

骨髓移植における感染予防対策としての腸管内無菌化

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9084

骨髄移植における感染予防対策としての腸管内無菌化

金沢大学医学部内科学第三講座 (主任: 服部絢一教授)

手 島 博 文

(昭和58年8月8日受付)

20症例の骨髄移植患者に対し、細菌・真菌感染の予防を目的として、無菌室のもとで腸管内無菌化を行った。腸管内無菌化のための経口抗生剤処方、gentamicin (GM), vancomycin (VCM), nystatin (NYS)の3剤からなるGVN処方であった。4例ではGMをdibekacin (DKB)またはtobramycin (TOB)に、8例ではNYSをamphotericin B (AMPH)に変更した。19例の便菌叢は、無菌化開始後1週間以内にほぼ完全に抑制された。しかし、1例ではGM耐性 *Serratia marcescens* が多数持続してみられた。一旦便菌叢が完全に抑制されても、GVNの投与が5~6週間以上に及ぶと、便の無菌状態を維持することが難しかった。歯肉口内炎のために、1週間以上にわたってGVNの内服が中断された1例では、腸管内細菌が再出現した。CandidaとLactobacillusの抑制不十分な症例があった。Candidaの抑制不十分な症例(4例)は、AMPH投与群とNYS投与群の両方にみられた。一方、Lactobacillusの不十分な抑制(2例)は、DKB投与群とTOB投与群にみられたもので、GM投与群にはみられなかった。咽頭菌叢の抑制は便に比べて困難であった。腸管内無菌化中止後の菌叢再構成には約1か月を要した。無菌化の前後で、全く同一の生物学的性状と菌体抗原を有する、Enterobacteriaceaeの菌株を見出すことができなかった。GVN投与中に、敗血症が2例にみられた。Pseudomonas aeruginosa敗血症とSerratia marcescens敗血症であった。GVN処方は、骨髄移植時の腸管内菌叢抑制および感染予防に極めて有効であった。

Key words Intestinal Decontamination, Environment-Prophylactic Antibiotic Program, Bone Marrow Transplantation

顆粒球減少患者に合併する重症感染症の多くは、もともと腸管や咽頭に常在する細菌、あるいは、入院後獲得された細菌によって引き起こされている¹⁾²⁾。無菌室治療は、この感染症原因菌の除去と侵入防止をはかる極めて合理的な感染予防対策であり、すでに急性白血病の寛解導入療法時の感染予防に有用性が認められている^{3)~5)}。

無菌室治療は、無菌環境の作製と腸管内無菌化の二つの柱から成り立っている。無菌環境の作製は、high efficiency particulate air (HEPA)フィルターを通した層流方式の導入により、ほぼ完成の域に達している。一方の腸管内無菌化には、まだ確立した方法がなく、種々の抗生剤処方が検討されている^{6)~10)}が、その中でgentamicin (GM), vancomycin (VCM), nystatin (NYS)からなるGVN処方が、最も単純で効果的な処方と考えられている⁷⁾¹¹⁾。

さて、骨髄移植が、悪性血液疾患や固形癌に対して完全治癒を期待できる治療法として最近注目されている¹²⁾¹³⁾。骨髄移植に際して行われる化学療法や放射線療法は、従来の寛解導入療法や癌治療に比べてはるかに強力であり、移植後に陥る患者の骨髄抑制は、より重篤でしかも長期に及ぶことになる¹²⁾。このため、骨髄移植の場合には、白血病の寛解導入時よりさらに綿密な感染予防対策が必要と考えられる。本研究では、骨髄移植時の感染予防に無菌室治療を応用し、とくにGVN処方の有効性について臨床細菌学的な立場から検討してみた。

対象および方法

1. 腸管内無菌化

1) 対象症例

1977年10月より1981年7月までの3年10か月の

Intestinal Decontamination for Infection Prevention in Patients Undergoing Bone Marrow Transplantation. Hirofumi Teshima, Department of Internal Medicine (III), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920.

間に、同種ないし自家骨髓移植を受けた 20 例を対象とした。男性 12 例、女性 8 例で、年齢は 18 歳から 52 歳にわたった(中央値 32 歳)。基礎疾患を表 1 に示した。

2) 骨髓移植

同種ならびに自家骨髓移植は、それぞれ Thomas¹²⁾ と Gale¹³⁾ の報告に準じて施行した。おのおのの手順を図 1 に示した。同種移植、自家移植ともに、従来の白血病寛解導入療法よりはるかに大量の抗腫瘍剤投与と放射線照射が前処置として施行された。同種移植では、移植後も graft-versus-host disease の予防のために methotrexate が投与された。

3) 無菌室

当科に設置された無菌室¹⁴⁾は、HEPA フィルターを通した垂直層流方式のもので、室内清浄度が NASA 基準¹⁵⁾でクラス 1,000 の clean room (NASA 基準では、微粒計による測定で 1 ft³の空間に 0.5 μ 以下の微粒粒子が 1,000 個以下浮遊しているという意味で、ちなみに一般病室の廊下はクラス 150,000~200,000 ぐらいである) とクラス 10,000 の recovery room の 2 種類である。移植前日から顆粒球数が 500/mm³ に達する日までを clean room に、それより前の 1 週間と後の 2 週間を recovery room に患者を収容した。また、無菌室治療中は無菌食を供した。

4) 腸管内無菌化のための処方

腸管内無菌化のために用いた GVN 処方表 2 に示した。1 回内服量を約 30 ml の 5% ブドウ糖液に溶解して、含嗽の要領で飲み込ませた。GM の代わりに、dibekacin (DKB)1,000 mg/日、分 4 または tobramycin (TOB)960 mg/日、分 4 を用いることもあった(各 2 例)。また、嘔気・嘔吐のため NYS の内服が困難な場合には、amphotericin B (AMPH)800 mg/日、分 4 に変更した(8 例)。

口腔・咽頭の菌叢抑制は GVN の含嗽のみでは不十分なため、GVN の内服 1 時間後に表 2 に示す吸入を追加した。1 回吸入量は、全量が 3 ml となるように蒸留水を加えて調製した。経口剤として DKB、TOB を用いた場合には、吸入薬にも DKB(100 mg/日、分 4)、TOB (80 mg/日、分 4) を用いた。

