

無菌室治療の臨床細菌学的研究-2-無菌室収容患者の常在細菌叢の抑制について

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/2297/8766

無菌室治療の臨床細菌学的研究

〔II〕無菌室収容患者の常在細菌叢の抑制について

金沢大学大学院医学研究科内科学第3講座(主任：服部絢一教授)

丹 羽 和 夫

(昭和54年1月16日受付)

無菌室治療は、急性白血病や再生不良性貧血などの経過中に、非常に感染を受けやすい状態、たとえば原疾患の増悪や寛解導入療法、骨髄移植といった際に実施されている。この治療法は、おもに米国で臨床的な検討^{1)~3)}が進み、しだいに感染予防に有用であると認められるようになった。わが国では、数施設で実施されているに過ぎず、今後さらに普及するものと思われる。しかし、その運用には多大の手間と費用がかさむわりには、感染を完全には回避できず、また現状では、急性白血病の寛解率の上昇や生存期間の延長が必ずしも得られるとは限らないようである^{1)~3)}。そのうえ、抗生剤の長期経口投与による耐性菌の出現が危惧されている⁴⁾。

以上のような点を考慮すると、無菌室治療の前途はきわめて厳しい。無菌室治療中に起こる感染症の原因菌の多くは、投与抗生剤によって充分抑制されずに腸管や口腔に残存している菌であることが示唆されている⁵⁾。したがって、どのようにしたら効果的に生体を無菌状態に近づけることができるかが、無菌室治療に携わるものにとって大きな関心事である。

当科では、無菌室入室患者に前編⁶⁾で述べた gentamicin(GM), vancomycin(VCM), nystatin(NYS) からなる GVN 処方に加えて、抗生剤の吸入や皮膚消毒などの処置を講じて常在細菌叢の抑制に努めている。本編では、実際の臨床例を通じて常在細菌叢特に腸管や口腔の菌叢抑制を試みてきた経緯を述べ、臨床細菌学的に興味ある問題について若干の考察を加えた。

対 象

1977年4月より1978年8月までに、当科で無菌室

治療を実施した3名の患者を対象とした。治療の目的は、急性骨髄性白血病に対する寛解導入療法と再生不性貧血および急性リンパ球性白血病に対する同種骨髄移植である。患者の選択は、無菌室に入る意義を充分説明したうえで、入室を希望する患者に限ったが、すでに感染のある患者は、無菌室内で必要な検査や処置が困難なことから除外した。

方 法

無菌室入室前に、ヒビテン浴などの患者の清浄化処置を施し、入室直後より腸管および口腔内細菌叢を抑制するための抗生剤の経口投与と吸入を開始した。

抗生剤投与は、Table 1に示した処方で行ったが、菌叢抑制の状況に応じて多少の変更を加えた。患者の食事は、原則として加熱調理食に電子レンジで5~10分間のマイクロ波照射を行ったものとした。なお、当科では、1回のマイクロ波照射に供する食物の量を、たとえば、御飯や煮物ならば150g、オムレツやハンバーグならば厚さ約2cmのものを150g、というふうに規格化し、食器は耐熱ガラスのものを用いている。予備的に行った試験では、加熱調理食の汚染菌として分離頻度が高かった *Lactobacillus*, *Micrococcus* などの栄養型細菌は、2~3分のマイクロ波照射で死滅した。しかし、孢子型菌である *Bacillus* や *Clostridium* を含む食物では、5分前後の照射を要した。

細菌学的検査として、無菌室入室前と入室後は週1~2回定期的に便、咽頭培養を行い、分離菌の薬剤感受性試験を行った。また、GM高度感性的 *Klebsiella* を検定菌として、GMの血中および尿中濃度を測定した。方法は、すべて前編⁶⁾と同様に行った。なお、咽頭

Clinical and bacteriological studies on a protected environment-prophylactic anti-biotic program. [II] The microbial suppression of patients in a bioclean room. Kazuo Niwa, The Third Department of Internal Medicine, (Prof. K. Hattori), Kanazawa University School of Medicine, Kanazawa.

Table 1. Antibiotic protocol

Oral antibiotics

Regimen I	GM 200mg	Every 4 hours	Case 1 *
	VCM 250mg		
	NYS 3.5 mill. units		
Regimen II	GM 240mg	Every 6 hours	Case 1 **
	VCM 500mg		Case 2
	NYS 3.0 mill. units		Case 3

Spray

Regimen I	KM 30mg	Every 4 hours	Case 1
	VCM 3mg		
	PL-B 1.5mg		
	AMPH 1.5mg		
Regimen II	GM 20mg	Every 6 hours	Case 2
	VCM 100mg		Case 3
	AMPH 5mg		

*: first entry, **: second entry

培養は、抗生剤吸入直前に、滅菌綿棒を用いて咽頭粘液を拭いとり、これを好気ならびに嫌気培養に供した。分離培地には、便培養で用いたものに Haemophilus の分離のためチョコレート寒天培地を追加した。判定は半定量的に5段階に分けて、###, ##, +, (+), -とした⁷⁾。

成 績

1. 急性骨髄性白血病に対する寛解導入療法中の無菌室治療 (症例1)

症例は、37才の女性で、入院時より著しい顆粒球減少や出血傾向を認めた。このため、疾患の増悪と抗白血病剤の投与の時期に合わせて、約1カ月の間隔で2回の無菌室治療を実施した。第1回目が26日間、第2回目が20日間で、この間、血液学的な寛解は得られなかったが、感染の徴候もなく経過した。しかし、第2回目の抗生剤中止6日目に脳出血のため死亡した。

第1回目入室時の抗生剤投与は、当初1日6回に分けて行っていたが、強度の不眠を訴えたため、1日5回に変更した。自覚的变化として、排便回数が1日2~3回となり、軟便となった以外には悪心、嘔吐などの消化器症状はほとんどなく、拘禁症状などの精神的変化もなかった。また、Table 2 に示したように薬剤の副作用を思わせる血液化学的な異常も認めず、逆に入室前より、トランスアミラーゼ値の軽度上昇を認めてい

