

マウス膣腔内接種法による *Haemophilus influenzae* を 中心とした混合感染モデルの実験的研究

奈良県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

矢形 礼 貴

STUDIES OF EXPERIMENTAL MIXED INFECTION WITH *H. INFLUENZAE* AND OTHERS IN MICE USING THE METHOD OF VAGINAL INOCULATION

REIKI YAKATA

Department of Otorhinolaryngology, Nara Medical University

Received September 8, 1994

Abstract: The intravaginal inoculation model in three-week-old female ddY mice was used for the study of mixed bacterial infection.

Neither *Escherichia coli* nor *Enterococcus faecalis* alone induced vaginitis: it was cleared within four or five days after inoculation.

However, preinoculation with *Haemophilus influenzae* (serotype b) was able to induce apparent vaginal infection when either of the two bacteria was inoculated intravaginally on the following day.

Also in the case of *Pseudomonas aeruginosa*, only preinoculation with *H. influenzae* (serotype b) induced apparent vaginitis upon inoculation with *P. aeruginosa* on the following day.

It is speculated that *H. influenzae* (serotype b) may destroy the mechanical barrier of the vaginal epithelium, possibly thereby inducing a local compromised condition on the mucosal epithelium.

Index Terms

Haemophilus influenzae, mixed infection, intravaginal inoculation, local compromised condition

緒 言

近年医学の進歩より抗生剤, 抗癌剤, 免疫抑制剤が多
用されることによって compromised host となり, 従来
は弱毒または非病原性と言われていた菌による感染症が
日和見感染症として問題視されるようになってきている。
また, 各種 compromised host における感染症では複数
菌による混合感染が多く複数菌感染症も問題視されるよ
うになってきている。

Haemophilus influenzae (*H. influenzae*) は上部気道粘
膜感染, 肺炎, 中耳炎, 小児の髄膜炎の起炎菌として重

要で特に serotype b がよく見出されるといわれており,
咽頭常在菌の一つとも考えられている。

上気道などの粘膜を感染の場とする病原菌が組織へ進
入する際, その感染経路はまず粘膜上皮でなくてはなら
ない。その可能性を検索するためには組織侵入性をモデ
ルとした粘膜感染実験モデルが必要である。

粘膜を感染の場とした感染実験モデルとしては, マウ
ス膣腔内を利用した幼弱マウス(3週齢)の赤痢菌の感染
モデルが既に確立されている。この感染モデルでは, 組
織学的に膣粘膜剝離と粘膜下組織における好中球の著明
な浸潤が KC⁺株にのみ強く認められ, KC⁺株と KC⁻株と

の病原性の差を示す非常に有効な感染モデルである¹⁾。
また、淋菌及び *Campylobacter jejuni* の感染モデルは 5
週齢マウスの early estrous stage の膣腔を用いること
により確立されている²⁾。

今回著者はこの感染実験モデルの方法を踏襲し、マウ
ス膣粘膜を利用して *H. influenzae* の serotype b と *Es-*
cherichia coli (*E. coli*) または *Enterococcus faecalis* (*E.*
faecalis) との混合感染モデルを作製し、*E. coli* または *E.*
faecalis のみの単独感染と混合感染の差について膣腔内
菌量及び粘膜組織病変の比較検討を行った。

また、*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) につい
ても *P. aeruginosa* 単独感染と *H. influenzae* との混合
感染の比較を行った。

実験材料及び実験方法

I. *H. influenzae* のマウス膣腔内単独接種実験

1. 実験動物

実験動物は 3 週齢の ddY 雌マウス(日本クレア)を
使用した(n=30)。

2. 使用菌株

奈良医大の臨床材料から分離した serotype b 株を
使用した。

SM 耐性株の作製はストレプトマイシン(以下 SM と
略)を 200 µg/ml 含有したチョコレート寒天培地で gra-
dient 法により SM 耐性株を誘導した。

SM 感受性株、SM 耐性株の両者ともファディレク
ト・ヘモフィルステト(ファルマシア)にて serotype b で
あることを確認して使用した。

3. 菌株の保存

菌株は 5% skim milk にチョコレート寒天培地に増
殖した菌体を懸濁し、5×150 mm の小試験管に分注し
て -80°C で保存した。

4. 菌の培養

接種に使用する菌は、-80°C に保存された菌株をチ
ョコレート寒天培地にて 37°C 24 時間培養した後使用した。

5. 膣腔内接種及び菌の回収(Fig. 1)

膣腔内への接種はまずグルコン酸クロルヘキシジン 5
%(W/V)をしみこませた綿で膣開口部を清拭し、1%重
曹水で膣腔内を洗浄し、次に生理食塩水で膣内を洗浄し
た後、細い滅菌綿棒で膣内の水分を拭き取り、白金耳で
チョコレート寒天培地上の *H. influenzae* を採取して膣
腔内に 1 白金耳(約 10⁸ colony forming unit)接種した。そ
して菌接種後経日的に白金耳で膣腔内を擦過してチョ
コレート寒天培地に塗布し膣内の菌の生着状態を調べた。

6. 組織標本の作製

Three-week-old ddY mice were used.
Vaginas were washed with 1% sodium bicarbonate.

Vaginas were washed with physiological saline.

The saline remaining in the vaginal lumen was
removed with sterile cotton wool.

A loopful of *H. influenzae* (serotype b) was inoculat-
ed into the vagina.

On the following day, a loopful of the other bacteria
was inoculated into the vagina.
(*E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*)

Fig. 1. Method of experiment.

