

A STUDY OF CANDIDA ISOLATED FROM ORAL CAVITY

Mayumi Okada, Nobuyuki Murai, Youko Kumagai, Tadao Asai
Yoshiko Mori, Ichiro Furuuchi and Yoshiyasu Kiya *

Department of Otolaryngology, Dokkyo University School of Medicine.

* Laboratory of Clinical Research Center, Dokkyo University School of Medicine.

In this study, we reported the results of the culture of *Candida* sp. isolated from the oral cavity in three groups of the subject. A total of 58 cases was used in this study. The first group consisted of 21 cases of the patients of malignant head and neck tumors. The second group consisted of 24 cases of the outpatients treated by nasal and/or oral nebulization which contained antibiotics and steroid hormon. The third one was a control group which consisted of 13 normal persons.

At first, the materials taken from the oral cavity was cultured to detect the fungi used by Sabouraud's glucose agar medium. After that, *Candida* sp. was tried to isolate from this fungi culture utilizing *Candida* GS medium. in order to investigate the sensitivity of isolated *Candida* sp. against the antifungal agents, minimum inhibitory concentration of Amphotericin B against these *Candida* sp. was examined.

The results were as follows;

- 1) The detection rate of fungi was 85.7% in the malignant tumor group, was

58.3% in the outpatients group and was 23.1% in the control group. The detection rate was the highest in the malignant tumor group and was the lowest in the control group.

- 2) The species of detected fungi were *Candida albicans* A, *Candida tropicalis*, *Alternaria* and *Penicillium*. The most frequently cultured fungus was *Candida albicans* A in all three groups.
- 3) The minimum inhibitory concentration of Amphotericin B against *Candida* sp. was 50 $\mu\text{g/ml}$ in the malignant tumor group and in the outpatients group. In contrast to this, it was 5 $\mu\text{g/ml}$ in the control group.

Therefore, *Candida* sp. in the malignant tumor group and outpatients group were more resistant against Amphotericin B probably due to the immunological impairment and long-term use of antibiotics against the bacteriae.

口腔内分離カンジダについて

獨協医科大学耳鼻咽喉科学教室

岡田 真由美・村井 信之・熊谷 陽子

浅井 忠雄・森 朗子・古内 一郎

獨協医科大学共同研究室

木谷 孔保

はじめに

口腔内にはカンジダが常在し、宿主の抵抗性の減弱、例えば免疫能の低下や抗生物質などの投与によって、カンジダ症を発症しやすくなる事は周知の事実である。今回我々は、頭頸部悪性腫瘍患者と、一般外来患者で口腔・鼻腔にステロイド剤と抗生物質の吸入を行なっている者、更に正常者の3群を対象として、口腔内真菌の検索を行なった。また分離されたカンジダの株を用いてin vitroにおける抗真菌剤の抑制効果を検討したのでこれを報告する。

対象

S59年8月からS60年9月までの14ヶ月間に以下の3群から口腔内真菌の検出を試みた。

- ①当科入院中の頭頸部悪性腫瘍患者21名(以下悪性腫瘍患者群と略す)
- ②当科においてステロイド剤と抗生物質の混合液の吸入を行なっている一般外来患者24名(以後外来患者群と略す)
- ③正常者13名

方法

Fig. 1に今回の真菌培養方法を示した。まず、口腔内、主に舌根・舌背部から滅菌綿棒で採取された白苔などを、サブロー寒天培地及びポテトグルコース培地に塗抹し分離培養した。更にカンジダG S培地ににて純培養した株を、カンジダ同定用因子抗体セット(ヤト

ロン社)で血清学的に同定した。

次に分離カンジダ株のin vitroにおける抗真菌剤の効果(MIC)を検討した。これに使用した株は、悪性腫瘍患者群では10株を、外来患者群では9株を、正常者では3株を無作為に選んだ。

抗真菌剤は、培地への溶解性を考慮してAmphotericin B(Fungizone)の溶液製剤を用いた。これには直径9cmのシャーレを使用し、Amphotericin Bのそれぞれの希釈液2mlをカンジダG S培地18mlに、培地温度が46℃の時に混ぜ、500, 250, 100, 50, 25, 10, 5, 1, 0.5, 0.1 μ g/mlの濃度の培地を作成した。

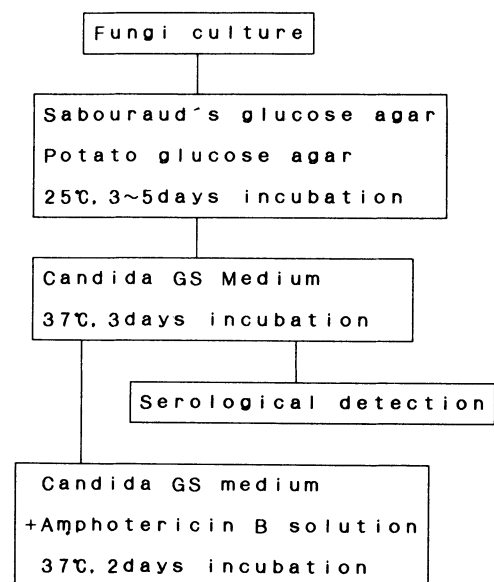


Fig. 1 Detection method

培地には細菌の増殖を防ぐ為 1 l 当たりペニシリン G20万単位, 硫酸ストレプトマイシン 1 g を混入した。判定は37°C, 48時間培養後に行なった。

| | Patients of malignant tumor (n=21) | Outpatients (n=24) | Normal persons (n=13) |
|---|------------------------------------|--------------------|-----------------------|
| Total detection rates of fungi | 18cases 85.7% | 14cases 58.3% | 3cases 23.1% |
| Detection rates of each isolated fungus | | | |
| Candida albicans A | 14cases 77.8% | 8cases 57.1% | 3cases 100% |
| Candida albicans A | | 1 | |
| Candida tropicalis | 0 | 7.1% | 0 |
| Candida albicans A | | 1 | |
| Alternaria | 0 | 7.1% | 0 |
| Candida tropicalis | 4 22.2% | 3 21.4% | 0 |
| Penicillium | | 1 | |
| Alternaria | 0 | 7.1% | 0 |

