

高校生におけるコンタクトレンズ汚染の感染経路の検討

神奈川県医師会

坂本 則敏

宇津見義一

(はじめに)

コンタクトレンズ（以下CL）の使用問題は、カラーコンタクトレンズの使用の増加と相まって急増している。今回調査した神奈川県某高校生においては、1年生315名中CL装用生徒35名11%、2年生278名中CL装用生徒67名24.1%、3年生277名中CL装用生徒66名23.8%、全体で、870名中168名19.3%にも上り、また、カラーコンタクトレンズ（以下カラーCL）の装用生徒は、全体で20.8%（35/168名）、1年25.7%（9/35名）、2年51.4%（18/35名）、3年22.9%（8/35名）にも上る。そのCLの装用生徒の使用背景を報告する。また、今回は、鼻腔検出細菌と結膜嚢内検出細菌との比較検討を報告し、CL関連角膜感染症の発症に鼻腔の検出細菌がどのように関与しているかの推測を報告する。

小児の結膜嚢内常在細菌叢のグラム陽性菌は鼻腔（鼻前庭）の細菌が関与している（自家感染）の可能性が強く、結膜嚢内細菌叢と鼻腔より検出される細菌は *Streptococcus pneumoniae* と *Streptococcus* 属が多い。また、成人の結膜嚢内常在細菌叢のグラム陽性菌では上記細菌は検出され難くなり嫌気性菌である *Propionibacterium acnes* の検出が増加し、通性嫌気性菌である Coagulase negative *Staphylococci* および *Staphylococcus aureus* も増加する。老人ではそれに *Corynebacterium sp.* が加わる。

今回、高校生の調査ではCL装用生徒の鼻腔より結膜嚢内の自家感染を起こし、それによりCL（コンタクトレンズ）関連角膜感染症の成立する可能性を遺伝子学的に調査、検討した。

(対象・方法)

神奈川県某高校生：1年生315名、2年生278名、3年生277名、全員で870名のうち、アンケート調査（CL装用の有無、CL装用生徒168名には、CLの種類、CLでの障害経験の有無、CLの装用時間・CL眼科医院での定期検査状況）を全員に施行した。また、CL装用生徒のうち23名の協力のもと、13.7%（23/168名）に対して、結膜嚢および鼻腔（鼻前庭）より細菌（好気性・嫌気性）の検出を試みた。右眼の結膜の下眼瞼結膜嚢および内眼角の結膜嚢を無菌生理食塩水に浸し3回、BD BBLカルチャースワブプラスにて、擦過して細菌を結膜嚢内より採取した。また、無菌生理食塩水を浸した同様のカルチャースワブプラスにて右鼻腔より細菌を採取した。㈱BMLにて、好気性・嫌気性細菌の分離・同定・薬剤感受性検査を施行した。次に、結膜嚢および鼻腔より採取・同定・薬剤感受性検査が施行され、結膜嚢内と鼻腔内において同一株と推測されたメチシリン耐性上皮ブドウ球菌（MRSE）を日鉄住金環境株式会社のJ-Bio 21センターにて遺伝子分析を依頼した。

(結果)

I. 某高校生のCL使用状況

1. 某高校のCL装用生徒の使用背景（表1）

生徒数：1年生315名中CL装用生徒35名11%、SCL33名94.3%、HCL1名2.9%、conventional SCL7名21.2%、2 week type SCL（以下FRSCL）11名33.3%、one day type SCL（以下DDSCL）15

名42.9%であった。

2年生278名中CL装用生徒67名24.1%、SCL58名86.6%、HCL4名6.0%、conventional SCL12名20.7%、FRSCL31名53.4%、DDSCL15名25.9%であった。

3年生277名中CL装用生徒66名23.8%、SCL59名89.4%、HCL0名0%、conventional SCL11名18.6%、FRSCL29名49.2%、DDSCL19名32.2%であった。

全体で、870名中168名19.3%、SCL150名89.3%、HCL5名3.0%、conventional SCL30名20.0%、FRSCL71名47.3%、DDSCL49名32.7%であった。

