

## BACTERIOLOGICAL EXPERIMENT CONCERNING THE EFFECT OF AEROSOLIZATION

Masanori Sakaguchi, Kazuya Itoh, Yoshiyuki Kawakami,  
Hiromaro Tokoshima, and Kiichiro Taguchi.

Department of Otolaryngology, Faculty of Medicine, Shinshu University

A plastic box, the size of 32×24×21 cm, was used for our experiment, into which three sorts of solutions were nebulized. Six to eight Drigalski agar plates were placed on the base of the box. Each of the solution was nebulized for 5 minutes on the agar plates. The plates were let settle down for 25 minutes after nebulizing, and incubated at 37°C for 48 hours. After incubation, the number of appearing colonies was counted.

A) When 2ml solution of sterile saline was nebulized, no organisms grew on the plates. On the contrary, some organisms were detected on the control plates which were placed out of the box. They were Staphylococcus epidermidis, Micrococcus species, Corynebacterium species, and Penicillium species.

B) When 2 ml solution of Escherichia coli ( $10^3 \sim 10^4$ /ml) was nebulized, Bacteria were scattered evenly on the plates in the box.

C) The relation between the concentration of the aerosol and the minimal inhibitory concentration (MIC) was investigated. MIC was decided by the agar plate dilution method. After 2ml solution of Escherichia coli was nebulized on all the plates, each of the 2ml solution of antibiotics at the various concentrations was nebulized on the half of all the plates implanted with bacteria. As the result, the aerosol inhibitory concentration was 3.5 times as much as the MIC. It was concluded that the aerosol inhibitory concentration should be sufficiently higher than the MIC value in cases under atomized antibiotic treatment

### 細菌学的エアロゾル噴霧実験

長野赤十字病院耳鼻咽喉科

信州大学医学部耳鼻咽喉科学教室

信州大学医学部附属病院中央検査部

床島耳鼻咽喉科

坂口正範

伊藤和也・田口喜一郎

川上由行

床島廣磨

#### 緒言

現在、エアロゾル療法は、日常の耳鼻科外来診療において、急性・慢性副鼻腔炎、アレ

ルギー性鼻副鼻腔炎に対する保存的治療として、最もしばしば用いられている治療の一つである。しかし、臨床的に広く用いられてい

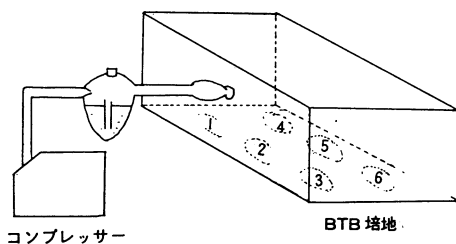
る割には、その有効性について懐疑的な意見も少なくない<sup>1)</sup>。今回、我々は、単純化されたエアロゾル実験装置を用いて、次の3項目について実験を試み、最小発育阻止濃度と噴霧した抗生物質の濃度との間の関係について検討を行った。

- A) 生食水を噴霧した場合、空気中の雑菌はどの程度混入するか。
- B) 噴霧液中に細菌が浮遊している場合、細菌は培地上にどのように分布するか。
- C) 細菌浮遊液を噴霧した後、種々な濃度の抗生物質を噴霧した場合、どのくらいの濃度で細菌の発育が抑制されるか。

### 方 法

実験装置のシェーマを図1に示した。コンプレッサーは、日立 TYPE EFOU-KT (排気量12 l/min, 最大4気圧)を用い、ジェット型ネブライザーに接続した。容器は、大きさ32×24×21cmのプラスチック容器で、その中にBTB培地を6枚ないし8枚並べた。消毒は、ネブライザーをオートクレーブで、容器をエチレンオキサイドガスで行った。噴霧液は、それぞれ、A) 生食水2 ml, B) 大腸菌(K-12 J C 1569株) 2 ml (濃度 $10^3 \sim 10^4$  個/ml), C) 種々の濃度の抗生物質(シソマイシン, SISO) の溶液2 mlとした。大腸菌は、信州大学医学部細菌学教室より提供を受けた。これらの噴霧液を、約5分間かけて噴霧し、25分間静置した。その後、培地を37℃で48時間培養し、菌の同定又はコロニー数を算定した。C) については、大腸菌浮遊液を

図1 実験装置



噴霧し、静置した後、No 5~8を容器より取り出し、コントロールとし、No 1~4に抗生物質を噴霧した。

又、寒天平板稀釈法(菌液 $10^6, 10^8$  個/ml)による、大腸菌に対するSISOの最小発育阻止濃度を測定した。

### 結 果

A) 生食水2 mlを噴霧した場合の結果を表1に示した。1から6の番号は培地の置き場所を示している。容器外に置いた培地には空気中の落下菌が少数認められたが、容器内の細菌はゼロであった。落下菌の種類は、Staphylococcus epidermidis, Micrococcus, Penicillium, Corynebacterium, であった。