GVN の投与を、recovery room 入室と同時に開始し、顆粒球数が 500/mm³ に回復するまで続行した。

5) 細菌学的検索

腸管内菌叢の変化を調べるため、便培養を週 1 回行った。便は採取後直ちに培養に供した。便を 1 g 秤量後、GAM ブイヨン(日水)で全量を 5 ml にし、シェーカーで攪拌したあと、滅菌ガーゼで濾過した。この濾過液を連続 10²倍希釈して、その 0.05 ml を各平板にコンラージ棒で塗布することにより、定量培養を行った。使用培地は、好気培養ではドリガルスキー改良培地(栄研)、DHL 寒天培地(栄研)、マッコンキー寒天培地(栄研)、NAC 寒天培地(栄研)、マンニット食塩培地(栄研)、EF 寒天培地(日水)、サブロー寒天培地(栄研)、カンジダ GS 培地(栄研)、Rogosa 培地¹⁶⁾(自家製)。

Table 1. Underlying illness of transplant patients

Underlying illness	No. of transplants	
	Allogeneic	Autologous
Acute leukemia	7	
Aplastic anemia	2	
Blastic crisis of chronic leukemia	1	
Malignant lymphoma	2	5
Nasopharyngeal carcinoma		2
Synovial sarcoma		1
Total	12	8

Allogeneic transplantation

1) Aplastic anemia

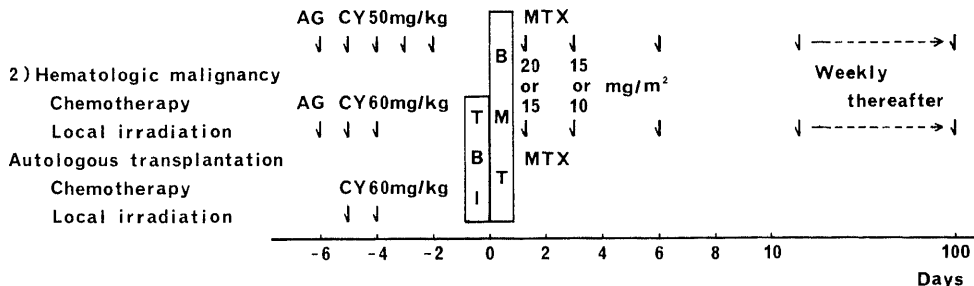


Fig. 1. Schedule for bone marrow transplantation

AG, infusion of antigen from donor; CY, cyclophosphamide; TBI, total body irradiation; BMT, bone marrow transplantation; MTX, methotrexate

Table 2. Antibiotic prophylaxis

1. Regimen for intestinal decontamination	
Gentamicin*	240 mg
Vancomycin	500 mg
Nystatin	3 million units
Q.I.D.	
2. Regimen for oro-pharyngeal inhalation	
Gentamicin**	20 mg
Vancomycin	100 mg
Amphotericin B	5 mg
(Lincomycin	100 mg
	if necessary)
Q.I.D.	

* In some patients, dibekacin (250 mg every 6 hours) and tobramycin (240 mg every 6 hours) were substituted for gentamicin.

** Corresponding to the oral aminoglycosides used, dibekacin (25mg every 6 hours) and tobramycin (20mg every 6 hours) were substituted for gentamicin.

嫌気培養では GAM 寒天培地 (日水), バクテロイデス培地 (日水), 変法 FM 培地 (日水), カナマイシン含有 CW 寒天基礎培地 (日水) (綿羊脱線維素血を 5% に加えて使用), Veillonella agar (Difco), Clostrisel agar (BBL), Rogosa 培地 (自家製) であった。好気培養は 37°C24 時間, 嫌気培養は GasPak 法で 37°C72 時間とした。好気性菌の同定は Cowan & Steel の方法¹⁷⁾ に準じ, 嫌気性菌は Holdeman らの方法¹⁸⁾ と鈴木らの方法¹⁹⁾ を参考にして, グラム染色と代謝産物のガスクロマトグラフィー所見から属のレベルの同定に留めた。

口腔・咽頭菌叢の変化は, 滅菌綿棒で採取した咽頭粘液を培養して調べ, 半定量的記載²⁰⁾ を用いた。分離培地には, 便培養のものに血液寒天培地とチョコレート寒天培地 (ともにハートインフュージョン寒天培地に綿羊脱線維素血を 5% に加えたもの) を追加した。

薬剤感受性試験は, 日本化学療法学会標準法²¹⁾ に準じて施行した。

2. 腸管内無菌化中止後の菌叢回復過程

腸管内無菌化を行った症例のうち 3 例で, 無菌化中止後も 2.5 か月目まで培養を続行して, 便および咽頭菌叢の回復過程を調べた。培養は, 無菌化中止後 1 か月目まで週 1 回, それ以後 2 週に 1 回の割合で定期的に行った。無菌室内隔離と無菌食は, 腸管内無菌化中止後 2 週目で打ち切った。

3. 腸管内無菌化の前後に便から分離された Enterobacteriaceae の同一性の検討

腸管内無菌化中, Enterobacteriaceae が完全 (便培養で菌数が 10^2 /g 以下) に抑制されていた症例から 5

例を選び, 生物学的性状と菌体抗原を指標に, 無菌化の開始直前と中止後 1~2 週目に便から分離された Enterobacteriaceae の同一性を検討した。

生物学的性状検査のうち糖分解試験は, 糖分解用半流動培地 (栄研) に L-アラビノース, グルコース, D-キシロース, L-ラムノース, レプロース, サッカロース, トレハロース, マルトース, ラクトース, ラフィノース, L-ソルボース, D-リボース, アドニトール, イノシトール, エリスリトール, ズルシトール, D-ソルビトール, マンニトール, サリシンを各 1% に加えて行った。菌体抗原の同一性は, クロムミョウバン処理抗原を用いて家兎抗血清を作製し²²⁾, Widal 法に準じた交差凝集反応で検討した。なお, Klebsiella の菌体抗原は, 無莢膜変異菌を用いて検討した²³⁾。