たが、安静を強いられたためか正常化した。

第1回目入室時の便の培養検査は、GAM 寒天培地を用いて好気および嫌氣的に混積培養を行い、総菌数のみを算定した。Fig.1のように、GVNの投与開始9日目で好気性菌、嫌気性菌ともに抑制され、約2週間持続した。この間に抗生剤の投与量、投与回数を変更したが、菌叢の抑制状態は変化しなかった。しかし、投与開始25日目で嫌気性菌が 10^4 /g 検出された。この時点で、患者の血液学的状態も考慮して、無菌室、無菌食の条件下で抗生剤の投与のみを中止した。中止6日目には、好気性菌、嫌気性菌ともにほぼもとの菌数に回復した。

以上の成績から、(1)患者は無菌室治療にかなりの期間耐え、GVNによる副作用もきわめて少ないこと。(2)GVNの投与によって、全般的な便菌叢の抑制が持続すること。などの無菌室治療の基本的事項が確認された。

第2回目入室時の抗生剤投与は、前編⁶⁾で述べたGVNの処方では開始した。便、咽頭培養で得られた菌叢構成の変動をTable 3 に示した。便の好気性菌の抑制は、投与5日目以後ずっと持続したのに対して、嫌気性菌の抑制は全く不十分で、Clostridium の抑制に10日間要し、その上にBacteroides, Lactobacillus が 10^5 /g 以下で出没を繰り返した。Candida は、Fig.2

Table 2. Laboratory findings (Case 1)

	Pre-entry	GVN			
		8	15	22	31
Total protein (g/dl)	6.5	6.2	5.8	6.1	6.3
Al-p (13-48 u.)	21	12	13	19	19
GOT (0-17 u.)	33	10	9	21	20
GPT (0-13 u.)	57	29	14	35	48
Total cholesterol (mg/dl)	218	162	122	170	ND
BUN (mg/dl)	12	22	16	14	17
Creatinine (mg/dl)	0.6	0.9	0.7	0.8	0.8

ND not done

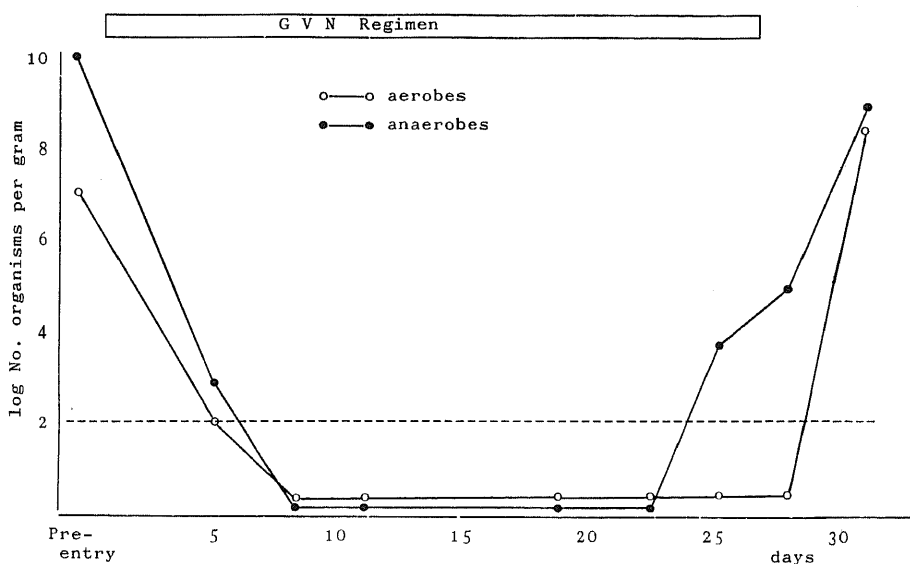


Fig. 1. Changes in a total number of fecal bacteria (Case 1, first entry)

のように、NYSを2700万単位/日まで増量したものの、容易に除去されず、かえって増加傾向を示した。このために20日間でGVN投与中止を余儀なくされた。GVN中止7日目には、無菌室と無菌食の条件下にもかかわらず、ほぼもとの菌叢に回復した。

GVN投与中の便培養成績の読みに当たって、各濃度段階における平板上の発育集落の割合が釣り合わず、たとえば、5倍希釈した検液を塗抹した平板に発育がみられず、50倍希釈した検液を塗抹した平板に多数の集

落がみられるといった場合にしばしば遭遇した。これは、便の抗生剤がきわめて高濃度であるために、分離平板が抗生剤を多量に含有した平板となったことが原因と考えられる。したがって、便にGVNに対して高度感性菌が少数存在しても分離平板上に発育せず、多数存在してはじめて分離可能となることが当然予想される。

咽頭では、抗生剤投与によって菌叢構成に大きな変動がみられた。好気性菌は、全般的に抑制され、わず

Table 3. Numerical changes in fecal and oropharyngeal flora during GVN administration in the bioclean room (Case 1, second entry)

