で対照とした無栄養培地のリン酸緩衝液と羊水を対比した結果、大量菌量(10<sup>6</sup>個/ml)接種の羊水においても対照より菌の発育が認められ、羊水の低栄養源性が影響しているものとは考えられなかった。

実験2より抗菌性の推測される羊水の中には、殺菌的表現と静菌的表現を示すものが認められ、さらに時間的経過を観察することにより、これらの表現はさらに多くの類型に分けられた。しかも、各類型は完全に区分できるものではなく連続的なものであった。

このような抗菌性の表現の差が抗菌物質の量的、質的な差のいずれに基づくものであるか、またこれらの抗菌性がin vivoでの感染防禦に如に働いているものであるか等、数多くの問題点の解明は今後の課題として残された。

## 要 約

### (1) 実験1

被検羊水18例全例とも大腸菌(1株)、緑膿菌(1株)、サルモネラ(1株)の3菌株に対して抗菌力は認められなかった。

### (2) 実験2

被検羊水23例の抗菌力を検討した結果は次の如くであった。

(a) 大腸菌(2株)、緑膿菌(1株)、レイ菌(1株)、黄色ブ菌(3株)、サルモネラ(1株)の計8菌株のうち1菌株以上に対して抗菌力が認められた羊水は23例中9例(39.1%)で、供試羊水の抗菌力には著明な差違が認められた。

(b) 菌種菌株別にみると、羊水23例中黄色ブ菌(FDA209P)に対して9例(39.1%)、黄色ブ菌(患者A)に対して4例(17.4%)、大腸菌(0111:K58)に対して3例(13.0%)、黄色ブ菌(患者B)に対して2例(8.7%)、大腸菌(0144:K<sub>2</sub>)に対して1例(4.3%)

がそれぞれ抗菌力を証明した。そのうち殺菌的抗菌力が認められたものは、黄色ブ菌 (FDA 209P) に対する4例 (17.4%) と大腸菌 (0111:K58) に対する2例 (8.7%) であった。

(c) いずれの供試羊水にも抗菌力が認められなかった菌種は、緑膿菌、レイ菌、サルモネラであった。供試羊水間、供試菌種菌株間の抗菌力の差が何に起因するものかは解明するに至らなかった。

図1 各供試菌に対する羊水の抗菌性の類型別パターン

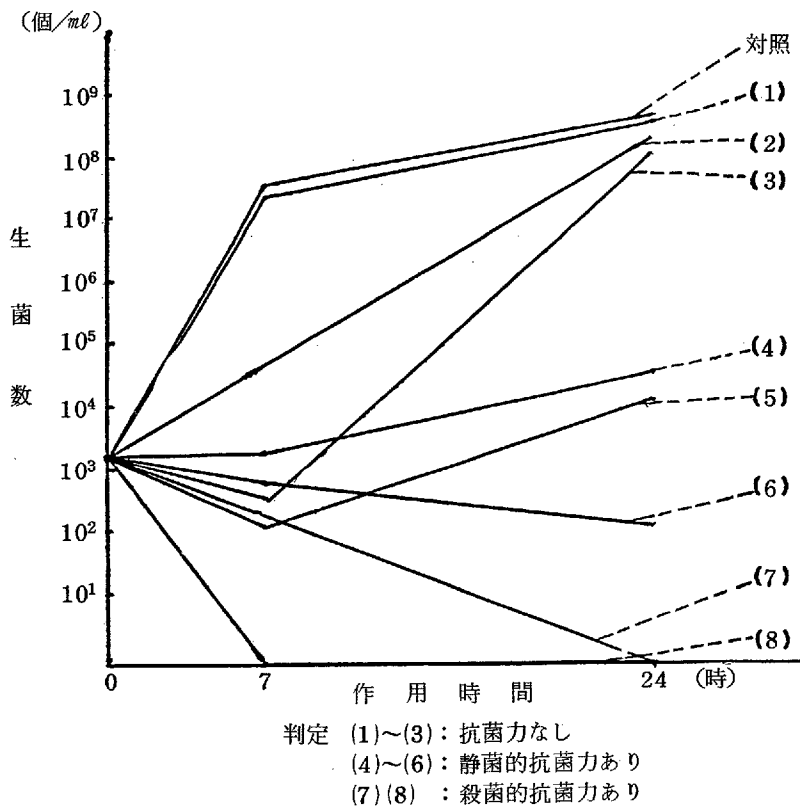


表1 各供試菌株に対する羊水の抗菌作用※

供試羊水	供試菌種・菌株								計	
	<i>E. coli</i> (0111:K58)	<i>E. coli</i> (0144:K <sub>2</sub> )	<i>Ps. aeruginosa</i> (NCTC 16490)	<i>Ser. marcescens</i> (RIMD 996002)	<i>St. aureus</i> (FDA 209P)	<i>St. aureus</i> (患者 A)	<i>St. aureus</i> (患者 B)	<i>Sal. muenchen</i>	c	s
1	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
2	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
3	-	-	-	-	s	-	-	-	0	1
4	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
5	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
6	-	-	-	-	c	s	-	-	1	1
7	c	s	-	-	c	s	-	-	2	3
8	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
9	-	-	-	-	s	-	-	-	0	1
10	c	-	-	-	c	s	-	-	2	2
11	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
12	s	-	-	-	s	-	-	-	0	2
13	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
14	-	-	-	-	c	s	-	-	1	1
15	-	-	-	-	s	-	-	-	0	1
16	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
17	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
18	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
19	-	-	-	-	s	-	-	-	0	1
20	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
21	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
22	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
23	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
計	c 20	s 20	0	0	4	0	0	0	6	13
	s 1	1	0	0	5	4	2	0		

※ - : 抗菌力なし S : 静菌的抗菌力あり C : 殺菌的抗菌力あり

↓  
**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります  
↓

## 研究目的

羊水の抗菌性を検索する目的で、最初、大腸菌、緑膿菌、サルモネラの3菌種を使用し、菌接種と定量回収実験を行なった(実験1)。その後、黄色ブドウ球菌(以下黄色ブ菌と略)についての同様の検討を行なったところ、対照として使用したリン酸緩衝液中で供試菌の急速な死滅がみられたので、作用基質としてリン酸緩衝液にかえて、栄養培地であるトリプト・ソイ・ブイヨンを使用し、さらに接種菌数も106個/mlより103個/mlに減じ、抗菌性の対象となる菌種菌株数も増して再検討を行なった(実験2)。