成 績

1. 便菌叢の抑制

20 症例における腸管内無菌化中の便菌叢の推移をみると, 大概 6 つの型に分類できた (図 2)。

1) 完全抑制型

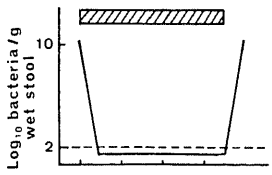
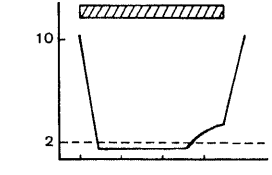
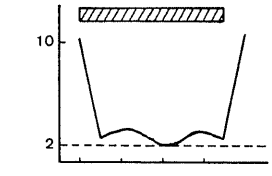
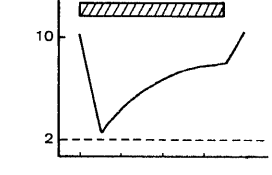
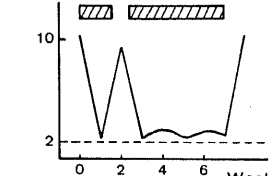
無菌化中便菌叢の完全に抑制されていた症例が, 4 例あった。4 例とも, GVN 処方開始後 1 週目に, すでに便菌叢の完全抑制が達成されていた。GVN の投与期間は, 3 例が 5 週間, 1 例が 6 週間であった (図 2, 1))。

2) 不完全抑制型

無菌化中便菌叢が $10^2 \sim 10^5$ /g に抑制されていたもので, 菌叢の推移から 2 群に細分された (図 2, 2))。

A) 無菌化初期の菌叢抑制は完全であったが, 無菌化途中から菌叢抑制が不完全になったもの (7 例): GVN 処方開始後 1~2 週目に便菌叢は完全に抑制され, この状態が 2~7 週間にわたって保たれていた。しかし, GVN 内服中にもかかわらず, 表 3 に示すように Candida, Staphylococcus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa が出現するようになった。Pseudomonas aeruginosa が出現した症例の, 無菌化開始前の便・咽頭培養では, Pseudomonas aeruginosa は分離されてなかった。この菌は GM に高度感性であった。また, その菌数は無菌化中 10^4 /g 以下であったが, 無菌化中止後 2 週目には 10^8 /g にまで増加した。

B) 無菌化開始直後から菌叢抑制が不完全であったもの (5 例): 表 4 に示すように Candida と Lactobacillus の抑制不十分な症例がみられた。1 例においては, 両者が同時に分離された。Candida が抑制されなかった症例のうち, 3 例は AMPH 投与例であり, 1 例は NYS 投与例であった。Lactobacillus は, DKB 使用の 1 例と TOB 使用の 1 例で分離されたもので,

Fecal flora		No. of patients
<p>1) Total bacterial count < 10^7/g wet feces</p>  <p>Complete suppression of fecal flora</p>	4	
<p>2) 10^7/g wet feces < Total bacterial count < 10^8/g wet feces</p>  <p>A) Complete suppression of fecal flora, followed by new acquisition or reappearance of organisms</p>  <p>B) Persistence of organisms in small numbers</p>	7	
<p>3) Total bacterial count > 10^8/g wet feces</p>  <p>A) Persistence of resistant organisms, such as <i>Serratia marcescens</i> in large numbers</p>  <p>B) Rapid reappearance of organisms through short-term difficulty in taking oral antibiotics</p> <p>0 2 4 6 Weeks of study</p>	1	
<p>4) Others</p> <p>Two patients died within 2 weeks after transplantation</p>	2	


 Intestinal decontamination

Fig. 2. Effects of antibiotic prophylaxis on fecal flora

GM 使用例では分離されなかった。分離された *Lactobacillus* に対する DKB, TOB の最小発育阻止濃度 (MIC) は, GM よりも大きい値を示した (図 3)。*Candida*, *Lactobacillus* ともに, 無菌化中の増加傾向はみられなかった。

Table 3. New acquisition or reappearance of organisms during intestinal decontamination

Organism	No. of patients
<i>Candida</i>	4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1*

All of the isolates except for one newly acquired isolate* reappeared despite decontamination.

Table 4. Persistence of organisms in small numbers

Organism	No. of patients
<i>Candida</i>	4
<i>Lactobacillus</i>	2

3) 抑制困難型

無菌化中にも便培養で菌数が $10^6/g$ 以上あったもので, これも 2 群に細分できた (図 2, 3)。

A) GM 耐性菌が持続したもの (1 例): GM 耐性の *Serratia marcescens* が持続し, しかも漸増傾向を示した。 *Serratia marcescens* は, 無菌化開始前の便からすでに分離されていた。その菌数は $10^4/g$ であったが, 無菌化中 $10^8/g$ にまで増加した。

B) GVN の内服が中断されたもの (1 例): 骨髄移植直後に合併した歯肉口内炎のために GVN の内服が困難となった症例で, 内服が中断されて 1 週間後には, Enterobacteriaceae の菌群と *Lactobacillus* が, それぞれほぼ無菌化開始前の菌数で分離された。これらの菌は, 口内痛が軽減し GVN の内服が再開されると, 速やかに抑制された。

4) その他

無菌化中に死亡した 2 例をここに配した。1 例では無菌化開始後 3 週目まで, 他の 1 例では 1 週目まで, 便を採取できた。この時点まで, 2 例の便菌叢は完全に抑制されていた (図 2, 4)。