表1 生食水2 ml噴霧時の細菌数

	1	2	3	4	5	6
落下菌	0	0	1	3	0	0
容器内	0	0	0	0	0	0
落下菌	1	0	0	0	0	0
容器内	0	0	0	0	0	0

B) 大腸菌浮遊液2 mlを噴霧した場合の結果を表2に示した。培地上に発育する細菌数の平均値は、1回目315個、2回目167個、3回目255個と異なっているが、それぞれの実験では、一枚の培地の上の細菌数はほぼ等しく、ネブライザーによって噴霧された細菌は、容器内で、ほぼ均等に分布した。

表2

	1	2	3	4	5	6
菌数	312	274	310	335	333	330
	152	166	169	163	180	177
	267	228	246	267	260	263

E. coli 2 ml ( $10^3 \sim 10^4$  個/ml) 噴霧時の細菌数、No 1~6は培地の場所を示しており、3回の実験を行なった。

C) 大腸菌浮遊液 2 ml を噴霧して、25 分間静置した後、No 5～8 をコントロールとし、No 1～4 に、種々の濃度の SISO (力価 50 mg/ml) を噴霧した場合の細菌数を表 3 に示した。抗生剤の稀釈濃度が 100 倍以下では菌の発育が完全に抑制されているが、100 倍以上の稀釈では、菌の発育を抑制することができなかった。500 倍の稀釈では、菌の発育が部分的に抑制された。この濃度で、発育したコロニーは、数が少ないばかりでなく、ひとつひとつのコロニーの大きさも対照群に比して小さかった。

表 3

希釈培養 No.	Sisomicin 2ml (50 mg/ml)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
×1		0	0	0	90	120	126	
×10		0	0	0	164	162	141	
×100	0	0	0	0	303	293	303	262
×500	20	48	51	24	151	170	134	161
×1000	168	204	272	248	331	364	297	297
×5000	396	466	431	467	420	393	401	458
×10000	120	130	143	102	97	130	104	114

*E. coli* (K-12 JC 1569): M. I. C. 0.39 µg/ml

*E. coli* 噴霧後にシソマイシンを噴霧した時の細菌数、NO 1～8 は培地の場所を示している。

寒天平板稀釈法によって測定した、大腸菌に対する SISO の最小発育阻止濃度は、菌液  $10^6$  個/ml、 $10^8$  個/ml のいずれの場合も  $0.39 \mu\text{g}/\text{ml}$  であった。

噴霧法に於る阻止濃度を 500 倍稀釈とした場合、 $1 \text{ mm}^2$  あたりの SISO の濃度は  $0.0049 \mu\text{g}/\text{mm}^2$  であった。寒天平板稀釈法の場合、 $1 \text{ mm}^2$  あたりの SISO の濃度は  $0.0014 \mu\text{g}/\text{mm}^2$  であった。噴霧法は寒天平板稀釈法の 3.5 倍の阻止濃度を示した。

### 考 按

現在、一般耳鼻咽喉科外来で副鼻腔炎の治療用に用いられているネブライザー装置の多くは、コンプレッサーから発生する圧縮空気を利用しているが、コンプレッサーと nose

piece の間には細菌フィルターなどの機構はなく、空気中の雑菌やコンプレッサー内の雑菌を鼻腔内に送り込む危険性が予想される。Banovetz は、実際問題としては吸入療法に用いられる水分中へ細菌が混入するのは避けられないことであるが、嚴重な室内清掃と器具の消毒により、混入を最小限におさえることができるとしている<sup>2)</sup>。今回の実験 A) で、細菌フィルターを通さない通常の空気<sup>2)</sup>で生食水を噴霧しても、容器内の細菌数は、理由は明らかでないが、空気中の落下菌数よりも少なかった。気流の少ない清潔な室内で、きちんと器具を消毒して噴霧を行えば、細菌フィルターがなくても、細菌の混入を心配する必要はなさそうである。

噴霧に用いられる抗生剤の種類、1 回投与量、濃度については、現在のところ、統一見解がなく、施設によってかなりのばらつきがある。アミノ配糖体系抗生剤を 0.5～5% の濃度で、1 回 1 ml 程度使う場合が多いようである<sup>3) 7)</sup>。その根拠として、アミノ配糖体系抗生剤の利点については馬場<sup>4)</sup>の報告があり、薬剤濃度の安全域に関しては齊藤の報告がある<sup>5)</sup>が、1 回の投与量に関しては科学的な根拠を与える報告は少ない。R I シンチを用いて研究した月山<sup>8)</sup>によれば、上手に噴霧を行っても薬液の 2～3% が上顎洞と篩骨洞の一部に流入するだけであり、噴霧のやり方を十分理解せずに行なった場合は、咽頭後壁から喉頭、下気道に分布してしまうとされており、副鼻腔炎に対する噴霧治療の 1 回投与量の決め方はむずかしい。