Table 1 Detection rates of fungi

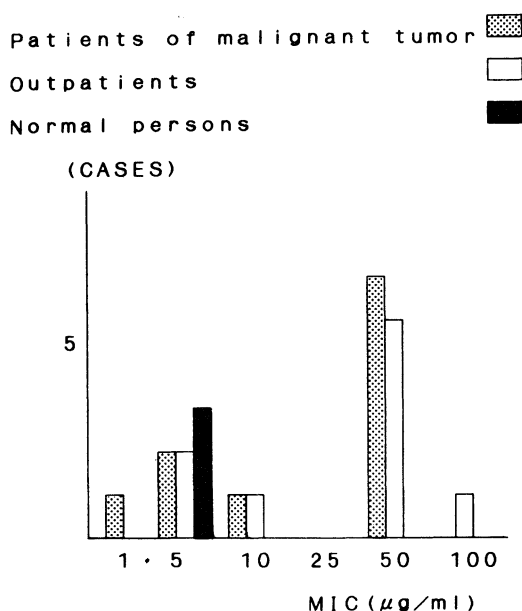


Fig 2 MIC of Amphotericin B against isolated Candida sp.

結 果

今回の検討で培養された真菌の結果をTable 1 に示した。口腔内真菌の検出率は悪性腫瘍患者群では21名中18名 (85.7%), 外来患者群では24名中14名 (58.3%), 正常者では13名中

3名 (23.1%) であった。分離された真菌は Candida albicans A が大部分で, その検出率は悪性腫瘍患者群では77.8%, 外来患者群では57.1%(同時にCandida tropicalis, Alternaria を検出した例も含めると77.3%) であった。低率ではあるが, Penicillium も検出された。正常者では全例に Candida albicans A が検出された。

次に, 分離されたカンジダ株を用いてAmphotericin B に対する最小発育阻止濃度(MIC) を比較した(Fig 2)。悪性腫瘍患者群及び外来患者群から検出された菌株は, 培地中のAmphotericin B濃度が50µg/ml で抑制される傾向にあり, 正常者は3名とも5µg/ml で抑制された。

考 察

カンジダは口腔内常在菌として認められているが, 多くの報告では, その検出率は30~50%とされており, 高いものとは言えない。浅香は, その詳細な実験報告で, 健康者口腔内からのカンジダの検出率は31.8%であり, 口腔内正常菌叢中他の常在菌に比べ, わずかな存在である, と述べている。しかし, 検出する方法, 部位によって検出率はかなり違いを示すようである。

ところで, 宿主と菌との相互関係でも, カンジダを含む菌叢の変動がみられる。その内的誘因としては血液疾患・糖尿病・悪性腫瘍・結核・免疫不全・内分泌異常などの疾患が, 外的誘因としては抗生物質を含む化学療法・副腎皮質ホルモン剤等の投与・放射線照射などがあげられる。

今回の我々の検討では, 内的・外的の両方の誘因を持ち合わせた悪性腫瘍患者群と, 外的誘因をもつ抗生物質とステロイド剤混合液の吸入を行なっている外来患者群を対象として正常者との比較を行なった。

正常者の真菌の検出率は, 既に報告されている数値と同様の結果であった。それに比べ外来患者群での検出率は比較的高いものであ

り悪性腫瘍患者群は更に高い値を示した。

また、口腔内から検出される真菌はCandida albicans A が圧倒的に多く、その検出率は60~90%としている報告が多いが、我々の結果もこれと一致するものであった。^{1),3),5)}

次に、Amphotericin Bに対するMICの成績だが、悪性腫瘍患者群と一般外来患者群では正常者より高い濃度で抑制された結果となった。この事から、正常者より抵抗力が減弱し口腔内常在菌叢が変化したと思われる患者から採取した株の方が抗真菌剤に対し抵抗力が強い事が推測された。しかし、今回は正常者の対象が少なく経時的な観察も行っていない為、今後更に検討を加えてみる予定である。

ま と め

悪性腫瘍患者、外来患者、正常者の3群の口腔内真菌の分離、同定を行なった。更に検出されたカンジダのAmphotericin Bに対するMICについて検討した。

その結果、悪性腫瘍患者群、外来患者群では正常者に比べ、カンジダの検出率が高く、Amphotericin B に対するMICも高濃度であった。

参 考 文 献

- 1) 成田令博：口腔内における真菌の動態とその意義。口科誌20：246~251, 1971.
- 2) 岩井芳郎, 島田早苗：耳鼻科疾患におけるカンジダ検出と菌要素について。日耳鼻感染症研究会誌2：146~149, 1984.
- 3) Rodu, B., Griffin, I.L. and Gockerman, J. P.: Oral candidiasis in cancer patients. Southern Med. J. 77:312~314, 1984.
- 4) 浅香次夫：口腔内Candidaの生態学的研究。口衛誌21：90~104, 1971.
- 5) 成田令博, 国本法雄：齶歯における真菌の存在意義について。口科誌19：463~466, 1970.