

抗生剤投与方法による慢性中耳炎耳漏中の 菌量の変動について

杉山 正夫・山崎 太朗・山本 馨*

Studies on the Variation of Viable Counts Bacteria in Otorrhoe According to Methods of Antibiotics Administration

Masao SUGIYAMA, Taro YAMASAKI and Kaoru YAMAMOTO*

For conservative treatment of chronic otitis media, antibiotics is applied orally or in ear drop. In order to clarify which method was more effective, the patients (24 cases) were divided into two groups, one for oral administration (Cephalexin 150 mg 3 times daily, for 6 days) and another for administration by ear drop (0.4 ml of 5 mg/ml of Cephalexin, on the first and third day during 6 days) and the viable counts of bacteria in the otorrhea were compared between both groups. It was found that there were more decrease cases in the group applied in form of ear drops as compared with the oral administration group and the degree of reduction in the bacterial number was higher in the group administrated by ear drop. Moreover, the antibody titer for pseudomonas aeruginosa in the sera of the patients with chronic otitis media and healthy subjects were investigated. The antibody titers of the patients with chronic otitis media were much high. However, among the patients of chronic otitis media, there was no significant difference in the antibody titer between the cases in which Pseudomonas aeruginosa was detected in otorrhea and those in which it was not detected.

緒 言

慢性中耳炎の治療は、手術が第一であることはいうまでもないことであるが、保存的治療が必要なこともあり、また、手術をする症例でも術前に保存的治療を施行し、より良い状態にしておくことが術後経過を良くするために必要なことである。そこでこの研究では、有効な保存的治療を思索する手がかりとして、抗生物質の使用法によつて、慢性中耳炎の耳漏中の菌種の変化と、菌量の変化について調べた。さらに慢性中耳炎病巣中の菌に対する生体側の反応を追求する1つの指標として、緑膿菌に対する患者血清の抗体価を測定し、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1) 抗生剤の使用法

図1のように経口投与群と点耳投与群に分けた。経口投与群ではセファレキシンを1日1.5g(1回500mgを3回)を6日間投与した。点耳投与群では図1のように1日目と3日目にセファレキシン5mg/ml(セファレキシン原末をphosphate bufferで溶解)の濃度のものを0.4ml点耳した。

2) 菌量の測定

図1のように経口投与群と点耳投与群の両群について薬剤投与前と投与期間の中間と投与後の3回耳漏採取し、その耳漏中の菌の同定と生菌数を測定した。生菌数測定法には平板培養法¹⁾を用いて colony countを行つた。この colony count は、なるべくすべての菌がはえるように brain heart infusion (B.B.L製)に10%の仔牛血清を加えた1%寒天培地とガム培地(日水製薬製)の2つの培地で測定した。ガム培地

* 大阪市立大学耳鼻咽喉科学教室

Department of Oto-Rhino-Laryngology, Osaka City University Medical School, Osaka, Japan.

The method for administration of drug and the times of identification and quantitative analysis about organismus in otorrhea

Route of administration

Route 1. oral administration

Route 2. ear drop administration

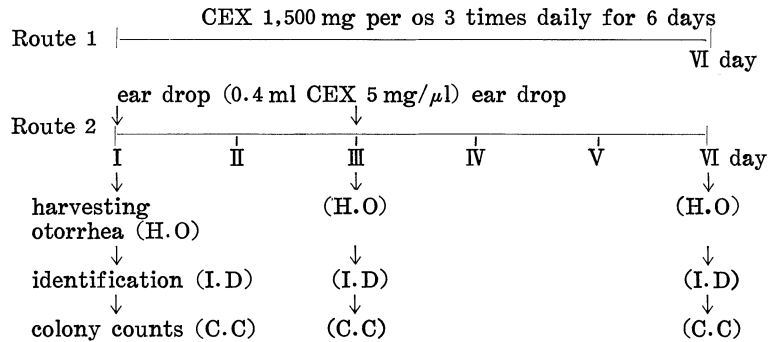


図 1

は嫌気性菌のことも懸念してこの培地を用いたもので、排気置換嫌気性ジャーによる培養を行った。両培地の colony 数のうち多い方を sample の生菌数とした。結果的には血清添加 brain heart infusion を用いた方が colony 数は多いが、あるいは同程度であった。

