

STUDIES ON FUNGI ISOLATED FROM THE FOCUS OF CHRONIC OTITIS MEDIA AND THEIR SUSCEPTIBILITIES TO ANTIFUNGAL DRUGS

Masao Sugiyama,¹⁾ Kuan Cheng Cheng,¹⁾ Kazuo Konishi,¹⁾ Haruhiko Masutani,¹⁾
Hirofumi Okada,¹⁾ Keiko Taenaka,¹⁾ Joong Saeng Cho,¹⁾ Yoshiaki Nakai,¹⁾ and Akinobu Shoji²⁾
Departments of ¹⁾Oto-Rhino-Laryngology and ²⁾Dermatology, Osaka City University Medical School

Among the patients with chronic otitis media subjected to long-term otological treatment with an antibiotic exerting a wide spectrum of antibacterial action, fungi were detected in 45% of the cases examined from the focus of chronic otitis media as microbisme substitué. The species of detected fungi were Candida and Aspergillus. As to the Candida, Candida albicans and Candida parakusei were isolated at the same frequency. Regarding Aspergillus fumigatus, terreus, flavus and niger were isolated in this order.

Some cases, where these fungi were

isolated, were suggestive that the fungi might have show the pathogenic activity.

The susceptibility test of antifungal drugs was conducted to the fungi isolated from the tympanic cavity of the patients with chronic otitis media. The result shows that Griseofulvin and Siccanin had any effect to neither Aspergillus nor Candida. Amphotericin B was effective to Candida but almost all the strains of Aspergillus showed the resistance. Many strains of both Candida and Aspergillus were susceptible to the imidazol agents but some of them were resistant to all the imidazol agents.

慢性中耳炎病巣より分離された 真菌とその薬剤感受性

大阪市大耳鼻科

杉山正夫・張寛正・小西一夫・耕谷治彦

岡田博文・妙中啓子・趙重生・中井義明

大阪市大皮膚科

庄司昭伸

協同研究者の小西が今回の本研究会において「点耳薬の種類に伴う慢性中耳炎よりの分

離菌とその薬剤感受性の変動」で示した様に、当科では8年前から本学附属病院薬局で調整

された抗菌スペクトルの広い抗生剤の点耳薬を慢性中耳炎患者に使用することによって慢性中耳炎病巣より真菌の分離される頻度が増加した。そこで、慢性中耳炎病巣における真菌の動態を知る目的で以下の研究を行った。

方法と材料

1. 対称

当科の慢性中耳炎外来に通院し、長期点耳薬を使用した49症例について真菌の分離を行った。

2. 真菌の分離と同定

上記の対称について、耳漏を滅菌線棒で採取し、一部は一般細菌検査用として本院中央検査室に提出し、残りは直ちに外来でクロマイ含有サブロー培地、ポテトデキストロースアガー培地、CT培地に植え、27℃で3～7日間培養した。外耳道と手背からの真菌分離には、鈍になったメスで外耳道、手背の皮膚を擦過し、その部位をサブロー培地で湿った綿棒で拭き、上記の真菌分離培地に植えた。

3. 真菌の抗体価測定

AspergillusとCandidaの抗体価測定にはロシユ社のAspergillus HAテスト、Candida HAテストを用いた。Aspergillus HAテストとCandida HAテストはAspergillus fumigatus, Candida albicansから抽出したポリサッカライドを被覆したホルマリン処理ヒツジ赤血球を抗原試薬とした間接赤血球凝集反応で測定する。これらは、Aspergillus fumigatus以外のAspergillus, Candida albicans以外のCandidaと交差反応するためAspergillus属、Candida属の抗体価の測定が可能である。

4. 真菌の抗真菌剤感受性テスト

サブロー寒天培地を用い、岩田らの方法¹⁾に従って寒天平板希釈法により、最小発育阻止濃度を測定した。抗真菌剤をDimethyl sulfoxide(DMSO)に溶解し、培地中DMSOの最終濃度が1%になる様に調整した。酵母様真