高校1年生は、DDSCLの比率が高く、2年生、3年生に比べて、一番多く、42.9% (15/35名)であった。HCLが一番比率が低く、3年生では、全員がSCLを装用していた。

表1 某高校生のCL使用状況

	1年生	2年生	3年生	全校
生徒数	315名	278名	277名	870名
CL装用者	35名(11%)	67名(24.1%)	66名(23.8%)	168名(19.3%)
S.C.L.	33名(94.3%)	58名(86.6%)	59名(89.4%)	150名(89.3%)
H.C.L.	1名(2.9%)	4名(6%)	0名	5名(3%)
conventional S.C.L.	7名(21.2%)	12名(20.7%)	11名(18.6%)	30名(20%)
FRSCL	11名(33.3%)	31名(53.4%)	29名(49.2%)	71名(47.3%)
DDSCL	15名(42.9%)	15名(25.9%)	19名(32.2%)	49名(32.7%)

2. CL障害経験生徒 (表2)

1年生3名8.6% (3/35名)、2年生6名9.0% (6/67)、3年生10.6% (7/66名)、全体16名9.5% (16/168)であった。すなわち、10名中約1名は経験していることになる。

表2 CL障害経験生徒

1年生	3名	8.6%(3/35名)
2年生	6名	9.0%(6/67名)
3年生	7名	10.6%(7/66名)
全体	16名	9.5%(16/168名)

3. CL装用時間 (表3)

8時間以下、12時間以下、16時間以下、17時間以上、連続装用に分けて集計した。

12時間以下の安全で装用していた生徒は、1年生41.3% (12/29名)、2年生61.3% (38/62)、3年生41.3% (26/63)で、不回答生徒が1年生で6名、2年生5名3年生3名、全学年で15名であった。12時間以下の安全な装用時間を守っていると思われる生徒は全体で45.2% (76/168)であった。16時間以内では、全体で83.9% (141/168)であった。残り、17時間以上の極めて危険な生徒は16.1% (27/168)に上る。

表3 CL装用時間

	8時間以下	12時間以下	16時間以下	17時間以上	連続
1年生	2	10	11	6	0
2年生	8	30	19	4	1
3年生	6	20	35	2	0
全体	16	60	65	12	1

12時間以下の安全な装用時間のCL使用生徒は45.2% (76/168)であった。
不回答14名(1年生6名、2年生5名、3年生3名)であった。

4. 眼科医院でのCL定期検査受診率 (表4)

1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月、1年間、受診無に区分して集計した。不回答生徒は1年生2名、2年生0名、3年生1名の計3名であった。3ヶ月以内の受診率は、1年生42.4% (14/33名)、2年生38.8% (26/67)、3年生27.7% (18/65)、全体で35.8% (59/165)の受診率であった。6ヶ月以内の受診率は1年生69.7% (23/33名)、2年生73.1% (49/67)、3年生58.5% (38/65)、全体で66.7% (110/165)の受診率であった。

1年以上定期検査を受けていない生徒は、1年生30.3% (10/33名)、2年生26.9% (18/67)、3年生41.5% (27/65)、全体で33.3% (55/165)であった。すなわち、最低限度の定期検査を6

表4 CL定期検査

	1ヶ月	3ヶ月	6ヶ月	1年間	無
1年生	4	11	8	4	6
2年生	1	25	23	5	13
3年生	1	17	20	14	13
全体	6	53	51	23	32

6ヶ月以下の定期検査66.7%(110/165名)
1年以上定期検査を受けていない生徒33.3%(55/165名)
不回答者(1年:2名、2年0名、3年1名)

ヶ月以内とすると約3割はそれを越えている。

5. カラーコンタクト装用生徒

・・・20.8% (35/168名)