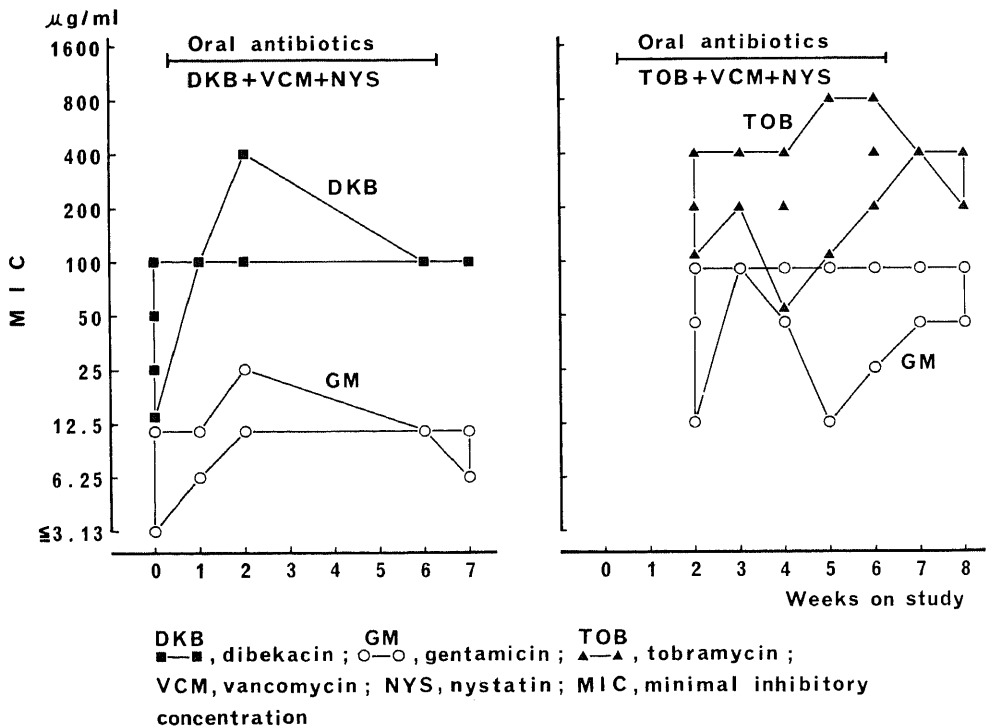


Fig. 3. Serial changes in minimal inhibitory concentration values for *Lactobacillus* isolated from stool during intestinal decontamination

2. 咽頭菌叢の抑制

便菌叢の抑制に比べて、咽頭菌叢の抑制は困難であった。無菌化中咽頭菌叢が完全に抑制されていた症例は皆無であった。無菌化中に死亡した2例を除き、18例の咽頭から分離された菌種・菌群を表5に示した。Candida と Pseudomonas aeruginosa が多数例に見出されたことが注目された。Pseudomonas aeruginosa が分離された6例のうち4例で、すでに無菌化開始前の咽頭から Pseudomonas aeruginosa が分離されていた。嫌気性菌が全例で分離されているが、lincomycin (LCM)を吸入に追加した13例のうち12例で、嫌気性菌が除去された。また、LCM 追加症例においては、その前後で Lactobacillus の分離が10例から3例に激減した。

3. 腸管内無菌化中にみられた細菌・真菌感染症

敗血症が2例に、歯肉口内炎が1例にみられた。敗血症は、2例とも直接死因となった。1例は陰股部の ecthyma gangrenosum を伴った Pseudomonas aeruginosa 敗血症²⁴⁾であり、他の1例は剖検材料の培養から Serratia marcescens 敗血症と考えられた。前者はGVNの内服が困難となった直後に発症したものであり、後者は注射針刺入部位の汚染から発症したものと考えられた。歯肉口内炎は、不完全抑制型のA)に属する症例にみられたもので、咽頭から分離された Pseudomonas aeruginosa に対する血中抗体価の有意な上昇が認められたことから、両者の混合感染と考えられた。

Table 5. Organisms isolated from throat during antibiotic prophylaxis

Organism	No. of patients
Aerobes	
<i>Lactobacillus</i>	15
<i>Candida</i>	9
<i>Streptococcus</i>	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4
<i>Neisseria</i>	3
<i>Haemophilus</i>	2
<i>Pseudomonas cepacia</i>	1
<i>Corynebacterium</i>	1
Anaerobes	
<i>Bacteroides</i>	17
<i>Fusobacterium</i>	9
<i>Veillonella</i>	6
<i>Peptostreptococcus</i>	5
<i>Propionibacterium</i>	2
<i>Bifidobacterium</i>	2

4. 腸管内無菌化中止後の菌叢回復過程

腸管内無菌化中止後の便菌叢の回復過程を、菌群別に図4に示した。好気性菌菌叢では、Enterobacteriaceae, Enterococcus, Lactobacillus, Staphylococcus の主要4菌群は、無菌化中止後1週目に同時に再出現した。この際、Enterobacteriaceae が最優位菌群となり、その菌数は無菌化開始前の値と比較して $10^1 \sim 10^2$ 倍の増加を示した。その後 Enterobacteriaceae は徐々に減少し、Lactobacillus が無菌化中止後2~3週目から最優位菌群となる傾向を示した。一方、嫌気性菌菌叢では、各菌群の再出現の時期に遅速がみられた。Clostridium が最も早く、無菌化中止後1週目に再出現した。次いで Veillonella と Bifidobacterium が回復し、Bacteroides と Peptostreptococcus が最も遅く無菌化中止後3~4週目に再出現した。最優位菌群は、無菌化中止後4週目頃に、Clostridium から Bacteroides に変わるようであった。このように、無菌化中止後の便菌叢の再構成には約1か月を要すると考えられた。

咽頭菌叢においても、便と同様に好気性菌菌叢の回復が早く嫌気性菌菌叢の回復の遅れる傾向がみられた(表6)。但し、好気性菌の中で Neisseria と Corynebacterium だけは、再出現が遅れる傾向にあった。咽頭菌叢の再構成には便よりも長い期間を要すると考えられた。

5. 腸管内無菌化の前後に便から分離された Enterobacteriaceae の同一性の検討

5症例において、無菌化開始前に便から分離された Enterobacteriaceae 68株(症例1, 19株; 症例2, 20株; 症例3, 6株; 症例4, 17株; 症例5, 6株)と無菌化中止後に分離された Enterobacteriaceae 101株(症例1, 20株; 症例2, 45株; 症例3, 8株; 症例4, 11株; 症例5, 17株)の生物学的性状の一致性を検討した。その結果、無菌化前後で12組(症例2, 3組; 症例4, 4組; 症例5, 5組)に、全く同一の生物学的性状を有する菌株の組み合わせが見出された。次に、これら12組の菌体抗原の同一性がWidal法に準じた交差凝集反応で検討されたが、同一の菌体抗原を有する組み合わせは見出せなかった。

6. 腸管内無菌化後の菌叢回復時期にみられた細菌・真菌感染症

無菌化が中止されてから腸管内菌叢が再構成されるまでの期間を1か月として、この期間にみられた細菌・真菌感染症は、敗血症1例であった。無菌化中止直後に Candida albicans を原因菌として発症した²⁵⁾が、Candida albicans は便および咽頭から分離されておらず、その侵入門戸を明らかにすることはでき