噴霧療法には、薬剤が副鼻腔に到達することが不確実で、副鼻腔自然孔の開存状態に大きく影響されるという欠点がある。馬場<sup>4)</sup>は術前に DKB 10mg～20mg (1ml) を噴霧した後、手術によって摘出された上顎洞粘膜の薬剤濃度は  $0.008 \sim 0.0017 \mu\text{g}/\text{g}$  で、最小発育阻止濃度からみて、上顎洞に到達したと思われる量

はととも治療量とは考え難いと述べており、また今野<sup>6)</sup>も、そのモデル実験において、副鼻腔表面における抗生剤濃度は、鼻腔・上咽頭表面の濃度の35分の1以下であり、病原菌に対して感受性の強い薬物を用いないと最小発育阻止濃度に達し難いと述べている。副鼻腔炎に対する噴霧療法の批判の論拠と思われる。又、副鼻腔自然孔の開存状態に影響される由に、多くの報告者が、噴霧治療前の鼻処置、あるいは鼻内手術による自然孔拡大の重要性を強調している<sup>4), 6), 8)</sup>。

今回の実験C)では、容器内に直接抗生剤を噴霧しており、また細菌は培地の表面に存在している点など、これをそのまま、実際の臨床場面に結びつけることは困難であるが、今野<sup>6)</sup>の指摘する通り、エアロゾル療法の利点は交通路がある限り容易に空間を薬物で満たせることであり、慢性副鼻腔炎根治手術後の患者のように、広い交通路が存在している場合には、今回の実験条件と類似した場面が展開されると思われる。

実験C)によって得られた発育阻止濃度は寒天平板稀釈法に得られた値より、高い値を示していた。その理由として、1)噴霧液が容器に到達するまでに水滴となる場合がある。2)噴霧液が容器の側壁、上壁に付着する場合がある、3)25分間静置しても、噴霧液が空中に浮遊している場合がある、4)噴霧後、ネブライザー容器に残存がある、があげられる。

以上のことから、噴霧療法を治療法のひとつとして行う場合、鼻腔・副鼻腔の表面積をもとにして、最小発育阻止濃度の数倍ないし10数倍の量が1回投与量として必要と思われる。

## 結 論

モデル装置を試作して、ネブライザーに関する細菌学的実験を行ない、次の結果を得た。

1. エアロゾル中へ、空気中の雑菌が混入することは少ない。
2. 噴霧液中の細菌は、培地上にほぼ均等に分布する。
3. 適正な濃度の抗生物質の噴霧で菌の発育を抑制できる。
4. その濃度は、最小発育阻止濃度より高濃度であった。

本研究を行うにあたり、信州大学医学部細菌学教室寺脇良郎教授の御指導と御協力を得た。こゝに心より感謝いたします。

## 参 考 文 献

- 1) 板倉康夫：ネブライザー療法への適応と限界。耳喉，51：863～866，1979.
- 2) Banovetz, J. D. : Topical drugs-basic and applied. Otolaryngology. Vol 1, edited by Paparella, M. M. & Shumrick, D. A. (W. B. Saunders Company) : 457-466, 1973.
- 3) 馬場駿吉：慢性副鼻腔炎。臨床耳鼻咽喉科学。3巻（中外医学社）：171～224，1977.
- 4) 馬場駿吉：上気道感染症に対するエアロゾル療法の臨床的検討。耳鼻，25（補4）：605～609，1979.
- 5) 斉藤 等：鼻粘膜およびその上下層に対するエアロゾルの作用。耳鼻，25（補4）：599～604，1979.
- 6) 今野昭義：エアロゾル療法と鼻・副鼻腔のエアロダイナミクス。耳鼻，25（補4）：563～574，1979.
- 7) 佐藤良暢，他：副鼻腔炎に対するネブライザー療法の再検討——薬剤組合せの一例とその効果——。耳鼻臨，66：1139～1151，1972.
- 8) 月山昌夫：局所療法における薬剤の病巣への移行。耳展，20（補1）：24～27，1977.

---

質 問 応 答

**質問** 海野徳二（旭川医大）

噴霧後25分静置するのは何のためか。もし直後にしらべたものがあれば、その結果も教えて欲しい。

**応答** 伊藤和也（信大）

5分間ネブライザーをして、25分間静置しておる理由は、噴霧された霧状物を全部ひろうということで、信州大細菌学教室の先生よりサジェスションを受け、この方法で比較検討を行った。