1年25.7% (9/35名)、2年51.4% (18/35名)、3年22.9% (8/35名)の使用状況にあった。one day type soft contact lens (DDSCL) 装用者は34.3% (12/35名)であり、1年2名、2年10名、3年0名が使用していた。また、2 week type soft contact lens (FRSCL) 装用者は20.0% (7/35名)であり、1年1名、2年2名、3年4名であった。そして、Conventional type soft contact lens (conventional SCL) 装用者は5.7% (2/35名)であり、1年0名、2年1名、3年1名であった。その他として、1月交換・不定期交換などは40% (14/35名)で、1年6名、2年4名、3年4名であった。また、眼科の受診率(定期検査受診率)は42.9% (15/35名)のみが受診していた。1年生は5名、2年生は7名、3年生は3名の眼科受診に留まっていた。すなわち、57.1% (20/35名)が眼科の管理下にいないことになる。

II. CL 装用生徒の検出細菌

1. 結膜嚢内検出細菌

① 頻度：13.0% (6/13生徒)

② 菌種

単数菌検出：4症例66.7% (4/6症例)

Propionibacterium acnes：3症例、
MRSE(methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*)：1症例

複数菌検出：2症例33.3% (2/6症例)

*Propionibacterium acnes*とCNS：coagulase-negative *Staphylococcus*, *Propionibacterium acnes*とMRCNS (methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococcus*)

2. 鼻腔内検出細菌

① 頻度：100% (23/23生徒)

② 菌種

1) 単数菌検出：7症例30.4% (7/23症例)

CNS：5症例71.4% (5/7)、
MSSA (*Staphylococcus aureus*)：2症例28.6% (2/7)

2) 複数菌検出：16症例69.6% (16/23症例)
13症例81.3% (13/16)がCNS (但し、

3菌株がメチシリン耐性株)との複数菌検出例で、*Corynebacterium* sp. (同時検出のCNSのうち1株がMRCNS)が10症例62.5% (10/16)であった。他3症例は、*Escherichia coli*との2菌種複数菌検出例と、*Klebsiella* sp.とMSSAとの3菌種検出例(但し、検出CNSはMRSE)。残り1症例は*Moraxella* sp.と*Corynebacterium* sp.との3菌種検出例(但し、検出CNSはMRCNS)であった。また、3症例18.8% (3/16)がMSSAとの複数菌検出例でCNS 1症例、*Corynebacterium* sp. 2症例との検出例であった。

3. コンタクトレンズ装用生徒における結膜嚢および鼻腔細菌同時検出症例 (表5)

表5の如く、6症例において、結膜嚢内と鼻腔において同時に細菌(好気性または嫌気性)が検出された。結膜嚢検出菌種は、*Propionibacterium acnes* 55株とブドウ球菌2株(メチシリン耐性上皮ブドウ球菌MRSE 1株、メチシリン耐性コアグララーゼ陰性ブドウ球菌MRCNS 1株)を検出した。うち、症例5は、2菌種による複数菌検出症例であった。また、鼻腔から6症例のすべてが複数菌検出症例は、*Corynebacterium* sp. 4株、*Klebsiella* sp. 1株、ブドウ球菌7株：メチシリン感受性黄色ブドウ球菌MAAS 2株、MRSE 1株、MRCNS 1株、メチシリン感受性コアグララーゼ陰性ブドウ球菌CNS 3株が検出された。

表5

コンタクトレンズ装用生徒の細菌検査例 (結膜嚢および鼻腔細菌検出例)		
症例	結膜嚢検出細菌	鼻腔検出細菌
I	<i>Propionibacterium acnes</i>	MSSA MRSE
II	MRSE	<i>Klebsiella</i> SP. MSSA
III	<i>Propionibacterium acnes</i>	MRCNS <i>Corynebacterium</i> sp.
IV	<i>Propionibacterium acnes</i>	CNS <i>Corynebacterium</i> sp.
V	MRCNS <i>Propionibacterium acnes</i>	CNS <i>Corynebacterium</i> sp.
VI	<i>Propionibacterium acnes</i>	CNS <i>Corynebacterium</i> sp.