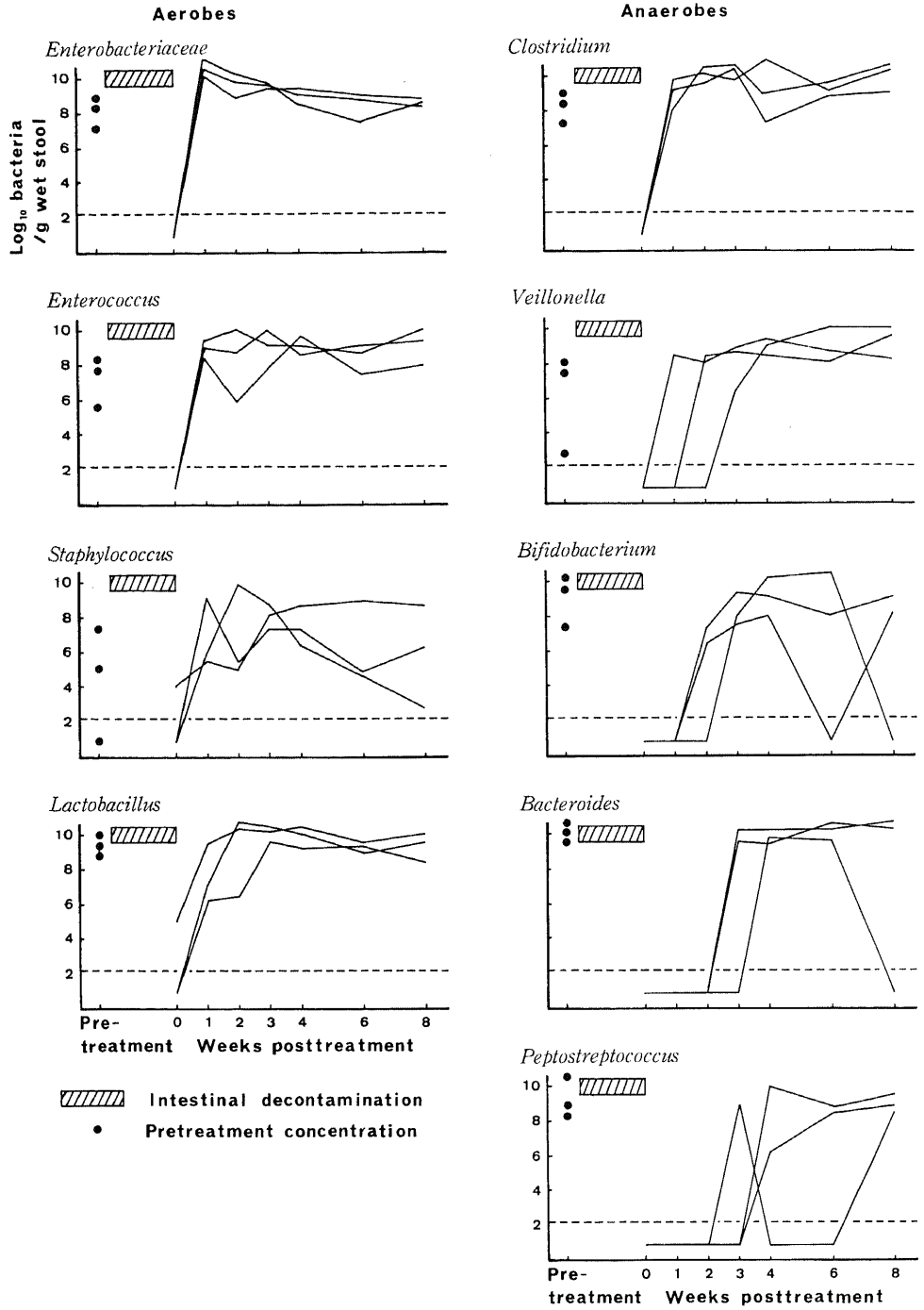


Fig. 4. Reappearance of fecal organisms after discontinuation of antibiotic prophylaxis

Table 6. Reappearance of pharyngeal organisms after discontinuation of antibiotic prophylaxis

	Pretreatment	Weeks posttreatment							
		0	1	2	3	4	6	8	
Aerobes									
<i>Enterobacteriaceae</i>									
Case 1	-	(+)	##	##	+	+	(+)	(+)	
Case 2	-	-	(+)	##	##	+	(+)	-	
Case 3	-	-	-	-	-	(+)	-	-	
<i>Streptococcus</i>									
Case 1	##	-	##	##	##	##	##	##	
Case 2	##	-	##	##	##	##	##	##	
Case 3	##	-	-	+	##	##	##	##	
<i>Lactobacillus</i>									
Case 1	##	-	##	##	##	##	##	##	
Case 2	##	-	##	##	##	##	##	##	
Case 3	##	##	##	##	##	##	##	##	
<i>Corynebacterium</i>									
Case 1	##	-	-	-	-	##	##	##	
Case 2	##	-	-	-	-	-	-	+	
Case 3	-	-	(+)	-	-	-	-	-	
<i>Neisseria</i>									
Case 1	##	-	-	-	-	(+)	-	-	
Case 2	+	-	-	-	-	-	(+)	+	
Case 3	##	-	-	-	-	-	-	(+)	
Anaerobes									
<i>Veillonella</i>									
Case 1	##	-	+	+	##	##	##	##	
Case 2	##	-	-	-	-	-	-	(+)	
Case 3	##	-	-	-	-	-	##	##	
<i>Bifidobacterium</i>									
Case 1	##	-	-	-	+	+	##	##	
Case 2	-	-	-	-	-	-	##	-	
Case 3	##	-	-	-	-	-	-	+	
<i>Bacteroides</i>									
Case 1	##	-	-	-	-	##	##	##	
Case 2	+	-	-	-	-	-	-	-	
Case 3	##	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Peptostreptococcus</i>									
Case 1	##	-	-	-	-	##	##	(+)	
Case 2	+	-	-	-	-	(+)	(+)	-	
Case 3	##	-	-	-	-	-	-	##	
<i>Fusobacterium</i>									
Case 1	+	-	-	-	-	-	-	-	
Case 2	+	-	-	-	-	(+)	(+)	-	
Case 3	##	-	-	-	-	-	-	-	

なかった。

考 察

感染予防のための菌叢抑制として、全菌叢抑制を可とする者と、選択的菌叢抑制を可とする者がある。選択的菌叢抑制とは、嫌気性菌が顆粒球減少患者においても滅多に感染を起こさない²⁶⁾ばかりか、菌叢中の嫌気性菌が病原菌の排除作用 (colonization resistance) を有している²⁷⁾ことを理論的根拠として、菌叢中の好気性菌だけの抑制をはかるようとするものである。しかしながら、感染症原因菌としての嫌気性菌の頻度は決して少なくない²⁸⁾。また、嫌気性菌は好気性菌との協同で感染を起こすとされている (二相性理論)²⁹⁾³⁰⁾が、抵抗力の極端に落ちている骨髄移植患者では、嫌気性菌が単独で感染を起こすことも十分に考えられる。現時点では、常在菌のすべてが感染症原因菌になる可能性を想定して、感染予防対策を企画したほうがよいと考えられる。