3) 耳漏の採取

米国 Roselawn 社の RM 超微量血液採取管の吸引口の先に、マイクロピペットのチップの先をつけ、図 2 のような器具を作り、吸引器で吸引して耳漏を採取した。耳漏の多い case では耳漏をこのセットで吸引後、さらに穿孔している中耳腔へ 0.4 cc の生理食塩水を注入し、この液を吸引した。耳漏の少ない case でははじめから 0.4 cc の生理食塩水を注入し、吸引した液を生菌数測定に用いた。菌量はこうして得られた液の 0.2 ml の生菌数を測定した。

4) 緑膿菌抗体価の測定

緑膿菌抗体価測定用 OPE-HA 試薬²⁾³⁾を使用した。

実験結果と考察

1) 耳漏中の菌量の変化について

経口投与例 12 例と点耳投与例 12 例について調べた。まず菌量が減少した例については表 1 のようになった。この菌量の減少とは、生菌数が 10^3 cells 以上の減少したものを減少例としてあつた。減少例については、点耳投与例では 12 例中 9 例で、経口投与例は 12 例中 6 例であり、点耳投与例の方に多かつた。そうし

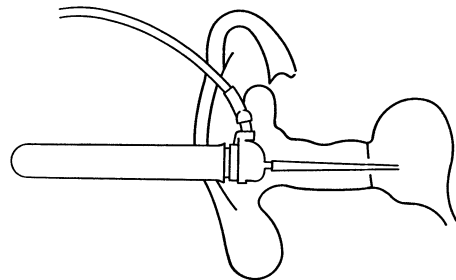


図 2 Method of collection of otorrhea

てこの菌量の減少の程度を見ると、点耳例では菌量が $10^2 \sim 10^3$ cells まで減少している例が多い。経口投与例ではせいぜい $10^5 \sim 10^6$ の order までの減少である。両方の投与方法とも菌の減少例は、投与薬剤に感受性のある株である場合が圧倒的に多かつた。一方、両投与群共に耐性菌でも減少している例があるが、これは生理食塩水の注入、吸引による物理的な洗浄によるものと考えられる。

次に菌量の減少がみられなかつたり、逆に増加している例については、表 2 のごとくであつた。この表から気づくことは、検出菌が投与薬剤に感受性のある菌株であるにもかかわらず、薬剤投与後も全く同じ感受性株が検出され、しかも菌量が不変ないし増加している例がある。これは慢性中耳炎という局所的な慢性炎

表1 The effect of CEX-administration on bacterial counts in otorrhea (decreased cases)

	Per os	Ear drop
	No. of cases	No. of cases
Alternation of strain during CEX-administration	in 6 of 12	in 9 of 12
Isolated CEX-sensitive strain prior to CEX-administration	5	8
(1) unchanged cases	2 $\begin{matrix} (10^{11}-10^6) \\ (10^9-10^5) \end{matrix}$	6 $\begin{matrix} (10^8-10^4) & (10^8-10^3) \\ (10^{11}-10^8) & (10^{10}-10^4) \\ (10^8-10^4) & (10^{10}-10^2) \end{matrix}$
(2) changed cases	3	2
(A) sensit. str. → other sensit. str.	2 $\begin{matrix} (10^8-10^5) \\ (10^{12}-10^9) \end{matrix}$	
(B) sensit. str. → resistant str.	1 $(10^{11}-10^8)$	
(C) sensit. str. → negative in identification		2 $\begin{matrix} (10^8-10^2) \\ (10^8-10^1) \end{matrix}$
Isolated CEX-resistant strain prior to CEX-administration		
(1) changed cases	1 $(10^{11}-10^8)$	1 (10^8-10^2)
(A) resist. str. → other resist. str.		

(Figures in parentheses represents the order of cell counts)

表2 The effect of CEX-administration on bacterial counts in otorrhea (increased or unchanged cases)

	Per os	Ear drop
	No. of cases	No. of cases
Alternation of strain during CEX-administration	in 6 of 12	in 3 of 12
Isolated CEX-sensitive strain prior to CEX-administration	5	2
unchanged	2 $\begin{matrix} (10^5-10^9) \\ (10^{12}-10^{12}) \end{matrix}$	2 $\begin{matrix} (10^{13}-10^{13}) \\ (10^7-10^7) \end{matrix}$
changed	3	
sensitive strain ← resistant strain	3 $\begin{matrix} (10^6-10^9) \\ (10^{11}-10^{10}) \\ (10^9-10^8) \end{matrix}$	
Isolated CEX-resistant strain prior to CEX-administration	1	1
unchanged	1 $(10^{11}-10^{11})$	1 $(10^{11}-11)$