膣腔内接種したマウス膣を経日的に採取して 10%ホル
マリン溶液にて固定し、パラフィン包埋後、ヘマトキ
シン・エオジン(HE)染色標本を作製した。

II. *E. coli* 及び *E. faecalis* のマウス膣腔内単独接 種実験

1. 実験動物

H. influenzae 単独接種法と同じ 3 週齢幼弱マウスを
使用した(*E. coli* 単独接種, *E. faecalis* 単独接種それ
ぞれ n=30)。

2. 使用菌株

E. coli, *E. faecalis* 共にマウスの糞便から分離した。

3. 菌株の保存

菌株はドルセットの卵培地(日本水薬)に接種し、4°C
にて保存した。

4. 菌の培養

接種に使用する菌は、tryptic soy agar(Difco lab.,
Detroit, USA)(以下 TS 培地と略)に 37°C 24 時間培養
後使用した。

5. 膣腔内接種法及び菌の回収

H. influenzae 単独接種の方法に準じ、膣腔内に 1 白金
耳接種した。膣腔内に接種後経日的に白金耳で膣腔内を
擦過して TS 培地に塗布し、膣腔内の菌の有無を調べた。
膣内の菌の有無のみでなく、膣から回収された菌の量も
調べたが、この場合、菌量は(++++)、(+++),
(++), (+), (-)で表わし、それぞれの目安は Photo.
1 に示してある。

6. 組織標本の作製

H. influenzae 単独接種の方法に準じ、HE 染色標本を
作製した。

III. *H. influenzae* と *E. coli* または *E. faecalis* と

の混合接種実験

1. 実験動物

H. influenzae, *E. coli*, *E. faecalis* それぞれを単独接種した場合と同じく、3週齢の幼弱マウスを使用した(*H. influenzae*と*E. coli*の混合接種,*H. influenzae*と*E. faecalis*の混合接種それぞれn=40)。

2. 使用菌株

H. influenzae, *E. coli*, *E. faecalis* 単独接種と同じ菌株をそれぞれ使用した。

3. 菌の培養

H. influenzae, *E. coli*, *E. faecalis* 単独接種と同じ方法で個々の菌を培養した。

4. 膈腔内の接種法及び菌の回収(Fig. 1)

まず1%重曹水で膈腔を洗浄し、次に生理食塩水で洗浄した。その後細い滅菌綿棒で膈内の水分を拭い取り、白金耳でストレプトマイシン(以下SMと略)非含有チョコレート寒天培地上のSM耐性または感受性*H. influenzae*を採取して膈内に1白金耳接種した。*H. influenzae*を接種した翌日、白金耳で固型培地から採取した*E. coli*, *E. faecalis*のうちの一つを膈内に1白金耳接種した。接種後経目的に白金耳で膈腔を擦過してSM含有チョコレート寒天培地に接種してSM耐性*H. influenzae*の消長を調べ、TS培地にも接種して*E. coli*または*E. faecalis*の膈腔内での有無を調べた。(但しSM感受性の*H. influenzae*を接種した場合は、SM感受性*H. influenzae*はSM含有培地には生育しないのでTS培地のみ接種し、*E. coli*, *E. faecalis*の消長のみを調べた。*E. coli*, *E. faecalis*の消長をTS培地で調べたのは、*E. coli*, *E. faecalis*ともにTS培地で良く生育し、しかも*H. influenzae*はTS培地では生育できないからである。)ここでSM感受性株のみでなく、SM耐性の*H. influenzae*をも使用したのはSM含有培地にはSM耐性菌のみしか生育せず、SM耐性*H. influenzae*の消長が簡単に判別できるからである。

5. 組織標本の作製

H. influenzae 単独感染の方法に準じ、HE染色標本を経目的に作製した。

IV. *P. aeruginosa* 膈内単独接種及び*P. aeruginosa*と*H. influenzae*との混合接種実験

1. 実験動物

前記実験と同じく、3週齢のddY雌マウスを用いた(*P. aeruginosa* 単独接種はn=5, *H. influenzae*と*P. aeruginosa*の混合接種はn=4)。

2. 使用菌株

P. aeruginosa は水道水より分離した。

3. 菌の培養

接種に使用する菌は、TS培地に37度24時間培養後使用した。

4. 膈腔内接種及び菌の回収

前記の方法に準じ、膈内を擦過してTS培地に接種した。

結 果

I. *H. influenzae* 膈内単独接種実験

1. マウス膈腔内よりの*H. influenzae*の recovery.

マウス膈内の*H. influenzae*は膈内接種後10日目にはすべてのマウス膈腔より消失した。SM耐性株と感受性株にマウス膈への生着度に差は認められなかった。

2. マウス膈の肉眼的には著明な変化は認められなかった。

3. マウス膈の組織学的所見

H. influenzae 接種7日目のHE染色像では粘膜上皮の軽度の糜爛、粘膜下浮腫、及び軽度の細胞浸潤を認めた(Photo. 2)。

II. *E. coli* 及び *E. faecalis* の膈内単独接種実験

1. マウス膈腔よりの *E. coli* 及び *E. faecalis* の recovery.

Fig. 2及びFig. 4に示すように、マウス膈腔内の*E. coli*は単独接種した場合、接種4~5日目には膈腔から消失している。Fig. 2で(○)は*E. coli*を単独接種した場合の膈内の*E. coli*の有無を菌量の大きさに関係なく表している。Fig. 4は膈から回収された*E. coli*を菌量別にグラフ化したものである。

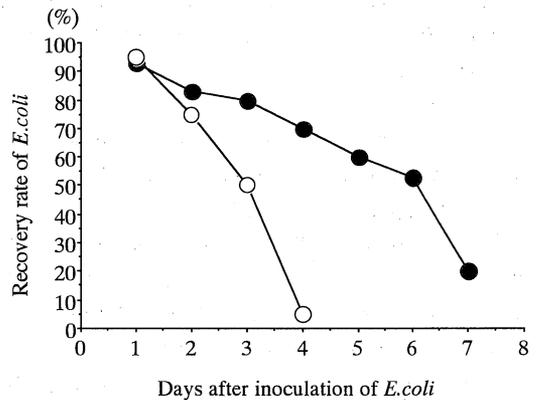


Fig. 2. Recovery rate of *E. coli* from mouse vaginas. (●—●); inoculated with *H. influenzae* and *E. coli* (n=30) (○—○): inoculated with *E. coli* alone (n=20)