GVN 処方、1967 年 Bodey ら¹¹⁾によって全菌叢抑制を目的に考案されたもので、現在でも最も効果的で副作用の少ない処方として評価されている¹¹⁾。無菌環境下での GVN 処方が、白血病の寛解導入時の感染予防に有用であることは、すでに疑いのないところである³¹⁻³⁾。しかし、骨髄移植時の感染予防効果に関する検討は極めて少なく³¹⁾、とくに臨床細菌学的な立場から検討された報告はほとんどない。

GVN 処方開始後、GM 耐性 *Serratia marcescens* の抑制困難であった 1 例を除いて、19 例の便菌叢は速やかにほぼ完全に抑制された。骨髄移植時においても、GVN 処方が腸管内の菌叢抑制に極めて有効であった。GVN 投与中に敗血症が 2 例 (10%) にみられたが、1 例では GVN の内服の中断が、他の 1 例では無菌操作のミスが発症の原因と考えられた。一般病室では、白血病の寛解導入時でさえ、顆粒球数が $100/\text{mm}^3$ 以下に減少した時に 28% の頻度で敗血症が発症している³²⁾

無菌室治療のもとでの GVN 処方が、骨髄移植時の感染予防に如何に有効であるかを示すものである。

以上のように、GVN 処方は骨髄移植時の無菌室治療にも十分耐えうると考えられるが、まだいくつかの問題が残されている。第 1 に、GVN の投与が 5～6 週間以上に及ぶと、腸管の無菌状態の維持が困難になることがあげられる。無菌室治療中にも、種々の処置が室外から、時には医師・看護婦が入室して室内で行われる。この時の無菌操作のミスによるところが大きいと思われる。骨髄移植後、顆粒球数が $500/\text{mm}^3$ に回復するまでの期間が約 4 週間である³³⁾から、GVN の投与は約 5 週間でのよいことになる。しかし、移植後の骨髓機

能の回復が遅れ、GVN の投与が 6 週間以上に及ぶこともしばしばあり、常に厳密な無菌操作を行わなければならない。

第 2 に、無菌化の途中から GM に感性の *Pseudomonas aeruginosa* が分離されるようになったことが注目された。健康人における検討では、GM の便中濃度は $1,150\sim 2,350 \mu\text{g}/\text{g}^{14)}$ と十分な量が得られていた。菌の出現が、抗生剤に対する感受性と抗生剤の便中濃度に一致しないことがあり、今後この原因についての検討が必要と思われた。

第 3 に *Candida* と *Lactobacillus* の抑制が不十分なことがあげられる。*Candida* の抑制困難例は AMPH 投与例に多かったが、NYS の場合でも決して良好な成績は得られていない¹¹⁾。Bodey ら³⁴⁾は、NYS と 5-fluorocytosine (5FC) の併用で真菌抑制効果が上がったと報告している。しかし、骨髄移植患者に腸管吸収性でしかも骨髄抑制作用のある 5FC を投与することには、抵抗を覚える。一方、*Lactobacillus* の不十分な抑制は、DKB と TOB 使用例にみられたもので、GM 使用例にはみられなかった。*Lactobacillus* の DKB、TOB と GM に対する感受性の差がでたものと考えられた。*Lactobacillus* が心内膜炎などを発症したという報告³⁵⁾もあり、骨髄移植患者では非病原性菌として無視できない面がある。

4 番目に、GM 耐性菌が持続したことがあげられる。GM 耐性 *Serratia marcescens* 以外の菌はすべて抑制されており、最早 colonization resistance が働かず、漸増傾向を示したのであろう。幸い本菌による感染症の合併はみられなかったが、移植直後には放射線照射と GVN 内服による腸管粘膜障害、血小板減少による出血傾向を伴っており、発症の危険性が非常に大きかったといえる。GVN 投与中に咽頭から分離された *Pseudomonas aeruginosa* も、GVN 投与開始前にすでに見出されていることが多かった。無菌化開始前の便や咽頭の培養で、GM 耐性の *Serratia* や *Pseudomonas* が分離された場合には、これらの菌が便や咽頭から分離されなくなるまで無菌室治療を延期するとか、GM を AMK などの感受性を示す他の抗生剤に変更するといった配慮が必要であろう。

5 番目に、GVN の内服困難例がみられたことがあげられる。白血病寛解導入時における検討では、嘔気・嘔吐の副作用は極めて少ない¹¹⁾とされている。骨髄移植直後には、HSV や放射線照射による歯肉口内炎が高頻度に見られる³⁶⁾。この時期には、GVN の内服によって嘔気・嘔吐の誘発されることが多く、口内痛と相俟って、GVN の内服困難に陥ることが少なくなかった。その多くは 1～2 日で再び内服可能となり、

菌の再出現をみずに済んでいるが、GVNの内服が1週間にわたって中断された1例では、Enterobacteriaceaeの菌群とLactobacillusがほぼ無菌化開始前の菌数でみられるようになった。腸管の無菌状態を維持するためには、GVNの内服が確実に継続されなければならない。そのためにも、HSV 歯肉口内炎の予防対策の確立が待たれる。

6番目に、咽頭菌叢の抑制が便に比べて困難なことがあげられる。この理由は、抗生剤と菌の接触時間が咽頭で短いと考えられている³⁷⁾。抑制されなかった菌群の中で、嫌気性菌とLactobacillusには、LCMの追加吸入が有効な印象を受けた。しかし、Lactobacillus以外の咽頭好気性菌の抑制を確実にする方法は、今のところ見当らない。咽頭は敗血症原因菌の侵入門戸として重要で、咽頭菌叢の確実な抑制方法の開発が必要である。

