BACTERIOLOGICAL STUDY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATED FROM THE OTORRHEA IN THE CASES OF OTITIS MEDIA CHRONICA

Yoshihiro Koseki, Toshiaki O-Uchi, Youko Kumagai, Hitoshi Shimada, Tsuneo Inoue, Hiroki Itoh, Yoshie Chika, Harunori Goto* and Yasuo Tanaka

Department of Otolaryngology, Dokkyo University School of Medicine, Koshigaya Hospital

* Department of Otolaryngology, Dokkyo University School of Medicine

In order to investigate the recent trend of organism isolated from the otorrhea in the cases of otitis media chronica, we analyzed the results of aerobic cultures in 125 ears, especially focused on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and obtained the following results.

1. The most frequently cultured bacteria was *St. aureus,* followed by *Corynebacterium sp.* and *Ps. aeruginosa*.
2. As far as the mixed culture was concerened, *St. aureus* was isolated together with *Corynebacterium sp.* in about half of the cases which showed the positive results of *St. aureus.*
3. When we analyzed the mixed culture, *Ps. aeruginosa* was isolated mostly together with other three or more species. The dominantly cultured bacteriae together with *Ps. aeruginosa* were *Providencia stuartii* and *Proteus mirabilis.*
4. The most susceptive antibiotics against *St. aureus* and *Ps. aeruginosa* were Cefmetazole in the former and Piperacillin in the latter respectively.

慢性中耳炎症例の耳漏より検出される *Staphylococcus aureus* と *Pseudomonas aeruginosa* に対する細菌学的検討

獨協医科大学越谷病院耳鼻咽喉科
＊獨協医科大学耳鼻咽喉科

小関芳宏・大内利昭・熊谷陽子
島田　均・井上庸夫・伊藤博喜
近　良江・後藤治典＊・田中康夫

はじめに

慢性中耳炎症例の耳漏に対する細菌学的検討結果はこれまでにも報告されており[1)~4)]，その検出菌及び薬剤感受性には年次的変遷がみられる。

今回我々は，近年における検出菌及び薬剤感受性の変遷を知る目的で，特に頻度が高いと思われた*St. aureus*及び*Ps. aeruginosa*の両者を中心に検索し検討を加えたので報告する。

対象および方法

対象：昭和59年7月より61年7月迄の2年1ヶ月間に，当科外来で耳漏がみられ，かつ細菌検査を施行した慢性中耳炎91耳（術前78耳，術後13耳）及び真珠腫性中耳炎34耳（術前22耳，術後12耳）の計125耳を対象とした。

方法：TRANSWAB (Medical Wire& Equipment社製）にて直接耳漏を採取し，これを当院臨床検査室で37℃，24時間ないし48時間の好気性培養を行った。使用した培地はTable 1に示す通りである。また，薬剤感受性はTable 2で示した薬剤を使用し，1濃度ディスク法（昭和）にて4段階に判定し，卄以上を感受性有りとして%で表示した。

Aerobic Medium	Propagation Medium
Sheep Blood Agar Medium	GAM Semisolid Medium
Chocolate Agar Medium	
DHL Ager Medium	

Table 1. Culture medium used in this study.

PCG	Benzylpenicillin
MPIPC	Oxacillin
ABPC	Ampicillin
SBPC	Sulbenicillin
PIPC	Piperacillin
CEZ	Cephazolin
CMZ	Cefmetazole
CFS	Cefsulodin
GM	Gentamicin
AMK	Amikacin
TC	Tetracyclin
CLDM	Clindamycin
CL	Colistin

Table 2. Abbreviation of each antibiotics.

