

## SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATION OF BIOFILM ON THE VENTILATING TUBE TAKEN FROM THE TYMPANIC MEMBRANE

Masashi Ozeki, Isamu Tanaka, Souichiro Nagata, Naoya Miyamoto, Shinichiro Yamamoto, Takehiro Kobayashi, Shunkichi Baba

(Department of Otorhinolaryngology, Nagoya City University Medical School)

Using SEM, We observed the ventilating tube of tympanic membrane taken from the infected ears of the patients with OME in two cases. The bacterial biofilms

were found out on them. We consider that the bacterial biofilm on the ventilating tube of tympanic membrane causes repeated and extended bacterial infection.

### 鼓膜換気チューブに形成されたbiofilmの電顕的観察

小 関 晶 嗣 田 中 伊 佐 武 永 田 総 一 郎  
宮 本 直 哉 山 本 真 一 郎 小 林 武 弘 馬 場 駿 吉

名古屋市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

#### 緒 言

臨床の場においてしばしば抗生剤が十分な除菌効果を発揮し得ず感染が反復，遷延することを経験する。耳鼻咽喉科領域においても，滲出性中耳炎の治療に鼓膜換気チューブを使用した症例で細菌感染を繰り返すことが問題になっている。今回このような症例より摘出した換気チューブを走査電子顕微鏡を用いて観察したので報告する。

#### [症例および抜去換気チューブの走査電子顕微鏡所見]

##### 症例 1

5歳 女児 平成元年12月，難聴にて近医耳鼻咽喉科受診。紹介にて平成2年3月20日名古屋市立大学耳鼻咽喉科受診。平成3年5月26日咽頭扁桃切除術，口蓋扁桃摘出術，鼓膜換気チューブ（パパレラ type 2）留置術施行。

平成3年8月30日頃より右チューブ周囲に軽度の湿潤及び痂皮形成するも経過観察。平成4年2月2日右側鼓膜に発赤，腫脹出現。粘膿性分泌液が認められ細菌検査にて *S.aureus* 検出。OFLX 点耳を週間継続するも改善せずチューブを摘出抜去した。その鼓膜換気チューブ表面の走査型電子顕微鏡写真を Fig. 1 に示す。

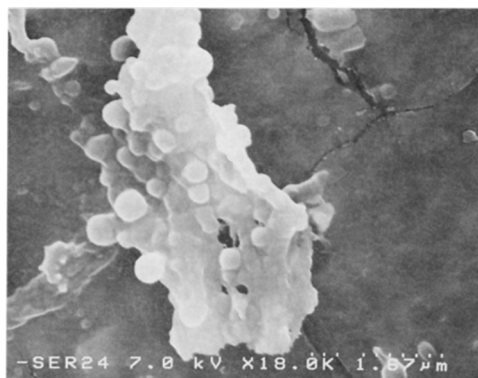


Fig. 1 鼓膜換気チューブ表面のバイオフィーム

チューブ表面には菌体の外側に biofilm を形成した *S.aureus* の付着が認められる。その主成分は glycoalyx と考えられる。

(×18.0K)

症例 2

67歳 女性 平成3年10月18日朝より難聴、耳鳴、出現。豊橋市民病院咽喉科受診。滲出性中耳炎と診断され、同日エラスターチューブの挿入を施行。平成3年11月26日チューブが痂皮により塞栓したため抜去。平成3年12月10日右側耳閉感再度出現、同日鼓膜換気チューブ（バパレラ type 2）留置術施行。平成4年3月26日チューブの周囲に粘膿性分泌液が認められ、細菌検査にて *S.aureus* を検出。周囲に痂皮付着するも少量のため経過観察した。

平成4年5月22日チューブ周囲に肉芽出現。その後感染が増悪したと考えられるためチューブを摘出抜去した。鼓膜換気チューブの電子顕微鏡写真を Fig. 2, Fig. 3 に示す。症例1同様にチューブ表面上に biofilm を形成した *S.aureus* が認められる。

(×3.0k), (×8.0k)