腸管内無菌化中止後も無菌室と無菌食の条件を継続したにもかかわらず、1週目には無菌化開始前とほぼ同数の菌が便に見出された。Bodey⁸⁾は、GVN投与中も陰窩、潰瘍、裂溝といった抗生剤が十分に到達しがたい部位で菌が生きていると考え、実際、生物学的性状検査から、無菌化中止後に分離された菌株のいくつかは無菌化開始前に分離されていた菌株と同一であったと報告している。しかし、生物学的性状検査に加えて菌体抗原の面から検討した結果、Bodeyの報告⁸⁾と異なり、無菌化前後の菌株に同一の組み合わせを見出すことができなかった。無菌化前に菌数が少なく検出されなかった菌が無菌化後に増殖した、あるいは、抗生剤による菌の変異のために同一菌が別個の菌株として取り扱われた可能性が残されているものの、この事実からは、無菌化後の便菌叢が室外から持ち込まれた菌によって再構成される可能性も考えられ、興味を持たれる。

無菌化中止後の便菌叢は、新生児の便菌叢の形成過程³⁸⁾に類似した経過をとり、約1か月かかって再構成されるものと考えられる。咽頭菌叢の再構成には、便よりさらに長い期間を必要とするようであった。無菌化中止直後は、colonization resistanceの低下から、病原菌が持ち込まれた場合、著増をみる恐れがある。無菌化中止後も1か月間は、便および咽頭菌叢の監視を引き続いて行い、細菌・真菌感染症の合併に留意する必要があるように思われる。

結 論

20症例の骨髄移植患者に無菌室治療を実施し、腸管内菌叢抑制を目的としたGVN処方の効果や問題点について検討した。

1. GVN処方によって、19例の便菌叢は1週間以内にほぼ完全に抑制された。GVN投与中に敗血症が2例にみられたが、1例ではGVNの内服中断が、他の1例では無菌操作のミスが発症の原因と考えられた。GVN処方、骨髄移植時の腸管内菌叢抑制および感染予防に極めて有効であった。

2. GVN処方の問題点として、①GVN投与が5～6週間以上に及ぶ場合、腸管の無菌状態の維持が難しいこと、②Candidaの抑制不十分な場合があること、③GM耐性菌の著増をみる場合があること、④歯肉口内炎のためにGVNの内服が中断されると、1週間以内に菌の出現がみられること、⑤咽頭菌叢の抑制が便に比べ困難なこと、などがあげられる。

3. GVN投与中止後、腸管の菌叢再構成に約1か月を要したが、この時期に病原菌の著増とそれによる感染症を起こす可能性があり、GVN投与中止後も1か月間は菌叢の監視を継続する必要がある。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師服部絢一教授ならびに舟田久博士に深く謝意を表します。併せて、本研究遂行に際し、多大なる御援助、御協力を頂きました金沢大学医学部附属病院検査部藤田信一博士、第三内科丹羽和夫博士はじめ諸先生方、また益野志保子嬢に厚く御礼申し上げます。

本研究は文部省科学研究費(57440089, 58010031)によることを感謝いたします。

本論文の要旨は第15回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会(1982年3月、金沢)において発表した。

文 献

- 1) Schimpff, S. C., Young, V. M., Greene, W. H., Vermeulen, G. D., Modey, M. R. & Wiernik, P. H.: Origin of infection in acute nonlymphocytic leukemia. Significance of hospital acquisition of potential pathogens. *Ann. Intern. Med.*, **77**, 707-714 (1972).
- 2) Levine, A. S., Graw, R. G. Jr. & Young, R. C.: Management of infections in patients with leukemia and lymphoma: Current concepts and experimental approaches. *Semin. Hematol.*, **9**, 141-179 (1972).
- 3) Bodey, G. P., Gehan, E. A., Freireich, E. J. & Frei, E. III.: Protected environment-prophylactic program in the chemotherapy of acute leukemia. *Am. J. Med. Sci.*, **262**, 138-151 (1971).
- 4) Yates, J. W. & Holland, J. F.: A controlled study of isolation and endogenous microbial suppression in acute myelocytic leukemia patients.