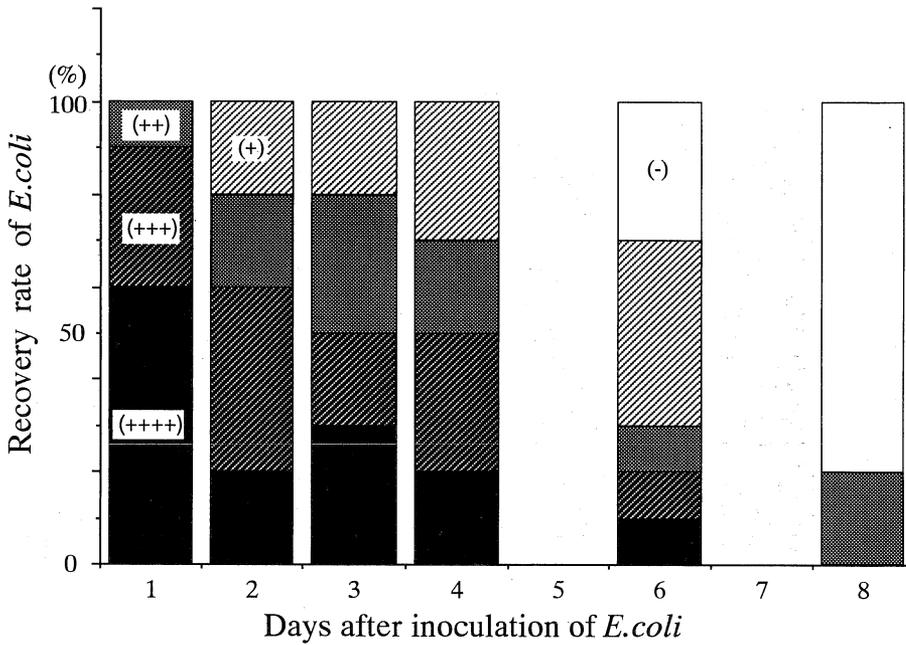


Fig. 3. Recovery rate of *E. coli* from vaginas inoculated with *H. influenzae*. Mixed infection with *H. influenzae* and *E. coli*. (n=10)

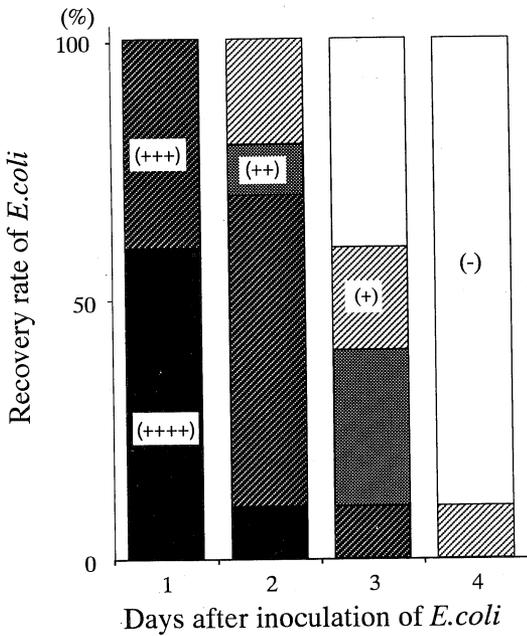


Fig. 4. Recovery rate of *E. coli* from vaginas inoculated with *E. coli* alone. (n=10)

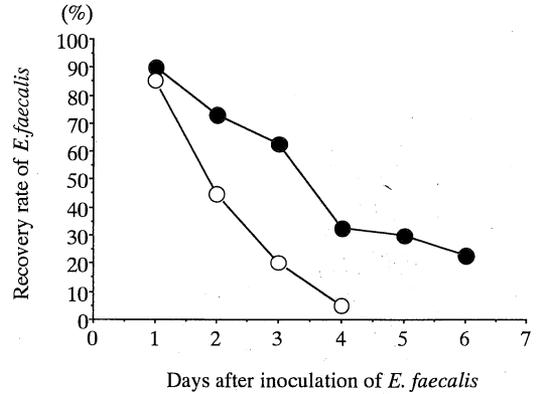


Fig. 5. Recovery rate of *E. faecalis* from mouse vaginas.

(●—●); inoculated with *H. influenzae* and *E. faecalis* (n=30)
 (○—○); inoculated with *E. faecalis* alone (n=20)

Fig. 5 及び Fig. 7 に示すように、マウス膣腔内の *E. faecalis* は単独接種した場合、接種 4 日目頃には膣腔から消失している。Fig. 5 で(○)は *E. faecalis* を単独接種した場合の膣内の *E. faecalis* の有無を菌量の大きさに関係なく表している。Fig. 7 は膣から回収された *E. faecalis* を菌量別にグラフ化したものである。Fig. 4,

