

EXPERIMENTAL STUDY OF MIXED INFECTION IN MOUSE VAGINA USING *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* TYPE B

Reiki YaKata, Atsuko Inoue, Takashi Matsunaga

Department of Otorhinolaryngology, Nara Medical University

Shuzo Kashiba

Department of Bacteriology, Nara Medical University

An intravaginal inoculation in three-week-old ddy mice was used for the study of mixed bacterial infection.

Neither *Escherichia coli* nor *Enterococcus faecalis* alone induced vaginitis and it was cleared four or five days after inoculation. However, preinoculation with *H.influenzae*

was able to induce apparent vaginal infection when either of two bacteria was inoculated intravaginally on the following day.

In case of MRSA, it was cleared four or five days after inoculation, irrespective of the preinoculation with *H.influenzae*.

インフルエンザ菌による混合感染モデルの実験的研究

矢形 礼貴 井上 敦子 松永 喬

奈良県立医科大学耳鼻咽喉科学教室

檜 葉 周 三

奈良県立医科大学細菌学教室

はじめに

インフルエンザ菌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あり、多くの咽頭常在菌のうちの一つとも考えられているが粘膜を感染の場とする場合、その感染経路は粘膜上皮でなくてはならない。今回インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae* type B) を使って3週齢のマウス膣腔を利用した粘膜混合感染モデルを作成して粘膜混合感染の意義を考えてみた。

方 法

実験モデルは、膣粘膜に対して通常病原性を持たない菌として大腸菌、*Enterococcus faecalis*、MRSAを用意し、膣粘膜にインフルエンザ菌と混合感染させたものを用いた。

方法は3週齢 ddy マウス (計90匹) の膣粘膜を使用してまず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。それから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インフルエン

ザ菌を採取して膣内に1白金耳接種した。インフルエンザ菌を接種した翌日、白金耳で固型培地から採取した大腸菌、*E. faecalis*, *M. RSA* のうちの一つを膣内に1白金耳接種した。また、controlとして予めインフルエンザ菌を接種せずに直接大腸菌、*E. faecalis*, *M. RSA* をそれぞれ単独で膣内に接種したものをを用いた (Fig. 1)。そして菌接種後経日的に白金耳で膣内を擦過して膣内の菌の有無を調べてみた。

3週齢の ddY マウスの膣を使用

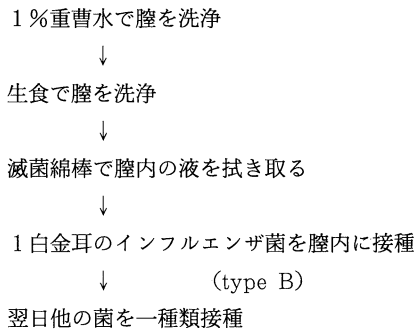


Fig. 1 実験方法

結 果

1) 大腸菌の場合 (Fig. 2). 大腸菌単独接

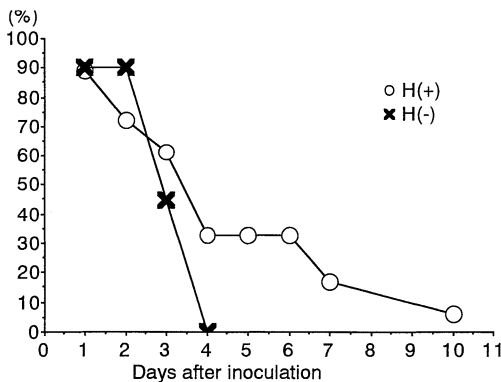


Fig. 2 Recovery rate of *E. coli* from the vaginas (n=30)
 H(+): mixed infection with *H. influenzae*
 H(-): inoculated with *E. coli* only

種では大腸菌の接種後4日で膣内は無菌となっているがインフルエンザ菌を予め接種し、その翌日に大腸菌を接種した場合は大腸菌を単独で接種した群よりも明らかに長期間大腸菌が膣内に存在している。(縦軸は大腸菌接種後大腸菌が膣から回収された膣の割合、横軸は大腸菌を接種してからの日数を示している。○印は予めインフルエンザ菌を接種してから大腸菌を接種したマウス、×印は予めインフルエンザ菌を接種せずに直接大腸菌を接種したマウスを示している。以下、縦軸と横軸の関係は *E. faecalis*, *M. RSA* についても同様である。)

インフルエンザ菌の膣内での存在については大腸菌を接種した時点では膣内に大量に存在していたがその後は確認していない。

2) *E. faecalis* の場合 (Fig. 3). *E. faecalis*

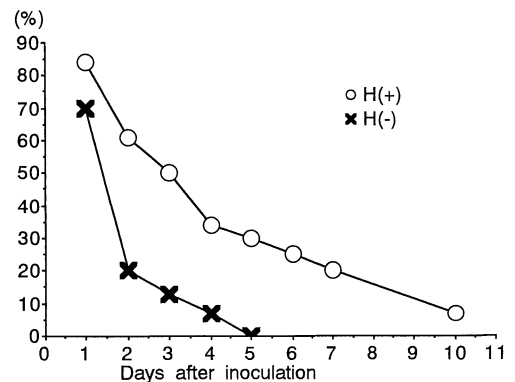


Fig. 3 Recovery rate of *E. faecalis* from the vaginas (n=30)
 H(+): mixed infection with *H. influenzae*
 H(-): inoculated with *E. faecalis* only