- Cancer, 32, 1490-1498 (1973).
- 5) Levine, A. S., Siegel, S. E., Schreiber, A. D., Hauser, J., Preisler, H., Goldstein, I. M., Seidler, F., Simon, R., Perry, S., Bennete, J. E. & Henderson, E. S.: Protected environments and prophylactic antibiotics. *N. Engl. J. Med.*, 288, 477-483 (1973).
 - 6) Bodey, G. P., Loftis, J. & Bowen, E.: Protected environment for cancer patients. Effect of a prophylactic antibiotic regimen on the microbial flora of patients undergoing cancer chemotherapy. *Arch. Intern. Med.*, 122, 23-30 (1968).
 - 7) Preisler, H. D., Goldstein, I. M. & Henderson, E. S.: Gastrointestinal "sterilization" in the treatment of patients with acute leukemia. *Cancer*, 26, 1076-1081 (1970).
 - 8) Bodey, G. P.: Oral antibiotic prophylaxis in protected environment units: Effect of nonabsorbable and absorbable antibiotics on the fecal flora. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 1, 343-347 (1972).
 - 9) 長尾忠美・渡辺克仁・小松田光真・有森 茂: 無菌室治療に関する基礎的研究. *臨床血液*, 18, 1203-1210 (1977).
 - 10) 正岡 徹: 無菌病室の現況と応用. *感染・炎症・免疫*, 11, 311-317 (1981).
 - 11) Bodey, G. P. & Rosenbaum, B.: Effect of prophylactic measures on the microbial flora of patients in protected environment units. *Medicine*, 53, 209-228 (1974).
 - 12) Thomas, E. D., Storb, R., Clift, R. A., Fefer, A., Johnson, F. L., Neiman, P. E., Lerner, K. G., Glucksberg, H. & Buckner, C. D.: Bone-marrow transplantation. *N. Engl. J. Med.*, 292, 832-843, 895-902 (1975).
 - 13) Gale, R. P.: Autologous bone marrow transplantation in patients with cancer. *J. A. M. A.*, 243, 540-542 (1980).
 - 14) 舟田 久・丹羽和夫・藤田信一・服部絢一: 無菌室治療のための重症血液疾患患者の無菌化処置. *感染症誌*, 53, 182-204 (1979).
 - 15) NASA: Standards for clean rooms and work stations for the microbially controlled environment. NHB, 5340-5342 (1967).
 - 16) Rogosa, M., Mitchell, J. A. & Wiseman, R. F.: A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli. *J. Bacteriol.*, 62, 132-133 (1951).
 - 17) Cowan, S. T. & Steel, K. J.: Manual for the identification of medical bacteria, p 1-217. Cambridge University Press, Cambridge, 1973.
 - 18) Holdeman, L. V. & Moor, W. E. C.: Anaerobe laboratory manual, p 1-130, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, 1975.
 - 19) 鈴木祥一郎・上野一恵: 臨床嫌気性菌マニュアル. 1-104頁, 日水製薬, 東京. 1979.
 - 20) 舟田 久: 健康成人咽頭好気性菌叢の構成にかんする研究. *日内会誌*, 64, 771-782 (1975).
 - 21) 日本化学療法学会 MIC 測定法改定委員会: 最小発育阻止濃度 (MIC) 測定法改定について. *Chemotherapy*, 22, 1126-1128 (1974).
 - 22) 坂崎利一・波岡茂郎: 腸内細菌検査法, 53-62頁, 納谷書店, 東京. 1957.
 - 23) 舟田 久・藤田信一・丹羽和夫・服部絢一: Klebsiella の菌体抗原による群別. *検査と技術*, 6, 564-572 (1978).
 - 24) 舟田 久・近藤邦夫・丹羽和夫・服部絢一: 骨髄移植のための無菌室治療中にみられた Ecthyma gangrenosum の 1 例. *感染症誌*, 54, 164-168 (1980).
 - 25) 舟田 久・藤村政樹・手島博文・服部絢一・大井章史: 同種骨髄移植後に重症感染症を多発した急性単球性白血病の 1 例. *感染症誌*, 54, 544-549 (1980).
 - 26) Gaya, H., Tattersall, M. H. N., Hutchinson, R. M. & Spiers, A. S. D.: Changing patterns of infection in cancer patients. *Europ. J. Cancer*, 9, 401-406 (1973).
 - 27) Van der Waaij, D. & Berghuis, J. M.: Determination of colonization resistance of the digestive tract of individual mice. *J. Hyg.* 72, 379-387 (1974).
 - 28) 舟田 久: 敗血症・細菌性心内膜炎. *臨床成人病*, 11, 403-409 (1981).
 - 29) Weinstein, W. M., Onderdonk, A. B., Bartlett, J. G. & Gorbach, S. L.: Experimental intra-abdominal abscess in rats. Development of an experimental model. *Infect. Immunity*, 10, 1250-1255 (1974).
 - 30) 中山一誠: 嫌気性菌の生理的役割と病原性. 第 12 回嫌気性菌感染症研究会講演記録, 232-239 (1982).
 - 31) Buckner, C. D., Clift, R. A., Sanders, J. E., Meyers, J. D., Counts, G. W., Farewell, V. T., Thomas, E. D. & The Seattle Bone Marrow Transplant Team: Protective environment for

- marrow transplant recipients. *Ann. Intern. Med.*, **89**, 893-901 (1978).
- 32) 舟田 久: 全身感染症. *治療*, **63**, 643-649 (1981).
- 33) 吉田 喬・大竹茂樹・尾高和亮・塩原信太郎・手島博文・末永孝生・石野千津子・小林三郎・舟田 久・中村 忍・服部絢一・原田実根: 同種および自家骨髄移植による造血器腫瘍の治療, 移植, **16**, 220-227 (1981).
- 34) Bodey, G. P. & Rodriguez, V.: Protected environment-prophylactic antibiotic programmes; Microbiological studies. *Clin. Haematol.*, **5**, 395-408 (1976).
- 35) Sharpe, M. E., Hill, L. R. & Lapage, S. P.: Pathogenic lactobacilli. *J. Med. Microbiol.*, **6**, 281-286 (1973).
- 36) 舟田 久・吉田 喬・手島博文・塩原信太郎・大竹茂樹・服部絢一: 骨髄移植に合併した感染症. *感染症誌*, **55**, 602-613 (1981).
- 37) Johnston, D.A. & Bodey, G. P.: Oropharyngeal cultures of patients in protected environment units: Evaluation of semiquantitative technique during antibiotic prophylaxis. *Appl. Microbiol.*, **23**, 846-851 (1972).
- 38) 光岡知足: 腸内菌叢の研究における最近の進歩. *日細菌学誌*, **29**, 773-788 (1974).
- 39) 舟田 久・吉田 喬・手島博文・塩原信太郎・大竹茂樹・服部絢一: 骨髄移植に合併した感染症. *感染症誌*, **55**, 602-613 (1981).

Intestinal Decontamination for Infection Prevention in Patients Undergoing Bone Marrow Transplantation Hirofumi Teshima, Department of Internal Medicine (III), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - *J. J. Med. Soc.*, **92**, 598-609 (1983)

Key words: Intestinal Decontamination, Protected Environment-Prophylactic Antibiotic Program, Bone Marrow Transplantation.

Abstract

In an attempt to prevent infections complicating bone marrow transplantation, 20 patients received oral nonabsorbable antibiotics in protected environments. The standard antibiotic regimen consisted of gentamicin, vancomycin and nystatin (GVN). In 4 patients, either dibekacin or tobramycin was substituted for gentamicin, and in 8 patients amphotericin B for nystatin. In 19 patients, initiation of the oral antibiotics produced almost complete suppression of fecal flora within one week. In only one patient, gentamicin-resistant *Serratia marcescens* persisted in large number. It was usually difficult to keep stool cultures "sterile" for more than 6 weeks under the antibiotic prophylaxis. Rapid regrowth of enteric bacteria occurred in one patient who had stopped GVN intake more than one week because of difficulty in swallowing the antibiotics due to gingivo-stomatitis. *Candida* persisted in 4 patients despite the prophylaxis. *Lactobacillus* persisted in 2 patients who received the antibiotics that included dibekacin or tobramycin. On the other hand, the use of gentamicin produced complete suppression of the organism. Throat was far more difficult to decontaminate than stool. Decontaminated fecal flora required about one month after discontinuation of the antibiotic prophylaxis to reappear fully. None of the *Enterobacteriaceae* strains cultured from posttreatment stools proved to be biochemically or serologically identical to those present in the pretreatment specimens. Septicemia developed in only 2 patients during intestinal decontamination: one with *Pseudomonas aeruginosa* and the other with *Serratia marcescens*.

Based on these findings, GVN is thought to produce satisfactory suppression of intestinal flora, leading to reduce incidence of serious infections in bone marrow transplantation.