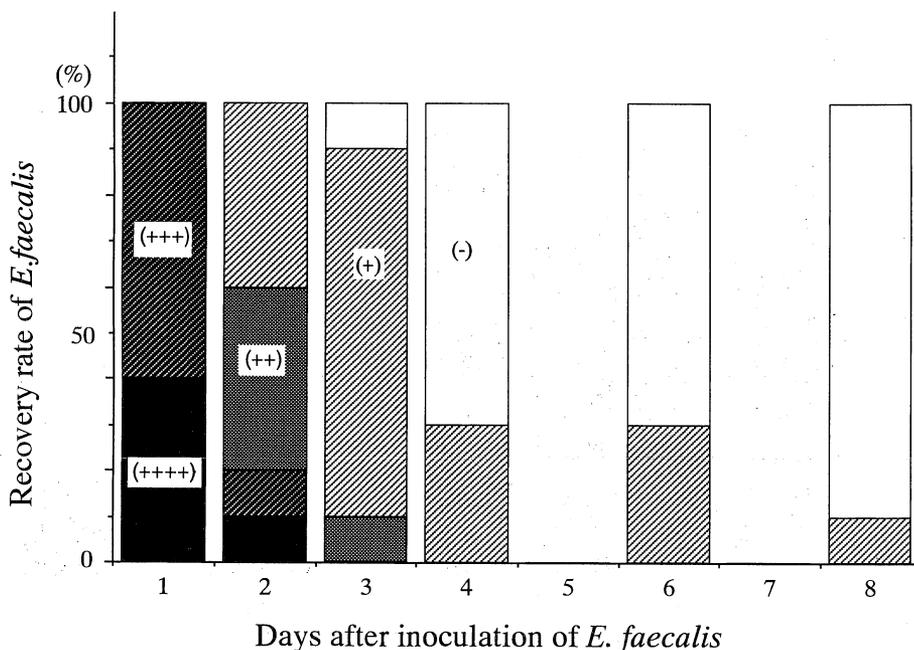


Fig. 6. Recovery rate of *E. faecalis* from vaginas inoculated with *H. influenzae*. Mixed infection with *H. influenzae* and *E. faecalis*. (n=10)

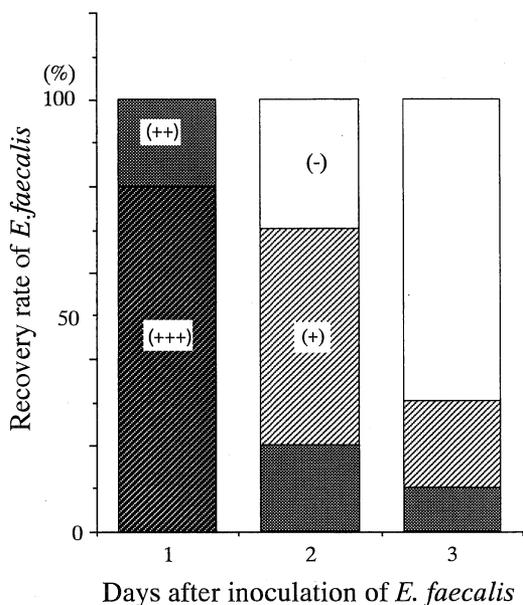


Fig. 7. Recovery rate of *E. faecalis* from vaginas inoculated with *E. faecalis* alone. (n=10)

Fig. 7のそれぞれの菌量の目安はPhoto. 1に示してある。

2. マウス膣の肉眼的所見

マウス膣は肉眼的には著明な変化は認めなかった。

3. 組織学的所見

E. coli, *E. faecalis* いずれの菌を接種しても膣粘膜に著明な変化は認めなかった。(Photo. 3, 4)

III. *H. influenzae* と *E. coli* または *E. faecalis* との混合接種実験

1. マウス膣腔よりの *E. coli* の recovery.

Fig. 2で(●)は *E. coli* を *H. influenzae* と混合接種した場合、つまり、*H. influenzae* を膣内に接種した翌日に *E. coli* を膣内に接種した場合の膣内の *E. coli* の有無を菌量の大きさに関係なく表している。Fig. 3は *H. influenzae* と混合接種した場合の膣から回収された *E. coli* を菌量別にグラフ化したものである。

Fig. 2に示すように、*E. coli* は *H. influenzae* と混合接種した場合、*E. coli* 接種後7~8日程度まで膣より回収され、しかも2~4日目の recovery した菌量を *E. coli* 単独接種と比較すると膣内で生育している *E. coli* の菌量が *H. influenzae* と混合接種した場合の方が多く、特に3日目以降に著しい差を認めた。

2. マウス膣腔よりの *E. faecalis* の reovery

Fig. 5で(●)は *E. faecalis* を *H. influenzae* と混合接種した場合、つまり、*H. influenzae* を腹腔内に接種した翌日に *E. faecalis* を腹腔内に接種した場合の腹腔内の *E. faecalis* の有無を菌量の大きさに関係なく表している。

Fig. 6は *E. faecalis* を *H. influenzae* と混合接種した場合の膈から回収された *E. faecalis* を菌量別にグラフ化したものである。Fig. 5, 6に示すように、*E. faecalis* は *H. influenzae* と混合接種した場合、接種後腹腔内より7日程度まで回収され、しかも *E. coli* と同様に接種2~4日目の *E. faecalis* の recovery を *E. faecalis* のみの単独接種と比較すると回収された菌量が多かった。

3. マウス腹腔よりのSM耐性 *H. influenzae* の recovery.

Fig. 8に示すように、SM耐性 *H. influenzae* は接種4日目には腹腔より消失している。前述した *H. influenzae* と混合接種した場合の *E. coli* および *E. faecalis* の recovery は、あらかじめ接種した *H. influenzae* が SM耐性・感受性どちらであっても差はなかった。