(Figures in parentheses represents the order of cell counts)

症では、解剖学的な問題や炎症像の病理的な状態によつては、菌の存在する部位へ薬剤が到達しにくい例があるためでなかろうかと考えられる。経口投与例 3 例にみられた菌量は不変であり、これは感受性株から耐性菌に変化している例が、薬剤投与中に菌交代現象を起したものと思われる。以上、症例の少ないこの結果から、経口投与より点耳投与の方が有効であるというのは早計であるが、この実験に関しては点耳投与の方が有効であつた。これは投与がわずか 2 回であるが、経口投与群よりはるかに高濃度のものが局所に確実に到達されているからであろう。経口投与群では、約 60% の症例が薬剤投与期間中に菌交代現象が見られた。この率が点耳投与群に比べて高いのは、慢性中耳炎のように混合感染していることが多く、また新しい菌が入りやすい炎症巣に、局所では量的に少ない抗生剤が連続して移行しているためでなかろうか。

そこで、一般に混合感染していることの多い慢性中耳炎病巣に経口投与などで抗生物質が移行すると、菌

The influence of CEX on bacterial flora in otorrhea of chronic otitis media

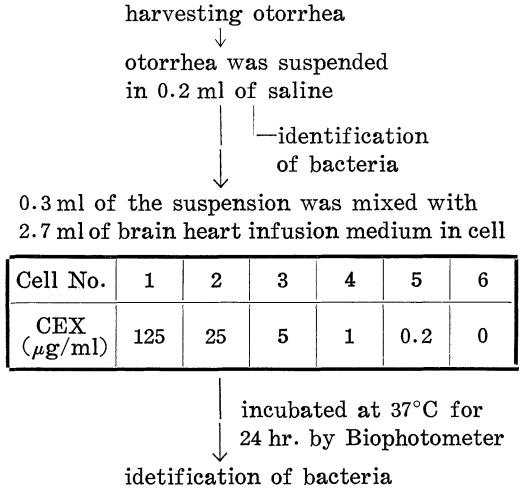
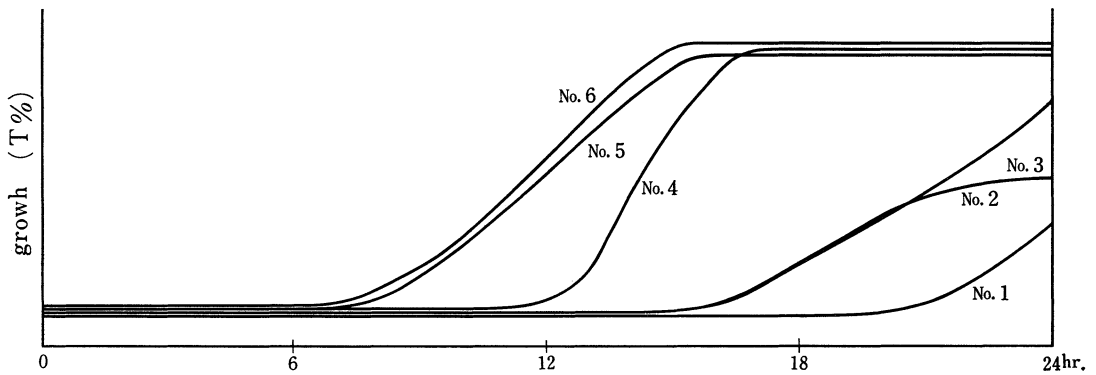


図 3



organismus islated prior to addition of CEX	Cell No.	CEX (μg/ml)	organismus isolated at termination of 24 hr. incubation
Staphylococcus aureus & Pseudomonas aeruginosa	1	125	Ps. aeruginosa
	2	25	Ps. aeruginosa
	3	5	Ps. aeruginosa
	4	1	Ps. aeruginosa & Staph. aureus
	5	0.2	Ps. aeruginosa & Staph. aureus
	6	0	Ps. aeruginosa & Staph. aureus

incubated at 37°C for 24hr.