Day of study	Pre-entry	2	5	7	10	14	19	23	27
	← G V N Regimen → ← Sterile Food →								
Fecal flora									
Total count	10.2*	5.5	5.0	7.4	3.0	5.0	6.2	8.9	10.2
Escherichia coli	9.3	4.8						4.0	8.5
Klebsiella	6.0								7.5
Enterobacter									7.3
Citrobacter	7.0								7.0
Staphylococcus	5.0	3.0							5.3
Streptococcus	9.0	4.0							9.7
Bacillus	2.5	5.3							
Corynebacterium	4.6								
Peptostreptococcus	9.0							4.5	8.0
Lactobacillus	7.3		5.0			4.1	5.4	8.5	9.0
Bifidobacterium	4.0								9.8
Clostridium	9.4	4.0	3.0	3.6				4.0	9.0
Veillonella	8.0							5.3	8.7
Bacteroides	9.8	4.4		3.5		2.0			9.3
Fusobacterium	9.3								
Candida	3.3		2.3	7.4	3.0	5.0	6.0	3.9	4.9
Pharyngeal flora									
Streptococcus	+++		+	+		++	+	+++	+++
Neisseria	+++								
Corynebacterium								++	++
Micrococcus	+								+++
Staphylococcus	+		(+)			+		+	+++
Hemophilus	+++								
Enterobacter	(+)								
Peptostreptococcus	+++		(+)				+	++	+++
Lactobacillus	(+)		(+)	+		+	+	++	+++
Bifidobacterium	+								
Veillonella	+++		(+)	++		++	++	++	+++
Bacteroides	++		++	+++		+++	+++	++	+++
Fusobacterium			(+)			(+)	(+)	(+)	++
Candida									(+)

* Log bacterial counts

かに α -Streptococcus, Staphylococcus epidermidis がみられたに過ぎなかった。しかし、嫌気性菌では、総菌数にほとんど変化がみられず、優勢菌であった Peptostreptococcus が抑制され、逆に Bacteroides の増加をみた。

第2回目入室時に、便および咽頭より分離された E.coli, Klebsiella, Bacteroides, Veillonella, Clostridium の GM と VCM に対する感受性分布の推移を Fig.3 に示した。E.coli, Klebsiella では、抗生剤投与前後で GM に対する MIC の分布に全く変化をみなかった。嫌気性菌では、投与中止直後に投与前と比べて大きい MIC を示す株の出現がみられた。GVN 投与中に便より分離さ

れた Lactobacillus や Bacteroides は、GM:800 μ g/ml, VCM:1600 μ g/ml を耐性と感性の境界濃度とする⁶⁾と、GM あるいは VCM に感性であった点は興味深い。また、NYS の大量投与に抗して出現した Candida は、全経過を通じて NY5 の MIC が 3.13~6.25 μ g/ml であった。

抗生剤の腸管からの吸収は、健康人での成績から、GM についてのみ血中および尿中濃度をもって検討した。GM の血中濃度は測定限界 1.25 μ g/ml 以下であった。GM の尿中濃度と尿中排泄量は Fig.4 に示したとおりで、これは 1日投与量の 1.0~2.4% に相当する。

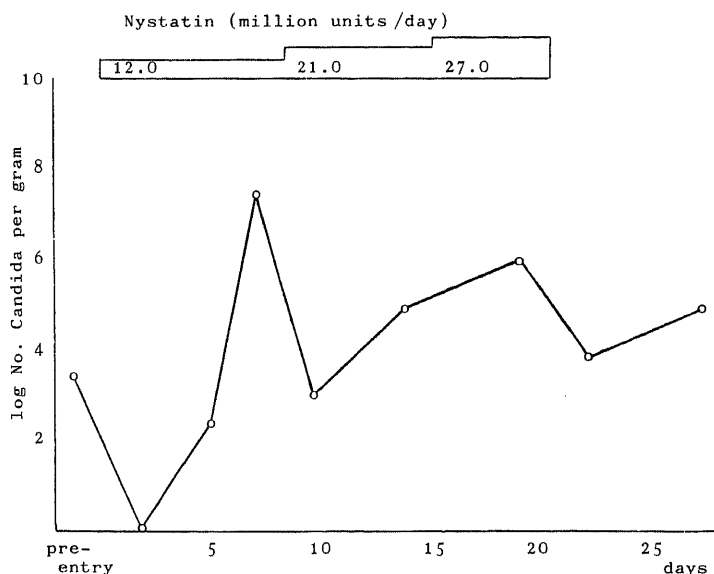


Fig. 2. *Candida* grew luxuriantly in spite of nystatin, which was gradually increased to 2.7 million units a day. (Case 1, second entry)

2. 再生不良性貧血に対する骨髄移植前後の無菌室治療 (症例2)

症例は、27才の女性で、HLAが一致した姉をdonorとした同種骨髄移植を受けた。骨髄移植には、cyclophosphamideやmethotrexateの大量投与が必要のため、骨髄抑制が強くなり、高度の顆粒球減少が予測された。それゆえ、移植8日前より無菌室治療を開始した。抗生剤投与期間は68日間で、そのうち顆粒球数 $100/\text{mm}^3$ 以下の期間が24日間続き、*Pseudomonas aeruginosa*による歯肉炎や口腔内単純ヘルペスを併発したが、Sulbenicillin(SB-PC)やamikacin(AMK)の全身投与、顆粒球輸注、 γ -グロブリンの投与などを加え、重症感染に至らずに治癒した。なお、無菌室内で軽度ながらも膜下出血による眼筋麻痺を認めた。移植片は拒絶され、不成功に終わったが、顆粒球数 $1000/\text{mm}^3$ を目安に抗生剤の投与を中止した。

抗生剤処方、前回と同様のGVNを用いた。吸入用の処方、症例1で口腔内の嫌気性菌の抑制が全く不能であったことから、VCMの吸入量を大幅に増量し、処方を単純化するためkanamycin, polymyxin BをGMに変更した。排便回数の増加と軟便傾向を示した点は症例1と同様であったが、歯肉炎、口腔内潰瘍を生じた頃より、NYSの服用によって悪心、嘔吐を訴えることがあった。入室期間が長期に渡ったにもかかわらず、拘禁症状をみなかった。

便、咽頭培養の成績をTable.4に示した。無菌室入室後1週間は、無菌食の投与のみを行ったが、便菌叢の構成にほとんど変化をみなかった。抗生剤投与後、1週目ですでに便、咽頭菌叢ともに全菌群が抑制された。この抑制状態は、便で*Candida*が出現するまで7週間、咽頭で*P.aeruginosa*が出現するまで5週間持続した。*P.aeruginosa*の出現と同時に歯肉炎を併発した。発症2週目に、分離された*P.aeruginosa*(血清型G)に対する血中抗体価は有意に上昇した。なお、発症1週前に無菌室内で汚水の逆流という事故があり、空中落下菌から同一血清型の*P.aeruginosa*が検出されていた。GVN中止後、無菌室、無菌食の条件下にもかかわらず、便で2週目に、*Bacteroides*を除く全菌群が出揃った。なお、嫌気性菌では、*Lactobacillus*と*Clostridium*が早期に回復してきた。