4. マウス膈の肉眼的所見

H. influenzae と混合摂取させた場合、*E. coli* 及び *E. faecalis* 接種後2~4日目のマウス膈は強度に発赤が認められ、膿性分泌物を伴っているものもあった。

5. マウス膈の組織学的所見

H. influenzae と混合感染させた場合、*E. coli* 及び *E. faecalis* 接種後4日目の膈粘膜 HE染色像では、粘膜上皮の剝離、強度の細胞浸潤を認めた。(Photo. 5, 6)

IV. *H. influenzae* と *P. aeruginosa* の混合接種実験

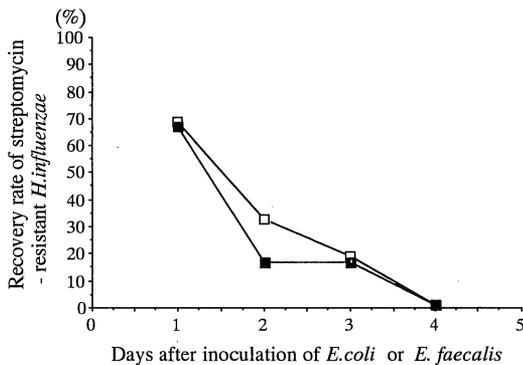


Fig. 8. Recovery of streptomycin-resistant *H. influenzae* from vaginas inoculated with *E. coli* or *E. faecalis*. (□—□); inoculated with *E. coli* (n=6) (■—■); inoculated with *E. faecalis* (n=6)

1. マウス腹腔よりの *P. aeruginosa* の recovery. Fig. 9及び Fig. 10に示すように *P. aeruginosa* を接種後、*H. influenzae* を予め接種してもしなくても4日目頃にはマウス膈内はほぼ無菌となった。しかし *P. aeruginosa* を接種後2~3日目の膈内の *P. aeruginosa* の colony 数を比較すると、*P. aeruginosa* のみの単独接種よりも *H. influenzae* を予め接種した後 *P. aeruginosa* を接種した方が *P. aeruginosa* が大量に膈から回収された。

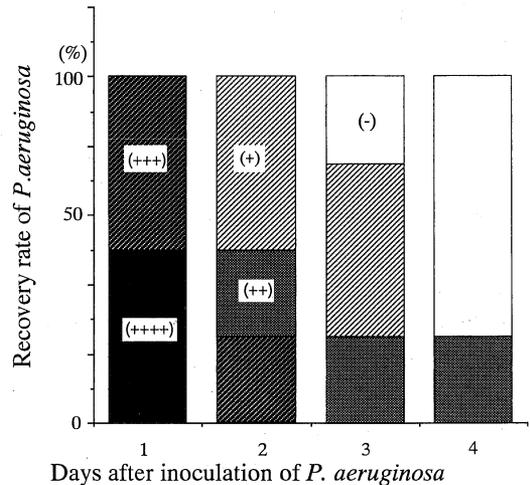


Fig. 9. Recovery rate of *P. aeruginosa* from vaginas inoculated with *H. influenzae*. (n=4) Mixed infection with *H. influenzae* and *P. aeruginosa*.

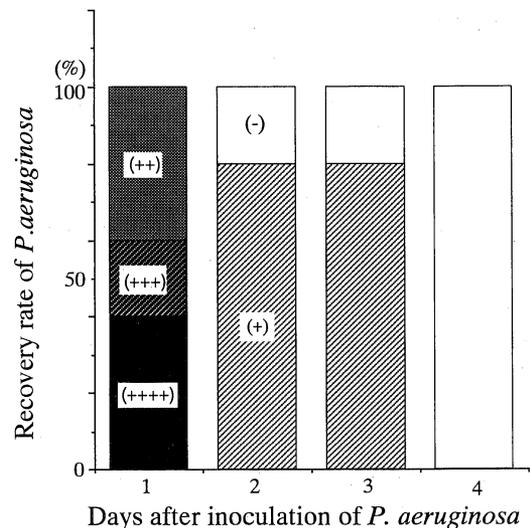


Fig. 10. Recovery rate of *P. aeruginosa* from vaginas inoculated with *P. aeruginosa* alone. (n=5)

2. マウス膣の肉眼的所見

P. aeruginosa を単独接種してもマウス膣には肉眼的には著明な変化は認められなかった。*H. influenzae* を予め接種してから *P. aeruginosa* を接種した場合は膣よりの膿性分泌物および膣粘膜の発赤を認めた。

3. マウス膣の組織学的所見

P. aeruginosa を単独接種した場合の膣粘膜 HE 染色像では膣粘膜に著明な変化は認めなかったが (Photo. 7), *H. influenzae* を予め接種してから *P. aeruginosa* を接種させると粘膜上皮の剝離及び変性を認めた (Photo. 8)

考 察

細菌が生体を侵襲する際には、細菌が上皮細胞外に寄生する場合、組織を破壊して生体内に進入する場合、上皮細胞内に進入する場合、上皮細胞下に進入する場合、食細胞内に寄生する場合の5つが考えられる。上皮細胞外寄生菌としてはコレラ菌と腸管毒素原生大腸菌がその典型的な例であり、これらの菌は外毒素による機能障害を起こすだけで物理的障害も炎症反応も起こさない。ブドウ球菌、A群溶血性レンサ球菌などは正常皮膚・粘膜に接種しても皮膚・粘膜が機械的バリアーとして働くため生体内に侵入できないが、皮膚・粘膜に予め物理化学的障害があれば組織を破壊して生体内に侵入して発症する。この場合、外毒素や菌体外酵素によって組織が破壊され、炎症反応が強く起る。上皮細胞内に侵入し、上皮細胞を貫通して上皮細胞下に侵入する菌としては赤痢や淋菌などがあり、これらの菌は一旦上皮細胞に侵入あるいは上皮細胞間を通して上皮細胞下にでて基底膜に達し主としてそこで増殖する。食細胞内に寄生する菌とは、マクロファージや単球などの食細胞に食菌されても殺菌されないで食細胞内で増殖できる菌をいい、チフス菌、ブルセラ、結核菌などがある。

マウス膣腔を利用した単独接種実験としては既に赤痢菌を幼弱マウスに接種したモデル¹⁾、淋菌及び *Campylobacter jejuni* を early estrous stage のマウス膣腔に接種したモデル²⁾、*Salmonella* を幼弱マウスに接種したモデルがあるが³⁾、今回著者は *H. influenzae* と他の菌 (*E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*) を混合感染させて単独接種させた場合と比較してみた。