図 4 Growth curve of organismus in ear discharge

の動態にどのような影響をあたえているかを知る方法として、図3のような実験を biophotometer を用いて *in vitro* で検索した。図3のように biophotometer の6本ある cell 内へ上述の耳漏採取液と brain heart infusion medium を入れ、図3に示すように各 cell に経口投与で血中や組織への移行量の前後と考えられる5段階の濃度のセファレキシンと抗生物質の含まれていない対照の cell を作り、37°C・24時間培養した。その測定値は図4のような菌の growth curve となつて現われる。この cell に入れる耳漏中の菌を同定しておき、24時間培養後の各 cell 中の菌を同定した。その結果は、最初の sample では *Staphylococcus aureus* と *Pseudomonas aeruginosa* が検出された。それが24時間培養後には、セファレキシン 5 μg 以上のはセファレキシンに感受性のある *St. aureus* は消失し、*Ps. aeruginosa* のみが検出されている。1 μg 以下の cell では、最初の sample と同じ2種類の菌が検出された。さきの実験で点耳に用いたセファレキシン 5 mg/ml という濃度は、この一番高い濃度の 125 μg の40倍であることを考慮しなければならない。このような biophotometer を用いた方法で case を重ねて検討してみると、抗生物質の少ない cell では混合して検出される感染菌のうち、選択的に耐性菌だけを残すような case と、最初の耳

漏から検出されなかつた菌が、24時間培養後には抗生物質を入れた cell から検出される case がしばしばあつた。これは耳漏中には同定しにくいほど微量しか存在しなかつた菌を、選択的に増殖させた結果であろうと考えられる。

以上のことを考え合わせると、慢性中耳炎の分離菌に感受性のある抗生物質を連続的に投与しても、病巣に移行する量が少なければかえつて弊害を起すのではないかと考えられる。むしろ回数は少くとも、検出菌に感受性のある抗生物質の MIC よりはるかに高い量が局所に到達すれば、良い結果が得られるのではないかと考えられる。

2) 慢性中耳炎患者血清中の緑膿菌に対する抗体価について

今まで慢性中耳炎について抗生物質と検出菌の動態について述べて来たが、感染症は宿主対寄生体の相互関係の上に成立するもので、宿側の反応が菌の動態と何らかの関係がらがあるのかを緑膿菌に対する血清抗体価を1つの指標として調べた。LANDYら⁴⁾は緑膿菌に対する正常人の血清抗体価を測定し、抗体価7.5倍以上のものを陽性とするなら4才以上の人では100%陽性だと報告している。このような抗体価に差を見出すためには、非常に鋭敏な方法でなくてはならない。そこで本間・富山²⁾³⁾によつて開発された緑膿菌

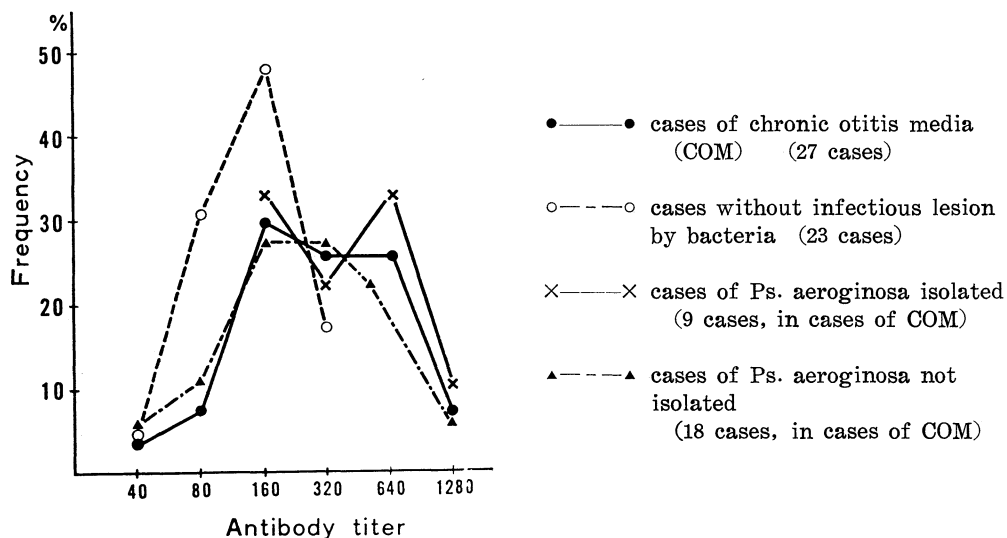


図5 Comparison of OEP-HA antibodies in sera between healthy persons and patients of chronic otitis media (50 cases).