GVN投与中のGMの血中濃度は、測定限界($1.25\mu\text{g}/\text{ml}$)以下であった。尿中濃度と尿中排泄量は、Fig.5に示したとおりで、これは1日投与量の1.0~3.8%に相当する。

3. 急性リンパ球性白血病に対する骨髄移植前後の無菌室治療 (症例3)

症例は、27才の男性で、HLAが一致した妹をdonorとした同種骨髄移植を受けた。この前後に、症例2と同様の大量の免疫抑制剤の投与に加えて、放射線照射を受けた。抗生剤投与期間は67日間で、顆粒球

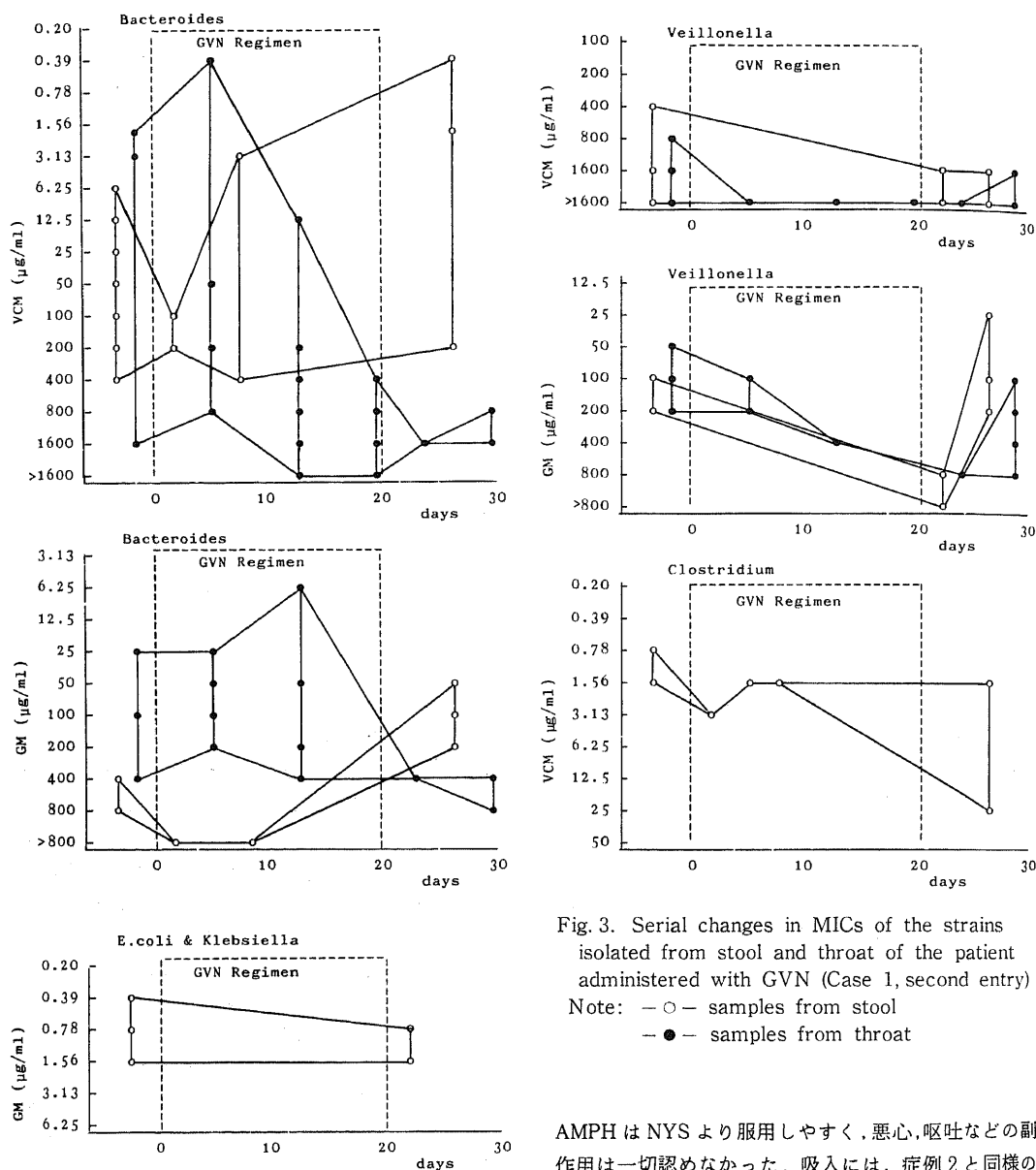


Fig. 3. Serial changes in MICs of the strains isolated from stool and throat of the patient administered with GVN (Case 1, second entry)

Note: —○— samples from stool
—●— samples from throat

数 $100/\text{mm}^3$ 以下の期間が25日間続いた。しかし、graft-versus-host disease(GVHD)を経過し、生着が証明された後は順調に顆粒球数が増加し、 $1000/\text{mm}^3$ を越えた時点で、抗生剤の投与を中止した。この間、GVHDによる一過性の発熱と全身の紅斑をみたが、明らかな感染を示唆する所見はなかった。

本例は、NYSの投与で激しい悪心を訴えることが予め分かっていたので、抗生剤処方、NYSを amphotericin B (AMPH) に代えた GVA で行った。

AMPHはNYSより服用しやすく、悪心、嘔吐などの副作用は一切認めなかった。吸入には、症例2と同様の処方を用いた。また、食物の汚染菌が生体に定着するかどうかの検討のため、顆粒球数 $500/\text{mm}^3$ を目安に無菌食から加熱調理だけの食事に切り換えた。