呼吸器の場合、病原菌が下気道に侵入するには、まず口腔粘膜に付着することが重要であるといわれている⁴⁾。そこでまず最初に *H. influenzae* を使用したが、この理由は *H. influenzae* は人の咽頭内によく見いだされ⁵⁾、細菌性急性気管支炎の原因菌として重要であり⁶⁾⁷⁾⁸⁾、しか

も小児の髄膜炎の起炎菌としても重要であるためである。

混合感染の実験モデルとしては、菌を腹腔内へ注射する方法があり、*E. coli* と *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* と *P. aeruginosa* を混合接種させると単独接種に比べて少量の菌で感染が起こりマウスが死亡するが、*E. coli* と *P. aeruginosa* を混合接種した場合は *E. coli* が先に食食されて好中球の食食能が弱まり、*P. aeruginosa* の食食率が低下するとされている⁹⁾。また、mixed intraabdominal abscess formation のメカニズムを解明する目的で *Bacteroides fragilis* を接種する前または後に *E. coli* の lipopolysaccharide (LPS) を注射した実験では LPS の投与は膿瘍の形成には影響を及ぼさなかったが膿瘍の膿から回収された細菌構成が変化した。つまり LPS を投与すると腸内細菌が多く膿瘍に移行する。また LPS を腹腔内に注射すると腸から腸間膜リンパ節への菌の移行がみられるという¹⁰⁾。

一方、粘膜を感染の場とする菌の組織侵入性の解析には粘膜感染のモデルが必要なため、著者はマウス膣粘膜を利用した粘膜混合感染実験を行った。

マウス膣粘膜を利用したのは、マウスの膣孔は人と異なり、尿道孔とも肛門とも乾燥した皮膚で隔てられており、しかも3週齢の幼弱マウスでは膣内は無菌であり、膣上皮も薄いため、接種実験に適しているからである。

マウス膣に接種した場合、*E. coli*, *E. faecalis* はそれぞれ単独では膣粘膜上皮が機械的バリアーとなって膣粘膜へ侵入できず、膣粘膜の炎症を起こしえなかった。

H. influenzae 単独では膣粘膜の粘膜下浮腫、軽度の糜爛、軽度の細胞浸潤を起こし得るのみで膣粘膜上皮の剝離は認められなかったが、*H. influenzae* を予め接種してから *E. coli* または *E. faecalis* を接種すると粘膜上皮の剝離をとまなう激しい炎症を惹起させることが出来た。

従って *H. influenzae* は粘膜上皮の機械的バリアーとしての働きを傷害して local compromised condition を惹起させ、このために本来粘膜上皮に侵入出来ず、しかも膣に対して病原性を持たない菌でも膣炎を起こすことが示唆された。*H. influenzae* は単独感染では膣粘膜上皮に付着するのみで粘膜下浮腫や軽度の細胞浸潤を起こすが、これには細胞膜透過性を亢進させる毒素様物質の関与が示唆される。

P. aeruginosa の場合も単独接種では膣炎を惹起し得なかったが予め *H. influenzae* を接種してから *P. aeruginosa* を接種することによって粘膜上皮の剝離をとまなう激しい膣炎を惹起しえた。*P. aeruginosa* は本来弱毒で病原性は低いが、肺炎を例としてあげると *P. aeruginosa* によっておこる肺炎は慢性下気道感染症や肺病

を基礎疾患として持っている症例、抗生剤による化学療法がすでに施行されていたり副腎皮質ステロイド剤投与例、重喫煙例、誤嚥を繰り返している症例に多い¹¹⁾、つまり何らかの障害のある例に多いとされている。一方、びまん性汎細気管支炎では、まず *H. influenzae* が感染してから *P. aeruginosa* などへの菌交代現象が起こるとされているが¹²⁾ 著者の膈炎モデルは *P. aeruginosa* の感染様式の一つを示しているものと思われる。全身性の免疫不全である AIDS では膈カンジダ症を繰り返すが¹³⁾、*H. influenzae* のマウス膈内接種はある種の局所の一過性の免疫不全を引き起こすと考えられる。従って著者の作製した *H. influenzae* を用いた混合感染モデルは粘膜複数菌感染症のメカニズムの1つを説明していると思われる。

一方、*H. influenzae* は成人には nontypable が多くみられる。Nontypable は抗原性が type b より多様で¹⁴⁾ 人から人へ伝播し¹⁵⁾、感染中は莢膜はみられず¹⁶⁾、一部は線毛を持ち¹⁷⁾、線毛の程度と呼吸上皮細胞への adherence には関係がない¹⁸⁾ と言われているが、人の中耳炎¹⁹⁾、鼻・副鼻腔炎²⁰⁾、呼吸器感染症¹²⁾ の起炎菌として重要である。この nontypable *H. influenzae* による混合感染モデルは今後の検討課題である。

結 語

マウス膈粘膜を利用して、*H. influenzae* の serotype b と *E. coli* または *E. faecalis*、さらに *P. aeruginosa* との混合感染モデルを作成し、それぞれ単独感染と混合感染の差を膈腔内菌量、膈粘膜病変について検討して以下の結果を得た。

- 1) ddY 雌マウスの膈腔内へ *H. influenzae* を接種することにより、膈粘膜の軽度の糜爛、浮腫を惹起できた。
- 2) *E. coli*、*E. faecalis*、*P. aeruginosa* 単独接種では、マウス膈粘膜に炎症は誘発できなかった。
- 3) *H. influenzae* 接種翌日に *E. coli*、*E. faecalis*、*P. aeruginosa* を接種すると、粘膜上皮の剝離を伴う激しい膈炎を惹起しえた。
- 4) 以上より、マウス膈腔内接種法は、本来組織侵入性および病原性を有しない菌 (opportunistic) が他の菌と混合接種させることにより病原性を発揮し得る混合感染の動物モデル実験となりえ、更に *H. influenzae* は膈粘膜上皮の機械的バリアーとしての働きを障害して local compromised condition を惹起し得ると考えた。