結果

対象とした125耳に対して231培養を施行し，このうち207培養（89.6%）に菌を検出し得た。検出菌は31種351株に及び，内訳はグラム陽性菌198株（56.4%），グラム陰性菌127株（36.2%），真菌26株（7.4%）であった。

(1)術前の慢性中耳炎及び真珠腫性中耳炎の耳漏よりの培養結果

Figure 1に，術前の慢性中耳炎及び真珠腫性中耳炎の耳漏より検出された菌の種類とその検出率，さらに単独感染及び混合感染の頻度を示した。

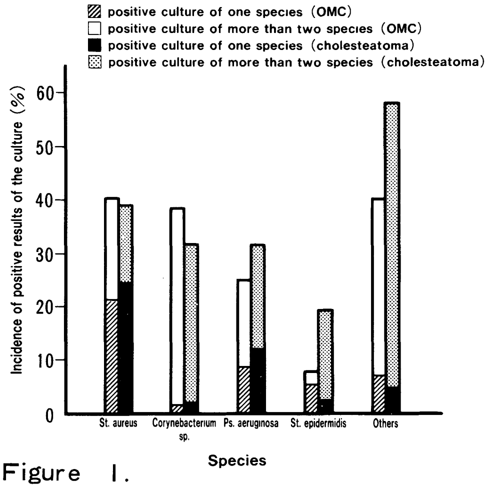

Figure 1.

Figure 1. Incidence of positive results of the culture in preoperative cases of otitis media chronica (OMC) and also cholesteatoma. The abscissa indicates the species of bacteriae and ordinate means the incidence of positive results of the culture of individual bacteriae.

慢性中耳炎症例では78耳に対し127培養を施行し，115培養(90.6%)に細菌を検出し得た。検出率は *St. aureus* 40.2%（うち単独感染21.3%），*Corynebacterium sp.* 38.6%(同1.6%)，*Ps. auruginosa* 25.2%(同8.7%)，*St. epidermidis* 7.9%(同5.5%)，その他40.2%（同7.1%)であった。

真珠腫性中耳炎症例では22耳に対し41培養を施行し，38培養(92.7%)に細菌を検出し得た。検出率は *St. aureus* 39.0%（うち単独感染24.4%)，*Corynebacterium sp.* 31.7%（同2.4%)，*Ps. aeruginosa* 31.7%(同12.2%)，*St. epidermidis* 19.5%(同2.4%)，その他58.6%(同4.9%)であった。

慢性中耳炎症例と真珠腫性中耳炎症例の両者を比較すると，主な検出菌の検出順位に差はみられなかったが，真珠腫性中耳炎の場合には，*Ps. aeruginosa,*　*St. epidermidis* 及びその他の菌の検出頻度が高く，特に *St. epidermidis* とその他の菌の混合感染の頻度が高かった。また，*Corynebacterium sp.* の場合には，慢性中耳炎症例と真珠腫性中耳炎症例の両者共に，ほとんどが混合感染であった。

(2)術後の慢性中耳炎及び真珠腫性中耳炎の耳漏よりの培養結果

Figure 2 に，術後の慢性中耳炎及び真珠腫性中耳炎の耳漏よりの培養結果を示した。

術後の慢性中耳炎で耳漏がみられたのは13耳，真珠腫性中耳炎では12耳と両者共に対象耳数が少なかったので，両者を合わせて検討を行った。両者を合わせた25耳に対し63培養を施行し，54培養(85.7%)に菌を検出し得た。検出率は *Corynebacterium sp.* 25.4%（うち単独感染3.2%)，*Candida sp.* 19.0%(同17.5%)，*St. aureus* 17.5%(同6.3%)，*St. epidermidis* 14.3%(同4.8%)，*Ps. aeruginosa* 7.9%（同4.8%)，その他49.2%(同19.0%)であった。

術前の慢性中耳炎及び真珠腫性中耳炎症例と比較すると，術後症例ではほとんどの菌において検出率が低くなっているが，この中では *Candida sp.* と *Corynebacterium sp.* の検出率が高かった。ただし，*Candida sp.* 13株のうち8株(61.5%)は同一耳よりのものであった。

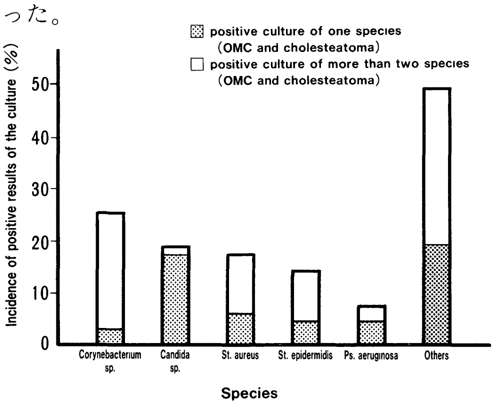

Figure 2. Summary of the incidence of positive results of the culture in post-operative cases of OMC and cholesteatoma. The meanings of abscissa and ordinate are the same as in Figure 1.