便、咽頭培養の成績をTable 5に示した。好気性菌はすべて抗生剤投与1週目で抑制されたが、症例2と異なり嫌気性菌の抑制はやや遅れた。便では、Clostridiumのみが2週目に $10^3/\text{g}$ となったが、3週目から抑制され、菌叢の完全な抑制状態は5週間持続した。咽頭では、嫌気性菌の抑制が不充分であったため lincomycin の吸入を追加し、菌叢の抑制を計った。

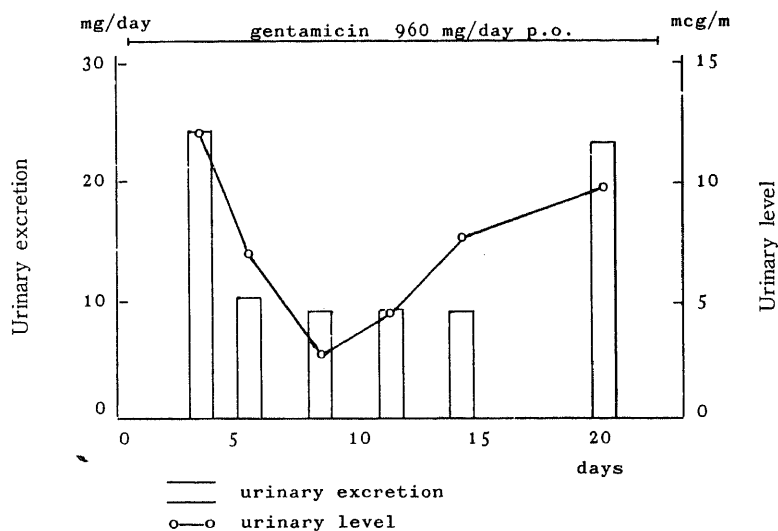


Fig. 4. Urinary level and excretion of gentamicin in 24-hour urine specimen: Gentamicin absorption from gastrointestinal tract (Case 1)

Table 4. Numerical changes in fecal and oropharyngeal flora during GVN administration in the bioclean room (Case 2)

Week of study	GVN Regimen												
	Pre-entry	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		← Sterile Food →											
Fecal flora													
Total count	10.3*	10.7								3.1	4.0	9.5	8.6
Escherichia coli	6.8	8.8										9.4	7.1
Klebsiella	5.7	8.2										8.6	7.9
Enterobacter	5.0	8.5											7.0
Citrobacter	6.2	8.2											8.0
Pseudomonas													4.2
Staphylococcus	4.0	3.0											5.6
Streptococcus	7.2	8.9											3.0
Bacillus	3.5	2.3											7.0
Corynebacterium	4.0	2.7											6.9
Peptostreptococcus	9.9	10.3											3.0
Lactobacillus	7.6	7.9											2.8
Bifidobacterium													7.0
Clostridium	7.0	8.0											8.2
Veillonella	7.8	6.1											7.7
Bacteroides	10.1	10.4											7.4
Candida	3.3	3.4											8.8
													7.9
													4.0
													7.8
Pharyngeal flora	N.D.												
Streptococcus		+++		(+)		(+)							
Neisseria		+++											+++
Micrococcus													+++
Hemophilus		++											++
Klebsiella		+											
Pseudomonas						++				(+)			
Peptostreptococcus		+++											
Lactobacillus		+											+
Clostridium		++											
Veillonella		+++											
Bacteroides		(+)											
Fusobacterium		+++											
Candida													+

*Log bacterial counts

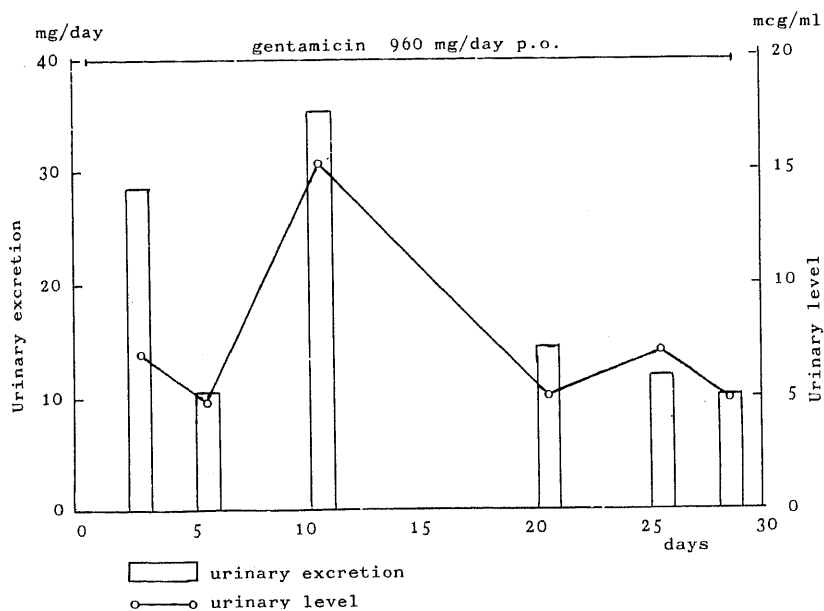


Fig. 5. Urinary level and excretion of gentamicin in 24-hour urine specimen: Gentamicin absorption from gastrointestinal tract (Case 2)

Table 5. Numerical changes in fecal and oropharyngeal flora during GVN administration in the bioclean room (Case 3)