本論文の要旨は、第 22 回日本耳鼻咽喉科感染症研究会 (平成 4 年 9 月 19 日)、第 8 回奈良県感染症研究会 (平成

5 年 2 月 6 日)、第 9 回奈良県感染症研究会 (平成 6 年 1 月 22 日) に於いて発表した。

稿を終えるに当たり、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました松永 喬耳鼻咽喉科学教室教授、樫葉周三細菌学教室教授に深謝を捧げるとともに、御助言、御校閲を賜わった成田亘啓第 2 内科学教室教授に深謝いたします。また、本研究を御援助くださった耳鼻咽喉科学教室員各位、細菌学教室員各位に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Kashiba, S.: The use of young mouse vagina as a model for experimental shigellosis. *Biken J.* **10**: 25-32, 1967.
- 2) 塚尾典明: マウス膈腔内接種法による実験的淋菌及び *Campylobacter* 感染症に関する研究. *奈医誌.* **34**: 14-23, 1983.
- 3) 松浦 寛: 幼弱ハツカネズミ膈腔内接種による実験的チフス症に関する研究. *奈医誌.* **31**: 181-190, 1980.
- 4) Johanson, W. G., Woods, D. E. and Chaudhuri, T.: Association of respiratory tract colonization with adherence of gram-negative bacilli to epithelial cells. *J. Infect. Dis.* **139**: 667-673, 1979.
- 5) 高橋 淳, 隆杉正和, 宇都宮嘉明, 秋山盛登司, 広瀬英彦, 真崎宏則, 岩垣明隆, 渡辺貴和雄, Ahmed, K., 田尾 操, 山領 豪, 力富直人, 氷武 毅, 松本慶蔵: 同一集団内咽頭細菌叢における *Haemophilus influenzae* の動態. *感染症誌.* **66**: 956-963, 1992.
- 6) 古西 満, 澤木政好, 三笠桂一, 坂本正洋, 前田光一, 竹内章治, 濱田 薫, 国松幹和, 成田亘啓, 佐野麗子, 増谷喬之: 細菌性急性気管支炎の臨床的検討. *感染症誌.* **67**: 452-458, 1993.
- 7) 高橋 淳, 松本慶蔵, 穴戸春美, 秋山盛登司, 氷武毅, 大石和徳, 力富直人, 隆杉正和, 吉田俊昭, 庄辺貴和雄: *Haemophilus influenzae* を繰り返し感染に対する Macrolide 系, Tetracycline 系抗生剤, 新 Quinolone 系抗菌剤の繰り返し感染阻止効果. *Chemotherapy* **34**: 1265-1271, 1986.
- 8) 松本慶蔵: インフルエンザ菌慢性呼吸器感染症の基礎的臨床的研究. *感染症誌.* **48**: 117, 1974.
- 9) 辻 明良, 宮崎修一, 石井哲夫, 五島瑛智子: 実験的混合感染における感染菌力の変動と解析. *感染症誌.* **60**: 304-310, 1986.
- 10) Tanaka, Y., Jotwani, R., Watanabe, K., Tanaka, K., Kato, N. and Ueno, K.: Effect of Escheri-

- chia coli lipopolysaccharide on *Bacteroides fragilis* abscess formation and mortality in mice. Microbiol. Immunol. 38 : 97-102, 1994.
- 11) 前田光一, 澤木政好, 喜多英二, 三笠桂一, 小西満, 坂本正洋, 辻本正之, 竹内章治, 濱田 薫, 国松幹和, 佐野麗子, 増谷喬之, 櫻葉周三, 成田亘啓 : 経気管吸引法による緑膿菌性肺炎の臨床的検討. 感染症誌. 68 : 479-485, 1994.
 - 12) 谷本普一 : 慢性気道感染症の難治性. 日本臨床 45 : 541-547, 1987.
 - 13) Rhoads, J. L., Wright, D. C., Redfield, R. R. and Burke, D. S. : Chronic vaginal candidiasis in women with human immunodeficiency virus infection. JAMA. 257 : 3105-3107, 1987.
 - 14) Alphen, L. and Bijlmer, H. A. : Molecular epidemiology of *Haemophilus influenzae* type b. Pediatrics 85(Suppl.) : 636-642, 1990.
 - 15) Murphy, T.F., Bernstein, J. M., Dryia, D. M., Campagnari, A. A. and Apicella, M. A. : Outer membrane and lipooligosaccharide analysis of paired nasopharyngeal and middle ear isolates in otitis media due to nontypable *Haemophilus influenzae*. J. Infect. Dis. 156 : 723-731, 1987.
 - 16) Ahmed, K., Ichinose, A., Dai, T. C., Takahashi, A., Utsunomiya, Y., Kawasaki, K., Nagatake, T. and Matsmoto, K. : Neutrophil response to nontypable *Haemophilus influenzae* in respiratory infections. Microbiol. Immunol. 37 : 671-677, 1993.
 - 17) Apicella, M. A., Shero, M., Dudas, K. C., Stack, R. R., Klohs, W., LaScolea, L. J., Murphy, T. F. and Mylotte, J. M. : Fimbriation of *Haemophilus* species isolated from the respiratory tract of the adults. J. Infect. Dis. 150 : 40-43, 1984.
 - 18) Bakaletz, L. O., Tallan, B. M., Hoepf, T., De Maria, T. F., Brick, H. G. and Lim, D. J. : Frequency of fimbriation of nontypable *Haemophilus influenzae* and its ability to adhere to chinchilla and human respiratory epithelium. Infet. Immun. 56 : 331-335, 1988.
 - 19) 佐藤典史, 市川銀一郎, 小栗豊子, 猪狩 淳 : 当科における耳漏, 鼻漏からの検出菌の動向. 日耳鼻感染症誌. 12 : 63-71, 1994.
 - 20) 木橋貴昭, 保富宗城, 山中 昇 : EM 少量長期投与における菌交代について. 日耳鼻感染症誌. 12 : 5-8, 1994.