菌は27℃、2日間、糸状菌は27℃、5日間培養した後に測定した。

結 果

市販されている点耳薬の他に、本院薬局で調整した点耳薬(OKB, SBPC, FOM, LMOX)を長期使用した49症例、84耳中38耳(両側慢性中耳炎の時は2耳とし、また、1症例から何度も分離を試みた時は、その分離ごとに1耳と数えた)、約45%に真菌が分離された。結果的には真菌分離例は術後耳や真珠腫症例に多いという傾向があった(図1)。耳漏より分離された菌種はCandidaとAspergillusのみで、Candidaではalbicansとparakuseiが同程度、Aspergillusではfumigatusが多く分離された。上記の耳漏より真菌分離を試みた49症例中、37例については外耳道からも真菌の分離を試みた(図2)。更に、この37例中15例からは手背からも真菌の分離を試みた。37例中20例は耳漏から真菌が分離された。外耳道からは37例中12例に真菌が分離され、その内10例は耳漏と同種の真菌が分離された。1例は耳漏と異なった種の菌が分離され、残りの1例は外耳道のみ真菌が分離された。外耳道からの分離菌は耳漏からの分離菌に比べて、症例が少ないにもかかわらずCandida guilliermondii, Torulopsis glabrataなど多種の真菌が分離された。手背からは15例中1例にAspergillus fumigatusが分離され、この症例は耳漏、外耳道からもAspergillus fumigatusが分離された。

次に、耳漏から真菌が分離された症例20例について、1～2ヶ月後に2度目の真菌分離を試みた(図3)。その20例中10例に2度目も1度目に分離されたと同種の真菌が分離された。1例は2度目には異なった真菌が分離され、残り9例は2度目には真菌が分離されなかった。2度目に真菌が分離された症例と消失した症例の間で、1度目に分離された真菌の種類には差はなかった。

耳漏からCandidaあるいはAspergillus が分離された症例、各8例について血清抗体価を測定した。Aspergillusでは20倍以上、Candidaでは160倍以上が陽性で感染が疑われる。結果は表1に示す様にAspergillusでは1例(case 7), Candidaでは2例(case 1, case 5)の陽性が認められた。しかし、2度以上、同種の真菌が分離された4例は、すべて陰性であった。

次に、耳漏より分離された真菌について各種抗真菌剤の感受性検査を行った(表2)。結果、シッカニン、グリセオフルビンは、これらの真菌には無効であった。アンホテリシンBもCandidaには有効であるが、Aspergillusには無効例が多かった。イミダゾール系薬剤は、どの薬剤も有効な様であるが、症例5のAspergillus fumigatusの様に全薬剤に耐性である菌があった。また、MICが50 μ g, 25 μ gと高い菌もかなりあった。

図1 耳漏より真菌の分離を試みた症例 (84耳)

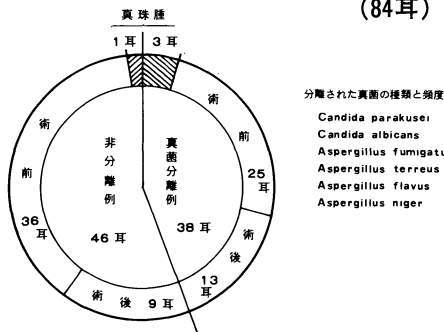


図2 外耳道より真菌の分離を試みた症例 (37例)

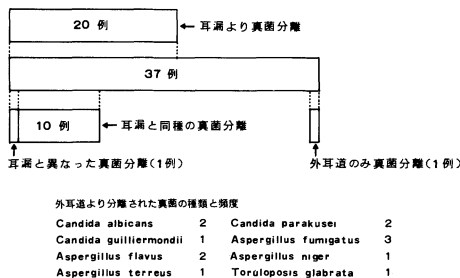


図3 真菌が検出された症例で、その後(1~2ヶ月)2度以上、真菌分離を試みた症例(20例)