Week of study	Pre-entry	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		G V A Regimen											
		Sterile Food						Cooked Food					
Fecal flora													
Total count	10.3*	6.4	9.0						4.8	4.4	3.6	9.7	9.9
Escherichia coli	7.6											7.7	9.1
Klebsiella	7.3											9.6	9.2
Enterobacter	7.7												
Citrobacter													6.6
Proteus													8.3
Pseudomonas									4.8	4.4	3.6	7.3	8.6
Streptococcus	7.5											9.0	8.4
Bacillus	7.1												
Peptostreptococcus	9.4												
Lactobacillus	6.7												8.0
Bifidobacterium	9.2												
Clostridium	9.0	6.4	9.0										9.1
Veillonella	8.6												8.7
Bacteroides	10.1												9.3
Pharyngeal flora													
Streptococcus	+++												
Neisseria	+++												
Corynebacterium	(+)												
Escherichia coli												+++	+++
Klebsiella												+++	+++
Pseudomonas								+	(+)	++	++	++	+++
Peptostreptococcus	++												
Lactobacillus				(+)	(+)								+++
Bifidobacterium	+												
Veillonella	++	+											
Bacteroides	++	+++	+										
Fusobacterium	++	++	(+)										

* Log bacterial counts

しかし、咽頭で6週目、便で8週目より *P.aeruginosa* が検出されるようになった。そのため、吸入抗生剤の増量、SB-PC、AMKの全身的投与を加えたが消失しなかった。それでも、便の *P.aeruginosa* は 10^4 / g にとどまり、血中抗体価の上昇も認めなかったため、GVAの投与を継続した。便および咽頭より分離された *P.aeruginosa* は、同一血清型Gで、GMには高度感性であった。

抗生剤中止2週前より、無菌食から加熱調理食に変更したが、新しい菌の定着はみられなかった。また、加熱調理食には、*Micrococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Clostridium* などが 10^3 / g 以下でみられたが、抗生剤投与中止1週目にも、これらの汚染菌は検出されなかった。

抗生剤中止1週目には、便で好気性菌とくに腸内細菌と腸球菌の著しい増加がみられたが、嫌気性菌は全く検出されなかった。中止2週目には、ほぼ回復がみられたが、*Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus* の回復はさらに遅れるようであった。咽頭における嫌気性菌の回復は、便よりさらに遅れ、中止2週目でも *Lactobacillus* の出現をみたに過ぎなかった。なお、全経過を通じて *Candida* は検出されず、AMPHの効果判定には及ばなかった。

本例で分離された *P.aeruginosa* の由来を知るため、無菌室内の各所、電子レンジ内、消毒用ヒビテン液などの培養検査を行ったが、*P.aeruginosa* は見い出せなかった。しかし、食事用のテーブルや電子レンジ内のターンテーブルの裏面から多数のグラム陰性桿菌が分離された。これは、こぼれた食物をそのまま放置していたため、食器の外面に付着していた細菌が増殖したものと思われ、これらの部位の消毒をもっと厳重に行う必要がある。

考 察

無菌室治療の腸管内細菌叢の抑制を目的としたGM、VCM、NYSの処方(GVN)は、1967年Bodeyら⁸⁾によって始められた。その後、米国では、この処方が広く用いられている。しかし、わが国では、VCMが入手し難くこれまで使用されていなかった。最近、当科で3症例にGVNを用いた経験では、諸家の報告^{3), 9)}でみられるように、腸管内のほとんど全菌叢の抑制にきわめて有効であった。しかし、症例ごとにもみると、菌叢の変動は一様でなく、臨床面との絡みでいろいろな場合に遭遇した。

GVNの副作用として、悪心、嘔吐、軽度の下痢などが知られている。症例3ではNYSの投与でしい悪心

を訴えたため、代りにAMPHを使用した。AMPHの場合は、全く悪心がみられず、NYSによる副作用が強い症例に使用してみる価値がある。また、症例2では、GVNの投与期間が68日間ときわめて長期に渡ったが、ほとんど副作用をみなかった。

GVN投与中の便菌叢は、一部の細菌や真菌が出現する場合がみられたが、全般的に抑制状態はよく保たれた。好気性菌の場合は、比較的抑制が容易で、投与1週間以内に全菌叢が抑制された。しかし、投与後半に、GM感性の *P.aeruginosa* が出現した症例では、その抑制は非常に困難であった。便から分離される以前より、口腔から持続的に同一菌叢が分離されていたことから、口腔内で増殖した菌が多数飲み込まれて、便から検出されたものと考えた。今回の3症例では検出されなかったが、*Serratia* も一旦出現するとその抑制はかなりむずかしいようである⁹⁾。それゆえ、入室前の培養検査で、*P.aeruginosa* や *Serratia* が検出された場合は、無菌室治療は差し控えた方が無難であろう。また、GM経口投与中にGM耐性の *P.aeruginosa* が出現したという報告もある⁴⁾。

嫌気性菌の場合は、*Lactobacillus* や *Bacteroides* が出現する症例があったが、同一菌叢が連続して分離されることはなかった。また、*Clostridium* の抑制に日数を要する場合がみられ、さらに、GVN中止後どちらかというと早期に回復してくる傾向がみられた。したがって、*Clostridium* が腸管内で孢子型で存在する可能性が強いとされている¹⁰⁾ ことから、抗生剤の影響を受けにくく、GVN投与中もかなりの菌数で生存しているのかもしれない。これらの中では、特に *Lactobacillus* の抑制が困難なようである⁸⁾。前編⁶⁾で検討した各種菌株の薬剤感受性成績では、*Lactobacillus* がGMとVCMの両剤に高いMICを示す株が多くみられたことや便の抗生剤濃度にかんがのばらつきがみられたことから、このことは当然予想される。

GVNは、真菌の抑制に難点があるといわれている⁹⁾。Bodeyら⁸⁾は、NYS以外にAMPH、candidinを試みているが、抑制されたのは真菌の4%に過ぎなかったとしている。しかし、*Candida* は *in vitro* で耐性化しないとされている¹¹⁾し、本研究でも耐性菌は出現しなかった。それにもかかわらず、症例1で、NYSを1日2700万単位まで増量したが、抑制し得なかった。なお、NYSの増量によってはじめて抑制が可能であった症例の報告もみられる¹²⁾。