(3)術前・術後の慢性中耳炎及び真珠腫性中耳炎の耳漏よりの総合培養結果

Figure 3 に，術前・術後の慢性中耳炎及び真珠腫性中耳炎の耳漏よりの総合培養結果を示した。

前述の如く125耳に対し231培養を施行し，207培養(89.6%)に菌を検出し得た。検出率は *St. aureus* 33.8%(うち単独感染17.7%)，*Corynebacterium sp.* 33.8%(同2.2%)，*Ps. aeruginosa* 21.6%（同8.2%)，*St. epidermidis* 15.6%(同4.8%)，その他47.2%(同14.7

%)であった。検出率は，術前の培養施行例が168培養で全体の72.7%を占めたため，術前症例の結果に準じた形となった。

単独感染の相対頻度をみると，*St. aureus* では52.6%，*Corynebacterium sp.* では6.4%，*Ps. aeruginosa* では38.0%，*St. epidermidis* では30.6%，その他では31.2%であり，*St. aureus* は半数以上が単独感染菌，*Corynebacterium sp.* はほとんどが混合感染菌として検出された。

次に，*St. aureus* 及び *Ps. aeruginosa* の両者につき，さらに検討を行った。

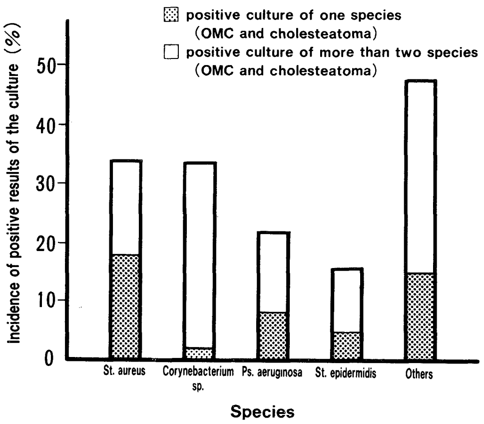

Figure 3. Summary of the incidence of positive results of the culture in preoperative and postoperative cases of OMC and cholesteatoma. The meanings of abscissa and ordinate are the same as in Figure 1.

(4) *St. aureus* の混合感染の詳細

Figure 4 に，*St. aureus* の混合感染時に同時に検出された菌の頻度を *St. aureus* を含む2種混合感染，3種混合感染，4種以上の混合感染に分けて示した。*St. aureus* の混合感染は30耳37培養にみられ，同時に検出された菌の検出率は，*Corynebacterium sp.* 64.9%(うち2種混合感染：43.2%，3種混合感染：21.6%)，*St. epidermidis* 16.2%(同：5.4%，同：10.8%)，*Ps. aeruginosa* 10.8%(同：8.1%，同：2.7%)，その他43.2%(同：5.4%，同：24.3%，4種以上の混合感染：13.5%)であった。*Corynebacterium sp.* の頻度が最も高く，特に2種混合感染の場合には43.6%と半数近くを占めた。また，4種以上の混合感染は上位3位以外の菌による混合感染であった。

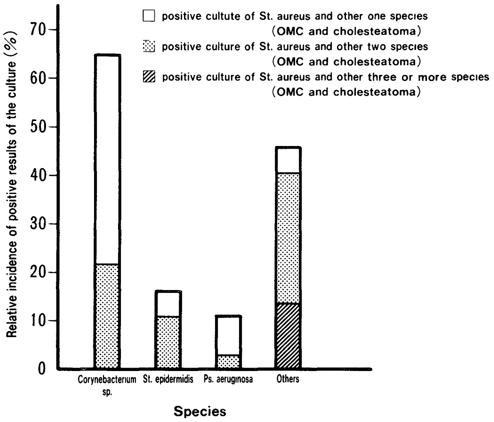

Figure 4. Relative incidence of positive results of the culture in various kinds of bacteria associated with *St. aureus*. The abcissa indicates the species of bacteriae isolated with *St. aureus* simultaneously. The ordinate means the relative incidence of positive results of the culture in these species.