考 察

biofilmの研究の歴史は、1981年 Costerton<sup>1)</sup> が栄養の乏しい流水中のパイプ内面、岩石などの表面に *Pseudomonas* 属が固着、増殖して biofilm を形成しているのを報告したのが始まりと言われている。菌体表面からは、Costerton が glycoalyx と称す exopolysaccharide が分泌され、菌はそれに包まれ異物表面に付着する。さらにその近隣にも同じ菌が集簇 microcolonies を形成し、これが発達し強固な glycoalyx-biofilm を形成することになる。臨床においても、同様に細菌が上皮や medical device などに付着した場合、菌体表面やその周囲に glycoalyx を産生し多数の菌体が一塊となり biofilm を形成すると言われている。biofilm を形成することにより菌

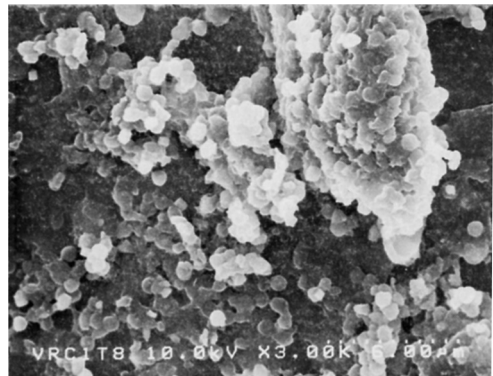


Fig. 2 バイオフィルムを形成した *S.aureus*

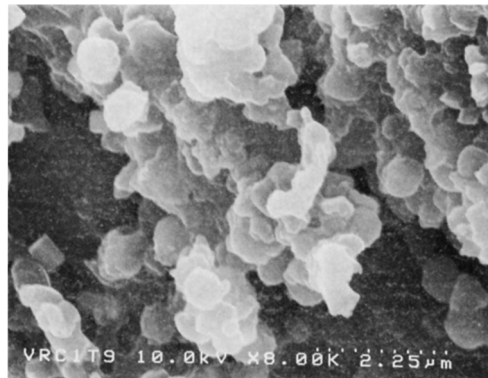


Fig. 3 菌体表面の glycoalyx

体自体の活性も低下するが抗菌剤の移行が低下し、in vitro とは異なり biofilm にフィブリン、血小板、細胞結合蛋白が付着しさらにその結合性が強固になる。そしてこのように、生体由来の物質が biofilm に混在すると、表面における抗原認識の低下が起これ、生体防御機構が十分に発揮し得なくなると、感染の反復、遷延化がおこると考えられる<sup>2)3)4)</sup>。また biofilm による感染が悪化する一つの理由として免疫複合体や補体の作用による組織障害も考えられている。

例えば泌尿器科領域における尿路カテーテルによる感染や整形外科領域における人工骨頭等の生体材料による感染<sup>5)</sup>、呼吸器内科領域における慢性細気管支炎<sup>6)</sup>などは、生体内に留置された medical device または生体内そのものに、細菌が形成した biofilm が定着

固定していることが感染の遷延、反復の原因となっていると推定される。

今回、報告した症例においても軽度の痂皮や分泌物が長期間持続し抗菌剤を投与するも治癒させ得なかった一つの理由として biofilm が関与しているのではないかと推定された。またその他10例の症例においても走査電子顕微鏡において biofilm の形成が認められた。

したがって鼓膜換気チューブ留置術施行後の感染耳の治療には biofilm の存在を念頭におかなければならないと思われる。

#### ま と め

1. 鼓膜換気チューブ留置術施行後、感染を起こし、抜去したチューブ表面を走査電子顕微鏡により観察した。
2. 細菌が biofilm によりコロニーを形成し鼓膜換気チューブ表面に付着している所見が観察され、そのため難治な病態をひきおこしていたと考えられる。

#### 文 献

- 1) Costerton J. W. & Cheng K. J. : The bacterial glycocalyx in Nature and Disease. Ann. Rev. Microbiol. 35 : 299-324, 1981.
- 2) Peter G., et al. : J. Infect. Dis. : 146, 479, 1982.
- 3) Verginia E. M., et al : J. Antimicrob. Chemoth. : 23, 577, 1989.
- 4) 大垣宣隆 : Biofilm. 検査と技術 : .18, .12, 1990,11.
- 5) Buxton, T. B., et al. : In vivo glycocalyx expression by *Staphylococcus aureus* Phage Type 52/52 A/80 in *S.aureus* osteomyelitis. J. Infect. Dis : 156 ( 6 ), 1987
- 6) 小林宏行 : 細菌と宿主の interaction. 呼吸 : 9 ( 5 ), 510-521, 1990.