GVN投与中の便培養は、前述したとおり、便に高濃度に存在する抗生剤を不活化して培養に供することが

できないために、この成績から直ちに便が無菌化したと判定するわけにはいかない。また、便菌叢が、腸管内細菌叢のすべてを表現しているわけでもなく、無菌室、無菌食の条件下でも、抗生剤を中止すると速やかにもとの菌叢に回復してくることを考え合わせると、GVN投与中といえども多数の菌が腸管内に残存していることが示唆される。

口腔内菌叢の抑制も、腸管の場合と同様にきわめて重要で、感染予防のためにはないがしるにできない⁵⁾。しかし、口腔は腸管に比べて抗生剤による菌叢抑制はさらに困難なようである。これは、口腔内で菌と抗生剤との接触時間が短いことが大きな理由と考えられている⁵⁾。当初、症例1で用いた吸入の処方では、*Neisseria*, *Micrococcus*, *Haemophilus* を抑制し得たに過ぎず、嫌気性菌には全く無効であった。そのため症例2, 3では、GM, VCM, AMPHを主体とし、特に嫌気性菌の抑制のため、VCMは従来用いられてきたより大量を投与した。この処方によって、便菌叢の抑制状態に見劣りしない程度の抑制が得られた。それでも、症例2, 3で *P.aeruginosa* が投与後半に出現し、1例は歯肉炎を併発した。この症例は、全身的に大量の抗生剤療法を加え、一旦咽頭から菌を検出しなくなったが、GVN中止後、便から同一血清型の *P.aeruginosa* が検出されたことから、消化管内のどこかに潜んでいたことが窺われる。また、症例1で、便の嫌気性菌が出没を繰り返した原因として、2回目の投与であったことや出血傾向が強かったこと以外に、咽頭の嫌気性菌がほとんど抑制されていなかったことが挙げられる。したがって、腸管内細菌叢の抑制には、まず口腔内細菌叢の抑制が前提条件と考えられる。

抗生剤中止後の便菌叢の回復過程において、*E.coli*, *Klebsiella* などの腸内細菌や腸球菌は速やかに回復し、嫌気性菌なかでも *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* はやや遅れて回復してくるという具合に、若干の特徴がみられ、全菌群がもとの菌数に回復するには2週間以上要するようであった。このような菌叢構成の攪乱にともなって、外来菌の定着も容易になると考えられ、抗生剤中止後も感染防止のため無菌室、無菌食のもとで経過を観察するのが望ましいであろう。

投与抗生剤が非吸収性の組合せであるということは、腸管内で抗生剤が均一に高濃度を維持し、長期投与でも全身性の副作用が出現しにくいという意味できわめて重要である。GMの腸管からの吸収量は、1日あたり40mg(投与総量の4%)以下であった。しかし、健康人での成績と比べると3倍以上の量であり、腸管

に損傷がある場合、吸収量が増大することが知られている⁹⁾ことから、出血傾向が強かったことや原疾患の治療薬剤による腸管損傷が原因と思われる。また、VCMでも同様のことが知られている¹⁴⁾。特に、骨髄移植においては、GVHDによる多発性の腸管潰瘍が知られている¹⁵⁾ため注意を要する。

病院内において、食事はグラム陰性桿菌の伝播に関与していることが示唆されている^{16), 17)}ことから、無菌室収容患者には、無菌食を与えるのが確実である。しかし、無菌室治療は、疾患自体の治療のために食欲が減退しているうえに、精神的にも打ちのめされた患者を対象としていることから、食事の内容が単純になりがちなる無菌食よりできることなら普通食としたい。症例3の検討では、加熱調理食の投与で汚染菌の定着をみなかったことから、少なくとも完全な無菌食は必要ないように思える。また、電子レンジのマイクロ波が食物の殺菌にきわめて有効であったことから、今後は普通食に2~3分のマイクロ波照射を行い、栄養型細菌の殺菌だけにとどめるのも一法であろう。

当科で実施した無菌室治療は、延べ181日間であるが、顆粒球数が極端に減少した時期にも敗血症や肺炎などの重症感染症はみられず、感染予防の効果は充分であったという印象を持っている。諸家の報告¹⁾⁻³⁾でも、感染頻度が減少するという点では異論がないようである。しかし、無菌室治療中には出血による死亡率がえって増加したという報告²⁾もみられ、当科の2例も出血による合併症を有し、1例は死因となった。このような基礎疾患自体からみた無菌室治療の功罪については今後の検討が待たれる。

結 論

最近、3名の急性白血病や再生不良性貧血の患者で4回の無菌室治療を実施した。その際、常在細菌叢の抑制に重点をおいて、GVNの効果、問題点、副作用などについて検討した。

1. GVN投与によって、腸管内細菌叢は速やかに抑制され、投与中はほぼこの抑制状態が維持された。しかし、*P.aeruginosa*、一部の嫌気性菌、真菌では、投与抗生剤に感性であっても、抑制されない場合もみられた。GVN中止後、無菌室、無菌食の条件下で、菌叢の回復がみられたことから、腸管内細菌叢がいかに抑制されたといっても、大部分の菌群は少数ながら残存している可能性が示唆された。また、菌叢の回復過程において、すべての菌群が同時に回復してくるわけではなく、一般に、嫌気性菌叢の回復は遅れる傾向がみられた。口腔内菌叢は、GVAの吸入によってほぼ抑制さ

れた。しかし、*P.aeruginosa* の抑制はむずかしく、1例で歯肉炎を併発した。

2. GVN の副作用として、悪心や軽度の下痢がみられた。特に1例で、NYS による激しい悪心のため、代わりに AMPH を用いた。GVN の3剤とも非吸収性の抗生剤とされているが、腸管の損傷によって GM、VCM の吸収量が増大する場合があります。