Ⅲ. 症 例

MRSEを結膜囊内および鼻腔に検出した症例
(表6)

16才、男性、FRSCLを装用、消毒方法はH₂O₂を使用していた。普段より、点眼液は緑のCキューブを使用しており、検査当日の朝も使用していた。

(Cキューブ)

塩化カリウム (ミネラル成分) 0.08%、塩化ナトリウム (ミネラル成分) 0.44%、塩化カルシウム水和物 (ミネラル成分) 0.005%、ヒプロメロース0.08%

添加物：ホウ酸、ホウ砂、ヒアルロン酸Na、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール (ポロクサマー)、エドト酸Na、1-メントール、pH調節剤、塩酸ポリヘキサニド

(結膜囊内検出細菌)：嫌気性菌は検出されていない。

1. MRSE (1+)：メチシリン耐性上皮ブドウ球菌

(耐性：R)：PCG, ABPC, SBT/ABPC, CEZ, CTM, CMZ, FMOX, IPM/CS, GM, LVFX, GFLX

(感受性：S)：ABK, EM, MINO, VCM, FOM, ST

(鼻腔内検出細菌)：嫌気性菌は検出されていない。

1. MRSE (1+)：メチシリン耐性上皮ブドウ球菌

上記の結膜囊内検出細菌に薬剤感受性は同じ。

2. MSSA (1+)：メチシリン感受性黄色ブドウ球菌

(耐性：R)：EM, MINO, LVFX, GFLX

(感受性：S)：PCG, ABPC, SBT/ABPC, CEZ, CTM, CMZ, FMOX, IPM/CS, GM, ABK, VCM, FOM, ST

3. *Klebsiella sp.* (1+)：肺炎桿菌→クエズジエラ属菌

(中等度耐性)：ABPC

(考 案)

結膜囊内の細菌汚染の年齢調査として、熊谷らは第48回眼感染症学会において健康な小児147人中29人(19.7%)に細菌を検出した。2-5歳の培養陽性率は33.3%で*Streptococcus pneumoniae*が62.5%、その他の*Streptococcus*属は12.5%であった。6-15歳では*Propionibacterium acnes*が58.8%、*Streptococcus*属は12.5%であった。成人結膜からは*Propionibacterium acnes*のみが検出されたと報告されている。鼻腔でも上記細菌が検出されている。一方、熊谷らは角膜カンファランス(第36回日本角膜学会・第28回日本角膜移植学会)にて、演題(集団保育児における鼻前庭細菌叢の季節性変化と結膜囊細菌叢の関係)にて、2011年の2月と8月に京都市内の保育園1施設にての調査において、保育園児の結膜囊検出菌が一番多い*Streptococcus pneumoniae*に季節差はなかった。一方、鼻前庭では、*Corynebacterium sp.*と*Streptococcus pneumoniae*が高く、夏はCNS、冬は*Streptococcus pneumoniae*、*Haemophilus influenzae*、*Moraxella catarrhalis*が多いと報告している。今回の調査は2013年6月に施行した。

小児においては鼻腔よりの鼻涙管を通しての感染もあると推測されるが、成人のコンタクトレンの汚染は眼瞼部よりの汚染と考えられている。今回、高校生の鼻涙管を通しての感染(内因性感染)については調査されていないために、調査を施行し、内因性感染の存在する事を遺伝子解析で推定した。

健常結膜囊は、コリネバクテリム属、MSCNS(メチシリン感受性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌)、MRCNS、MSSA(メチシリン感受性黄色ブドウ球菌)、レンサ球菌、*Enterococcus faecalis*や嫌気性菌の*Propionibacterium acnes*などが検出されるが、先に述べたように、年齢により検出細菌はことなる。

結膜囊のMRCNSの健康児童・生徒の増加を筆

表6

MRSEを結膜囊内及び鼻前庭に検査した症例	
【症例】16才 男性 FRSCL	
消毒方法：H ₂ O ₂ 点眼液：緑のCキューブ	
(結膜囊内)	① MRSE(1+)：メチシリン耐性上皮ブドウ球菌 ② (耐性) PCG, ABPC, SBT/ABPC, CEZ, CTM, CMZ, FMOX, IPM/CS, GM, LVFX, GFLX ③ (感受性) ABK, EM, MINO, VCM, FOM, ST
(鼻腔内)	① MRSE(1+)：メチシリン耐性上皮ブドウ球菌… 同じ感受性 ② MSSA(1+)：メチシリン感受性ブドウ球菌 ③ (耐性) EM, MINO, LVFX, GFLX ④ (感受性) PCG, ABPC, SBT/ABPC, CEZ, CTM, CMZ, FMOX, IPM/CS, GM, ABK, VCM, FOM, ST ⑤ <i>klebsiella sp.</i> (1+) ⑥ (中等度耐性) ABPC