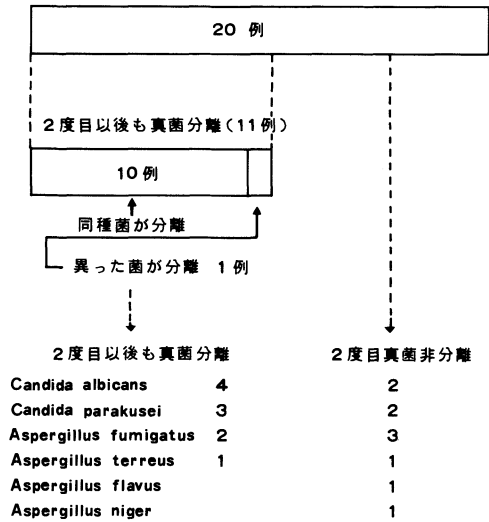


表1 中耳腔より真菌が分離された症例の血清抗体価

	抗体価	分離された菌種
Case 1	10	Aspergillus fumigatus
" ②	10	"
" 3	10以下	"
" 4	20	Aspergillus terreus
" 5	10	"
" ⑥	10以下	"
" 7	80	Aspergillus flavus
" 8	10	"
Case 1	320	Candida albicans
" ②	20	"
" 3	20	"
" ④	20	"
" 5	320	Candida parakusei
" 6	160	"
" 7	160	"
" 8	20	"

○印のCaseは、2度以上同種の真菌が分離された症例

表2 中耳腔より分離された真菌の抗真菌剤に対する感受性

	シ ッ カ ニ ン	○ ア ン ホ テ リ シ ン B	○ ク リ セ オ フ ル ビ ン	○ ミ コ ナ ゾ ール	ク ロ ト リ マ ゾ ール	エ コ ナ ゾ ール	○ ケ ト コ ナ ゾ ール	7 1 0 6 7 4 - S
1 Aspergillus fumigatus	>100	1.6	>100	12.5	3.1	6.3	12.5	12.5
2 fumigatus	>100	>100	>100	50	3.1	3.1	12.5	12.5
3 fumigatus	>100	>100	>100	12.5	3.1	6.3	25	12.5
4 fumigatus	>100	>100	>100	25	6.3	6.3	50	12.5
5 fumigatus	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6 terreus	>100	>100	>100	25	1.6	3.1	12.5	12.5
7 terreus	>100	0.8	>100	3.1	6.3	6.3	6.3	50
8 terreus	>100	>100	>100	6.3	3.1	1.6	12.5	6.3
9 flavus	>100	1.6	>100	12.5	3.1	6.3	25	12.5
10 flavus	>100	100	>100	12.5	6.3	25	50	>100
1 Candida albicans	>100	12.5	>100	12.5	6.3	25	50	>100
2 albicans	>100	6.3	>100	12.5	6.3	12.5	50	>100
3 parakusei	>100	12.5	>100	6.3	6.3	12.5	50	50
4 parakusei	>100	12.5	>100	12.5	3.1	25	50	50

○は全身投与が可能な薬剤

考 察

耳漏からの真菌分離は抗菌スペクトルの広い抗生剤を長期点耳したための菌交代現象と考えるべきである。真菌が中耳腔へ侵入する可能性としては(i)外耳道に存在していた真菌が中耳腔に入る。(ii)口腔、鼻腔の真菌が耳管を通して入る。(iii)処置中の医療器具,その他からの挿入などが考えられる。一般に外耳道にはアポクリン腺からの分泌物のため酸性度が強く、菌が定着しにくいと言われている²⁾。しかし、慢性中耳炎では炎症性分泌物のためアルカリ性に傾き、自浄作用が消失して真菌が付きやすいと考えられる。そのためか、この研究では外耳道からは37例中12例(32%)とかなりの高率で真菌が分離された。この12例中10例は耳漏と外耳道からの分離真菌は同種であった。このような場合は抗生剤点耳のため中耳腔の細菌が消失し、外耳道に存在していた真菌を中耳腔に進入させたか、逆に、耳管

を通して口腔、咽頭、鼻腔に存在する真菌が中耳に侵入し、更に、中耳腔から外耳へ現われたのでないかと考えられる。

次に、真菌の病原性について考える。耳漏より真菌が分離された20例について、1~2ヶ月後に2度目の真菌分離を試みたが、10例に2度目も同種の真菌が分離された。その内、2例は、更に1~2ヶ月後に3度目の分離を試み同種の真菌が分離された。このような症例では、真菌が中耳腔で病原性を発揮して定着しているのではないかと考えられる。全例に直接検鏡を行っていないので病巣での真菌の状態を知ることは出来ないが、6例の直接検鏡を行った材料では菌糸が認められた標本があって、中耳腔で真菌が病原性を発揮している症例があることが推察される。しかし、血清抗体価の測定では、耳漏から真菌が2度以上分離された症例は、すべて陰性であった。これらのことから考えて、真菌の中耳腔のみでの感染では全身的な抗体価の上昇は必ずしも起らないのではないかと考えられる。