3. 延べ無菌室治療期間 181 日間で、重症感染症はみられず、感染予防の効果が充分あったと思われた。

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純一教授ならびに御教示を頂きました舟田久博士に深く感謝の意を表します。併せて、本研究遂行に際し、多大な御協力を頂きました金沢大学医学部付属病院検査部藤田信一先生に厚く御礼申し上げます。

本研究の一部は、昭和 52 年度文部省科学研究費 (144046, 287198, 237027) によって行われた。また、薬剤の提供に御協力を頂きました米国 Eli Lilly 社、Lilly 日本支社、エッセックス日本株式会社、三共株式会社に深謝いたします。

文 献

- 1) Bodey, G. P., Gehun, E. A., Freireich, E. J. & Frei, E. III: Protected environment prophylactic antibiotic program in the chemotherapy of acute leukemia. *Am. J. Med. Sci.*, 262, 138 - 151 (1971).
- 2) Yates, J. & Holland, J. F.: A controlled study of isolation and endogenous microbial suppression in acute myelocytic leukemia patients. *Cancer*, 32, 1490 - 1498 (1973).
- 3) Schimpff, S. C., Greene, W. H., Young, V. M., Fortner, C. L., Jepsen, L., Cusack, N., Block, J. B. & Wiernik, P. H.: Infection prevention in acute nonlymphocytic leukemia. *Ann. Intern. Med.*, 82, 351 - 358 (1975).
- 4) Greene, W. H., Moody, M., Schimpff, S., Young, V. M. & Wiernik, P. H.: *Pseudomonas aeruginosa* resistant to carbenicillin and gentamicin. *Ann. Intern. Med.*, 79, 684 - 689 (1973).
- 5) 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).
- 6) 丹羽和夫: 無菌室治療の臨床細菌学的研究 [I] 腸管内常在細菌叢の抑制について 十全医会誌 88(投稿中), (1979)
- 7) 舟田久: 健康成人咽頭好気性菌叢の構成にかんする研究, 日内誌, 64, 19 - 30 (1975).
- 8) Bodey, G. P. & Rorenbaum, B.: Effect of prophylactic measure on the microbial flora of patients in protected environment units. *Medicine*, 53, 209 - 228 (1974).
- 9) Preisler, H.D., Goldstein, I.M. & Henderson, E.S.: Gastrointestinal "sterilization" in the treatment of patients with acute leukemia. *Cancer*, 26, 1076 - 1081 (1970).
- 10) 西田尚紀: 人腸管におけるウェルシュ菌の動態, 最新医学, 33, 2026 - 2029 (1978).
- 11) Goodman, L. S. & Gilman, A.: The pharmacological basis of therapeutics., p1299, 4th ed, The Macmillan Co., London, 1970.
- 12) Bodey, G. P., Loftis, J. & Bowen, E.: Protected environment for cancer patients. *Arch. Intern. Med.*, 122, 23 - 30 (1968).
- 13) 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).
- 14) Tedesco, F., Markham, R., Gurwith, M., Christie, D. & Bartlett, J.G.: Oral vancomycin for antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Lancet*, 226 - 228 (1978).
- 15) Solberg, C. O., Meuwissen, H. D., Needham, R. N., Good, R. A. & Matsen, J. M.: Infectious complication in bone marrow transplant patient. *Br. Med. J.*, 1, 18 - 23 (1971).
- 16) Shooter, R.A., Cooke, E.M., Gaya, H. & Kumar, P.: Food and medicament as possible sources of hospital strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet*, 1, 1227 - 1229 (1969).
- 17) Shooter, R. A., Cooke, E. M., Rousseau, S. A. & Braden, A. L.: Animal sources of common serotypes of *Escherichia coli* in the food of hospital patient, Possible significance in urinary-tract infections. *Lancet*, 2, 226 - 228 (1970).

Clinical and bacteriological studies on protected environment-prophylactic antibiotic program. [I] The suppression of intestinal flora, [II] The microbial suppression of patients in a bioclean room. Kazuo Niwa, The Third Department of Internal Medicine, Kanazawa University School of Medicine, Kanazawa, Kanazawa, 920, Japan. *J. Juzen Igk. Z.*, 88, 168-188 (1979).

Abstract

Gastrointestinal and oropharyngeal sterilization is essentially important to prevent endogenous infections in the protected environment. To eliminate the intestinal microbial flora, the combination of gentamicin, vancomycin and nystatin (GVN) has been challenged in our clinic. First, for preliminary studies three volunteers were chosen and one of them was given gentamicin, another vancomycin and the rest nystatin in a bioclean room. Two patients with acute leukemia and one with aplastic anemia were given GVN for 19 to 68 days in the bioclean room to prevent infections because of marrow transplantation or induction chemotherapy. The total number of patient days was 181.

1. The GVN antibiotic regimen was proved to be very effective in eliminating nearly all strains of aerobic and anaerobic bacteria from the stool of patients. However, a small number of *P. aeruginosa*, *Lactobacillus*, *Bacteroides* and *Candida* sporadically appeared in the culture of the patients' stool during the administration of GVN, but all strains of these bacteria had in vitro sensitivity to GVN. Within a week after cessation of GVN administration a good number of most original flora appeared in spite of sterile feeding and completely recovered in number in 2 weeks, suggesting the presence of remnants in the intestinal crypt or so. The suppression of oropharyngeal flora appeared successful when we used the antibiotic spray consisting of gentamicin, vancomycin and amphotericin B. But Pseudomonous gingivitis developed in one case.

2. As far as the side effects of GVN are concerned, 2 patients suffered from nausea and mild diarrhea, but could tolerate GVN further. As one patient had severe nausea after taking nystatin, he was given amphotericin B, instead, with no side effect. All subjects tested had no significant change in either hepatic or renal function throughout the observation time. Absorption studies revealed that gentamicin and vancomycin were poorly absorbed from the gastrointestinal tract. In 2 cases, presumably complicated by intestinal injury, however, 3 times larger amount, 3.8% of daily dose of maximum of gentamicin was absorbed than the volunteer case.