の共通抗原である **original endotoxic protein** をタンニン酸処理ヒツジ赤血球に吸着させた血球凝集反応を用いた方法にしたがって抗体価を測定した。この OEP は共通抗原であるので、すべての血清型の緑膿菌に反応する。結果は図 5 のごとくであつた。対照群には炎症巣を持たない正常人の血清を用いた。対照に比べて慢性中耳炎患者群の方が抗体価は高いようである。本間らによれば、抗体価 320 以上は緑膿菌感染症または感染症の疑いとしている。この結果では慢性中耳炎患者の約 60 % が 320 以上であつた。しかし対照でも 20 % 弱が 320 であつた。

次に慢性中耳炎患者のうち、血液採取時に耳漏より緑膿菌が検出された case と耳漏中に緑膿菌が検出されない case に分けた。結果は緑膿菌が検出されている群の方がやや抗体価が高いことが判る。しかし大きな差はなかつた。緑膿菌検出群でも血清抗体価が 320 以下のものが 30 % 強あつた。この場合、緑膿菌はその病巣で炎症の主役ではないのであろう。一方、緑膿菌が検出されない群で抗体価が 320 以上のものが 58 % あつた。さきに述べたごとく、点耳や内服で検出菌がよく変動することを示した。これらのことを考え合せると、この実験に用いた例数はまだ少ないのであるが、慢性中耳炎のような慢性疾患においては、今日のように抗生物質の多様な治療を受けている時には、耳漏中の一度の菌検査による検出菌をもって、その病巣の感染の主役と考えることは一考を要するものと思える。

結 語

1) セフェレキシンを内服した 12 例と点耳した 12 例について耳漏中の生菌数を経時的に調べた。結果は検出菌の種類にもよるが、点耳を行った例の方が生菌数の減少する例が多く、その減少の程度も高く、 $10^2 \sim 10^3$ cells 程度にまで減少する症例が多かつた。

2) 慢性中耳炎の患者と健康人の血清中の *Pseudomonas aeruginosa* に対する血清抗体価を調べた。慢性中耳炎の患者は健康人に比べて抗体価の高い症例が多かつた。しかし慢性中耳炎患者のうち、耳漏中に *Ps. aeruginosa* が検出されている症例群と検出されていない症例群の間には抗体価に差がなかつた。

文 献

1) 伝染病研究所学友会編：細菌学実習提要，P. 164，丸善，東京，1958。

- 2) 本間 遜：緑膿菌感染の基礎的研究の動向，日本細菌学雑誌 27：629，1972。
- 3) TOMIYAMA, T. *et al.*: Passive hemagglutination reaction using formalized sheep erythrocytes treated with tannin and coated with protein moiety of the endotoxin (OPE) of *Pseudomonas aeruginosa*. Japan. J. Exp. Med. 43:185, 1973.
- 4) GAINS, S. *et al.*: Prevalence of antibody to *Pseudomonas* in normal humansera. J. Bacteriol. 69:628, 1964.

〔質問〕本堂（名市大）：濃度測定された成績についてふれられた部分があつたが、方法はいかなる方法によられたか。

〔応答〕杉山（大阪市大）：CEX を 500 mg 内服後、2 時間の耳漏中の薬剤濃度を測定している。耳漏はローゼルマン社の超微量血液採取管に吸引した耳漏中の薬剤濃度をディスク法で測定した。

〔質問〕岩沢（札幌通信）：CEX 以外の抗生剤を使用されたか。殺菌的作用と静菌的作用を示す薬剤との差異を御教示下さい。

〔応答〕杉山（大阪市大）：CEX 以外の薬剤は使用していない。したがって、殺菌的な薬剤と静菌的な薬剤との差については何ともいえない。

〔質問〕金子（東北大）：OEP-HA titer が高いにもかかわらず、培養陰性であつた症例の症状、治癒傾向についてはいかがですか。また、高 titer と培養陰性との関係についていかが考えておられるか。

〔応答〕杉山（大阪市大）：他の部位に感染を受けていたり、以前の感染の影響で、現在菌が検出されなくても titer が上つているものがあるのではないかと考える。

〔質問〕和田（名市大）：耳漏中の CEX 移行濃度測定は点耳後何時間で測定しているか。

〔応答〕杉山（大阪市大）：点耳例については耳漏中への薬剤移行濃度は測定していない。CEX 5 mg/ml のものを点耳しているので、点耳の場合、点耳した時はその濃度のものが局所にあると考えている。経口投与の例については投与後 2 時間の耳漏中の濃度を測定している。

〔質問〕佐藤（東医歯大）：CEX の点耳薬は何で溶かされたか。

〔応答〕杉山（大阪市大）：生理食塩水で溶かした。