次に、耳漏より分離された真菌の感受性検査ではイミダゾール系薬剤がCandidaとAspergillus共に有効例が多かった。しかし、この研究における耳漏から分離された真菌の薬剤感受性は、報告されている他病巣から分離された真菌の薬剤感受性に比べて悪い。この点について、更に例数を増して検討したい。

これら真菌の治療には分離菌に感受性の高いイミダゾール系薬剤を用いるのが有効であると考えられる。イミダゾール系抗真菌剤は水に溶解しないので(ケトコナゾールのみ内服可能)。現在、外用のクリームを使用している(軟膏基材に均等に溶解しないので軟膏は少ない)。問題は真菌と耐性細菌との混合感染の場合であるが、古内は細菌と真菌(特にCandida)との混合感染による外耳道炎の治療としては、まず、真菌の駆除を優先させるべきで、細菌に有効な抗生剤を使用し続けると深在性真菌症

へ発展することがありうると報告している。それ故に、まず、真菌に有効な薬剤を局所で使い、経口で細菌に有効な薬剤を使用し、真菌が消失した所で細菌が残っておれば、細菌に有効な点耳薬を使用するのも、1つの方法と考えられる。また、これら抗真菌剤の中耳で⁶⁾の使用が聴覚器に及ぼす影響についての報告は非常に少なく、更に検討することが多い。

ま と め

1. 慢性中耳炎患者に抗菌スペクトルの広い抗生剤の点耳を長期使用した症例では、菌交代現象として中耳腔から真菌、主にCandida, Aspergillus が検出される症例が比較的多い。
2. これらの症例の中には、真菌が病原性を発揮していると考えられる症例があった。
3. 今回、中耳腔より分離された真菌の抗真菌剤に対する感受性は、他病巣から分離された真菌についての従来からの報告に比べて、悪かった。特にイミダゾール系薬剤以外の薬剤について、その傾向が著しい。

参 考 文 献

- 1) 岩田和夫, 内田勝久: Isoconazole の抗

真菌作用に関する研究(第1報)試験管内抗菌活性: Chemotherapy 29, 10, 1149~1153, 1981.

- 2) 富沢尊儀: 外耳道真菌症, 臨床医, 4, 2, 76~79, 1978.
- 3) Heel, R.C., Brogden, R.N., Carmine, A., Morley, P.A., Speight, T.M. and Avery, G.S., Ketoconazole: A review of its therapeutic efficacy in superficial and systemic fungal infections. Drug 23, 1-36, 1982. ADIS Press Australasia Pty Ltd.
- 4) 田中依子: Ketoconazoleについて, 治療学, 8, 1, 136~140, 1982.
- 5) 古内一郎, 馬場由子: 細菌と真菌との混合感染について, 外耳道真菌症を中心に, 耳鼻咽喉科, 51, 10, 881~885, 1979.
- 6) 小林勝, 日比野豊, 桑波田十九男, 富山嘉六: Econazole nitrite の聴覚器に及ぼす影響, 医薬品研究, 10, 2, 316~323, 1979.

質 疑 応 答

質問 古内一郎(独協医大)

血中抗体価の測定をおこなっているか、その検査法および使用抗原について。

最近副鼻腔Aspergillus症の報告が多くなった。その感染原を検査するために患者の自宅の5ヶ所(台所, 浴室, 寝室など)における真菌培養をおこなってみた。その結果、高率に同種のAspergillus が検出同定された。これは室内感染を示すものと考えられる。

先生の今日の報告で2回から3回同種のAspergillusが検出された例は、かかる機序によるものではないでしょうか。

応答 杉山正夫(大阪市大)

AspergillusとCandida の血清抗体価の測

定は、ロシユのAspergillus HAテスト, Candida HA テストというKitを用いました。原理は間接赤血球凝集反応です。

先生、御指摘の様に真菌が室内感染したり、真菌を処置中に医療器具、その他から挿入させることも充分あり得ると考えられますが、我々は患者の自宅や医療器具からの真菌の検出同定を行っていないので、確かなことは何も言えません。しかし、耳漏や中耳腔の擦過材料を直接検鏡すると菌糸が認められる例があり、この様な症例では真菌が中耳腔に長く定着し、病原性を発揮しており、その結果、2回、3回と検出されるのでないかと考えています。