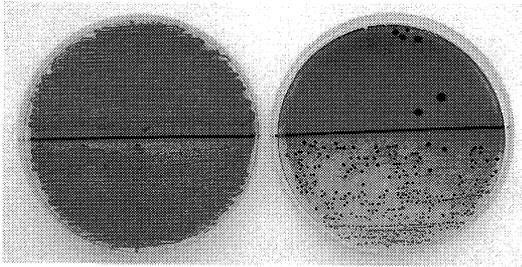


Photo. 1. Appearance of different grades of colonies of *E. coli* on agar plate.
Upper of the left plate: grade ++++
Lower of the left plate: grade +++
Lower of the right plate: grade ++
Upper of the right plate: +

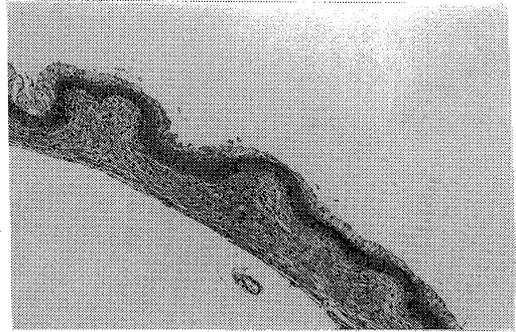


Photo. 4. 4 days after inoculation with *E. faecalis* alone.
No remarkable change. (lower magnification)

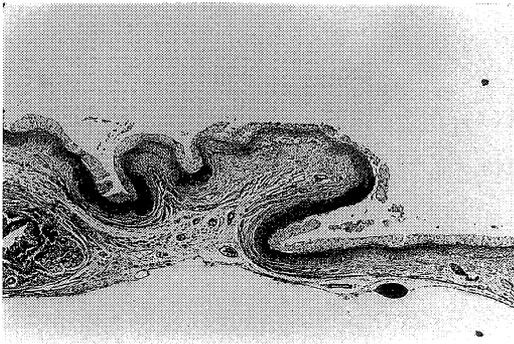


Photo. 2. 7 days after inoculation with *H. influenzae* alone.
Mild erosion of mucosal epithelium, submucosal edema, and mild PMN infiltration. (lower magnification)

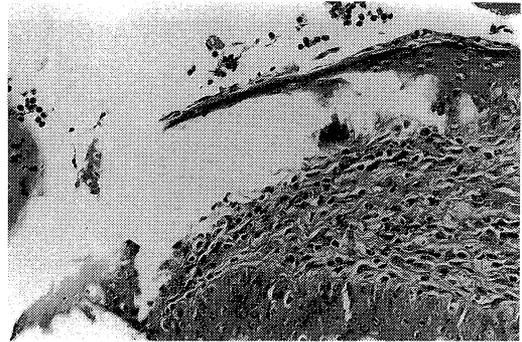


Photo. 5. 4 days after inoculation with *H. influenzae* and *E. coli*.
Destruction of epithelial layer and PMN infiltration. (higher magnification)

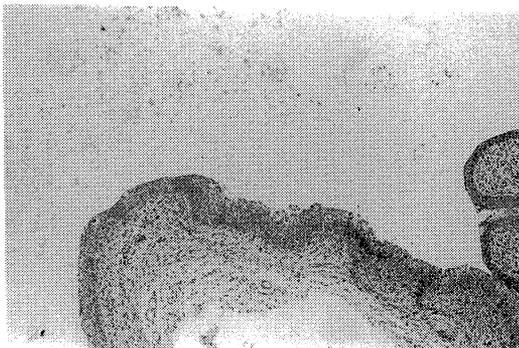


Photo. 3. 4 days after inoculation with *E. coli* alone.
No remarkable change. (lower magnification)



Photo. 6. 4 days after inoculation with *H. influenzae* and *E. faecalis*.
Destruction of epithelial layer and PMN infiltration. (high magnification)

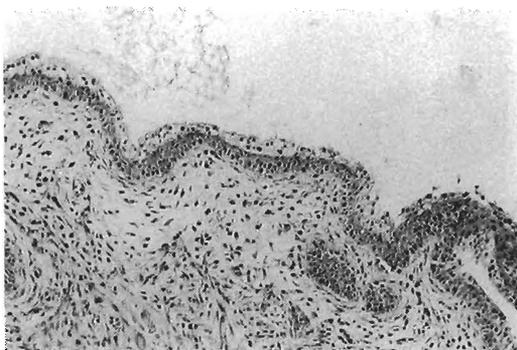


Photo. 7. 4 days after inoculation with *P. aeruginosa* alone.
No remarkable change. (high magnification)

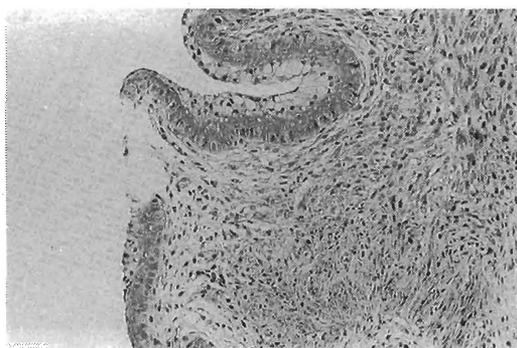


Photo. 8. 4 days after inoculation with *H. influenzae* and *P. aeruginosa*.
Destruction and degeneration of epithelium. (high magnification)