者は、第41回学校保健・学校医大会で報告し、日コレ誌54：259-267、2012にて報告した。一般に、結膜囊のMRCNS保菌率については10～30%とされ、保菌リスクは、眼科通院歴、他科での手術歴、ステロイド使用歴などとされ、リスク因子が増える程増加することが知られている¹⁾。また、鼻前庭のMRCNSの保菌リスクは医療関係者、小児とされている²⁾。MRCNAの供給源を鼻前庭と考える研究者が多い³⁾。また、木村らは、前眼部MRSA保菌患者の鼻前庭MRSA保菌率(78%)は、前眼部MRSA非保菌者の鼻前庭MRSA保菌率(11%)より有意(p<0.01)に多いことを報告している⁴⁾。

今回、結膜囊内検出MRSEは、鼻腔(鼻前庭)検出MRSEと同じ薬剤感受性を示し、同一株と推定され、自家感染(内因性感染)により、結膜囊の常在細菌叢と鼻腔細菌叢が形成されたと考え、遺伝学的検討し、推定した。

その方法、結果を報告する。

真正細菌では、50Sサブユニットに、r(リボソーム)RNAの5S、23Sと30Sサブユニットに16SのrRNSをもち、クレンアーキオータ(5Sが独立)以外は、オベロン構造(16S、23S、5S)をもっているとされるが、今回のゲノム解析にて、検出菌MRSEは、5個のオベロン構造をもつと推測された。それをもとに、結膜囊内と鼻腔囊内より検出したMRSEより、DNAを抽出し、100μlのDNAを得、PCR増殖し、PCRプライマー配列F38、F72を使用し、得られたDNA配列を公共のデータベースと照合して相同性検索(Blast検索)を行い、近縁種を予測したが、複数の長さのPCR増幅産物が見られたため、400bp程度のPCRをアガロースゲルから切り出して精製を行いシーケンス解析に供したが、シーケンスデータに重なりが見られたため、産物の全長解析ができず、解析可能であったF38での139bpのブラスト解析結果は、今回得られた両MRSEのITS(internal transcribed spacer 1)での、この配列シーケンスは、同一であった。しかし、ITS1でのこの配列において、データベース上に収載された*Staphylococcus epidermidis*に属する複数の菌株で確認されたことから、この方法では株レベルで同じであることが確認できなかった。

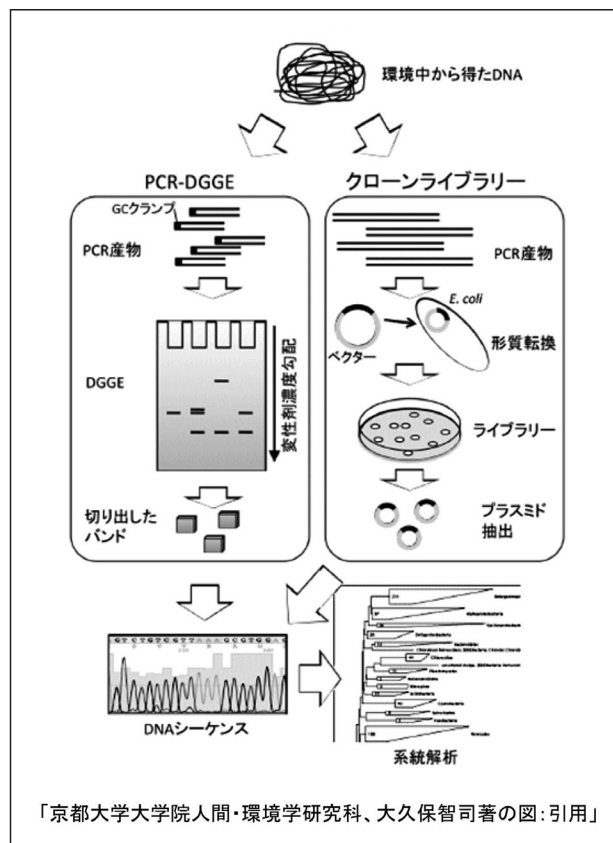
次に、クローニング法(図1)を施行した。MRSEの菌体サンプルをビーズビーディング法により破壊