(5) *Ps. aeruginosa* の混合感染の詳細

Figure 5 に，*Ps. aeruginosa* の混合感染時に同時に検出された菌の頻度をFigure 4 と同様に示した。

Ps. aeruginosa の混合感染は22耳31培養でみられ，同時に検出された菌の検出率は *Corynebacterium sp.* 58.1%(うち2種混合感染：25.8%，3種混合感染：19.4%，4種以上の混合感染：12.9%)，*Prov. stuartii* 22.6%(同：3.2%，同：9.7%，同：9.7%)，*Pr. mirabilis* 19.3%(同：3.2%，同：3.2%，同：12.9%)，その他54.8%(同：16.1%，同：12.9%，同：25.8%)であった。*Corynebacterium*

sp. の検出頻度が高かったのは *St. aureus* の混合感染の場合と同様であったが，２位が *Prov. stuartii,* ３位が *Pr. mirabilis* とグラム陰性桿菌の頻度が高く，また，４種以上の混合感染の頻度が高かった。

次に，*St. aureus* 及び *Ps. aeruginosa* に対する薬剤感受性について検討を行った。

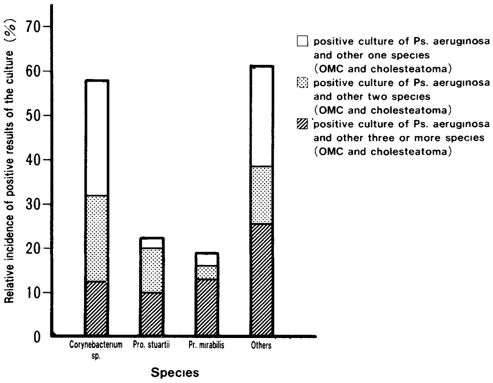

Figure 5. Relative incidence of positive results of the culture in various kinds of bacteria associated with *Ps. aeruginosa.* The abscissa indicates the species of bacteriae isolated with *Ps. aeruginosa* simultaneously. The meaning of ordinate is the same as in Figure 4.

(6) *St. aureus* の薬剤感受性

Figure 6 に，*St. aureus* の薬剤感受性を術前症例，術後症例，術前及び術後症例（総合結果）の３つに分けて示した。*St. aureus* の場合には，Figure 6 で示した9種類の薬剤に対する感受性につき検討した。

術前症例の薬剤感受性はPCG ：50.8%，MPIPC：95.0%，ABPC：83.6%，SBPC：95.1%，CEZ：96.7%，CMZ ：100%，GM：79.7%，TC：83.1%，CLDM ：90.2%であった。術後症例ではPCG ：41.7%，MPIPC：100%，ABPC ：100%，SBPC ：100%，CEZ：100%，CMZ ：100%，GM ：75.0%，TC：91.7%，CLDM ：83.3%であった。術前及び術後症例の総合結果はPCG ：49.3%，MPIPC ：95.8%，ABPC：86.3%，SBPC：95.8%，CEZ ：97.3%，CMZ ：100%，GM ：78.9%，TC：84.5%，CLDM ：89.0%であった。術前症例と術後症例を比較すると，PCG，GM，CLDM の３者で術後の薬剤感受性の低下がみられた外は他の薬剤では術後の感受性は上昇しており，特に MPIPC，ABPC，SBPC，CEZ，CMZの5者においては術後は100%を示した。術前及び術後症例の総合結果では，CMZが100%，CEZが97.3%であり，第２及び第１世代のセフェム系に対する薬剤感受性が高く，PCG,GM に対しては，それぞれ49.3%，78.9%とその感受性は低かった。

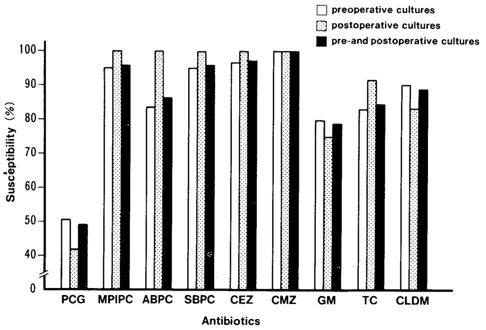

Figure 6. Susceptibility of antibiotics against *St. aureus* isolated in this study. The abscissa indicates the antibiotics and the ordinate means the susceptibility in individual antibiotics (more than ＋＋ susceptibility in standard disk diffusion method).