単独接種では接種後5日で膣内は無菌となっているがインフルエンザ菌を接種した後に *E. faecalis* を接種した場合は *E. faecalis* 単独接種群よりも明らかに長期間 *E. faecalis* が膣より回収されている。

3) *MRSA* の場合 (Fig. 4). *MRSA* のみ単独で接種しても予めインフルエンザ菌を接種していても特に差はないようである。

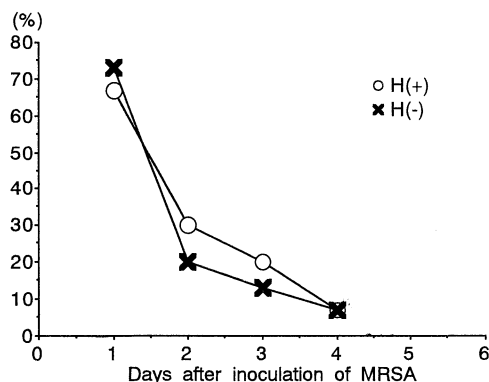


Fig. 4 Recovery rate of *MRSA* from the vaginas (n=30)
H(+): mixed infection with *H. influenzae*
H(-): inoculated with *MRSA* only

4) 膣粘膜の組織的变化. インフルエンザ菌のみを接種したマウスの膣の HE 染色像では粘膜上皮のびらん, 浮腫, 細胞浸潤が認められる (Fig. 5). インフルエンザ菌と

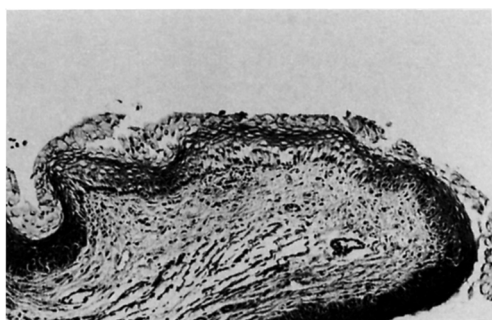


Fig. 5 Inoculated with *H. influenzae* only (HE stain, x40)
粘膜のびらん, 浮腫を認める

大腸菌を混合感染させたマウス膣の HE 染色像では粘膜上皮の剥離, 細胞浸潤が認められる (Fig. 6).

考 察

近年は化学療法剤の進歩によって immunocompromised host が増加し, それによる弱

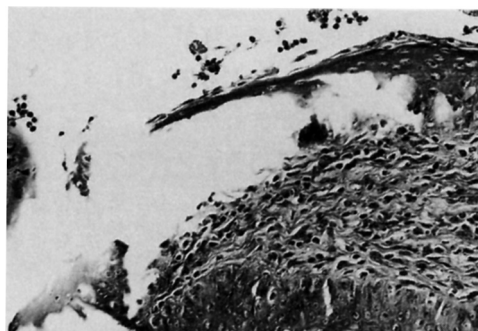


Fig. 6 Mixed infection (HE stain, x80)
粘膜の剥離を認める

毒菌による感染が問題視されている。

今回の実験ではインフルエンザ菌を予め接種することによって本来膣粘膜に病原性を持たない菌による膣炎を惹起しえた。

このことはインフルエンザ菌は粘膜上皮の barrier としての機能を破壊して local compromised condition をもたらし, 本来膣粘膜に病原性を持たない菌に病原性を発揮させる可能性を示唆しているように思われる。

インフルエンザ菌の膣内での接種後の生着については今後ストレプトマイシン耐性菌を使って検討していく予定である。

MRSA についてはインフルエンザ菌を接種してもしなくても *MRSA* の回収率には差はなかったがこれはグラム陽性菌と陰性菌の粘膜への感染様式の違い, *MRSA* が膣粘膜に親和性を持っていないことが考えられるが, この点についても今後検討していきたい。

ま と め

- 1) 大腸菌と *E. faecalis* をそれぞれ単独でマウス膣腔に接種した場合, 4~5 日目には膣腔より消失し膣内は無菌となった。
- 2) インフルエンザ菌接種翌日, まだ膣内にインフルエンザ菌が大量に存在しているときに大腸菌や *E. faecalis* を接種すると 5 日目でも多数のマウスで大量に膿性分泌物が膣内にみられ菌も大量に存在していたが 10 日目頃には膣内は無菌状態になった。

- 3) *MRSA* についてはインフルエンザ菌との間に相乗効果はみられず、インフルエンザ菌を予め接種してもしなくても4, 5日でマウス膣より消失した。
- 4) 組織的にはインフルエンザ菌のみを接種した膣では粘膜上皮のびらん、浮腫を認めるのみだが大腸菌や *E.faecalis* と混合感染

させると粘膜上皮の剥離を伴う激しい膣炎を惹起し得た。

文 献

Shuzo Kashiba : The Use of Young Mounge Vagina as a Model for Experimental Shigellosis, *Biken Journal*, Vol. 10, 25-32, 1967.

質 疑 応 答

質問 馬場駿吉 (名市大)

- ① インフルエンザ菌単独の感染も起り得るのか。
- ② 複数菌感染としてインフルエンザ菌と使用されたGH桿菌、両者が病原的意義をもつのか。

応答 矢形礼貴 (奈良医大耳鼻咽喉科)

- ① インフルエンザ菌単独でも膣炎をおこしえると思う。
- ② 接種した菌が2種類とも好中球に貪食されるかどうかは確認していないが2菌種ともに病原性を発揮していると思う。