処理し、タンパク質を除去後、磁気ビーズを用いて精製し、100μlのDNAを得、これをPCRの鋳型として用いた。真正細菌ITS1特異的ユニバーサルプライマーのF39(塩基長18mer)とF72(塩基長20mer)を用いて、真正細菌のITS1領域のPCR増幅を施行した。ITS1領域のPCRサイクル数をインターカレーター法にて、クローニングに十分な産物を得るのに最適なサイクル数を決定して施行した。上記で得られたPCR増幅産物をクローニングし、各48クローンのシーケンス解析の結果、ITS1領域において2つ結膜囊内検出と鼻腔のMRSEで共通して3種類(380bp、472bp、566bp)の塩基配列が得られ、3種類の配列のうち472bpの配列については、全く同じ配列がデータベース上に存在せずこの両MRSEに特徴的な配列であることが示唆された。

このようにITS1領域において両MRSEはデータベースには存在しない配列を共有しており、かつ解読したITS1領域の配列が両MRSEとの間で完全に一致したことから、両株は株レベルで同一である可能性が強く示唆された。

このことからCLの汚染経路には、鼻涙官を通し

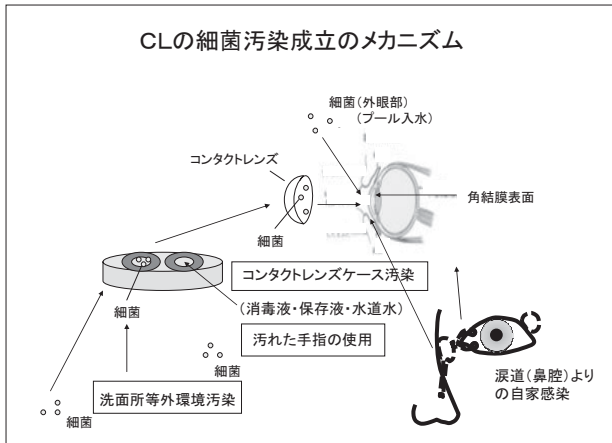
図1 PCR-DGGEとクローンライブラリー法による多様性解析の流れ



での経路も否定できず図2の如きと考えられる。

CLの感染性角膜感染症は、低酸素による日和見感染が起こりうることは、周知の事である。第43回全国学校保健・学校医大会にて、嫌気性菌*Propionibacterium acnes*によっても15時間以上のCL使用による低酸素状態では、角膜上皮バリアーが障害されCL関連角膜感染症を起こしうる事を文献的にreviewした。

図2 CLの微生物感染経路



(おわりに)

カラーコンタクトレンズの装用生徒が20.8% (5/168名) にも上り、57.1% (20/35名) が眼科の管理下でないという大問題に、われわれ眼科学校医は、CL関連角膜感染症は日和見感染である事を、常に、念頭において啓発活動をすべきであることを痛感している。

(文献)

- 1) 星 最智, ト部公章: 白内障術前患者における結膜嚢常在細菌の保菌リスク. あたらし眼科28: 1313-1319. 2011
- 2) 小森由美子, 見田貴裕, 二改俊章: メチシリン耐性ブドウ球菌の家族内伝播. 日本環境感染学会誌 23: 245-250. 2008
- 3) 星 最知, 大塚齋史, 山本恭三, 橋田正継, ト部公章: 結膜嚢と鼻前庭の常在細菌の比較. あたらしい眼科23: 1613-1617. 2011
- 4) 木村直子, 外園千恵, 東原尚代, 稲富 勉, 横井則彦, 木下 茂: 前眼部におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の検出と鼻前庭保菌との関連. 日眼会誌111: 504-508. 2007