(7) *Ps. aeruginosa* の薬剤感受性

Figure 7 に，*Ps. aeruginosa* の薬剤感受性を Figure 6 と同様に示した。*Ps. aeruginosa* の場合には，Figure 7 で示した６種の薬剤に対する感受性につき検討した。

術前症例での薬剤感受性は，SBPC：87.8%，PIPC ：100%，CFS：95.1%，GM 92.5%，AMK 90.2%，CL ：90.0%であった。術後症

例ではSBPC：80.0%，PIPC：100%，CFS：100%, GM：100%, AMK：100%, CL：40.0%であった。術前及び術後症例の総合結果ではSBPC：87.0%，PIPC：100%，CFS：97.8%，GM：95.3%，AMK：93.2%，CL：84.4%であった。術前症例と術後症例とを比較すると，CL, SBPC の２者に対する薬剤感受性の低下が術後にみられた外は他の薬剤では術後の感受性は上昇しており，特にPIPC, CFS, GM, AMKの4者においては術後は全て100%の感受性を示した。術前及び術後症例の総合評価では，PIPCが100%，CFSが97.8%と高い薬剤感受性を示したが，これと比較するとCL, SBPC は，それぞれ84.4%，87.0%とその感受性は低かった。

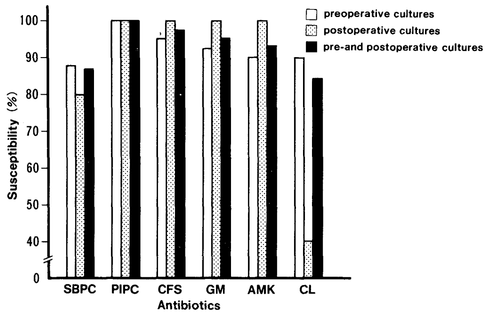

Figure 7. Susceptibility of antibiotics against *Ps. aeruginosa* isolated in this study. The meanings of abscissa and ordinate are the same as in Figure 6.

考　察

(1)検出菌の年次的推移について

Table 3に，過去の文献報告[1)~4)]と今回の検討結果とを比較した慢性中耳炎の耳漏よりの検出菌の推移を示した。今回の我々の検討では，*St. aureus* は33.8%と1977年の杉田の報告[4)]と同様に１位であったが，同時に *Corynebacterium sp.* が33.8%と１位であり，*Corynebacterium sp.* は1970年代より急速に検出率が高くなってきていると思われた。さらに，Figure 4 に示した如く，近年は *St. aureus* と *Corynebacterium sp.* との２種混合感染の頻度が高くなってきていると考えられた。

1943年の細谷らの報告[1)]では，１位を占めていた *Ps. aeruginosa* は1970年代には４位[4)]とその検出順位の低下がみられたが，今回の我々の検討では21.6%であり，その検出順位は３位であった。近年は広域抗菌スペクトラムを有する抗生剤を用いることが多く，これらに比較的感受性の低い *Ps. aeruginosa* の感染の機会がふえていると思われ，将来その検出頻度は，さらに高くなる可能性があると考えられた。

St. epidermidis は，今回の我々の検討ではその検出順位は４位(15.6%)であり，1977年の杉田の報告[4)]では２位(13%)であったが，検出率で比較すると差は無かった。*St. epidermidis* は外耳道の常在菌ともいわれており[4)]，実際に起炎菌となっている症例は，さらに少ないと考えられた。

	1	2	3	4
HOSOYA, et al (1943)	Ps. aeruginosa	St. aureus	Corynebacterium sp.	Proteus sp.
NISHIHATA, et al (1957)	Staphylococcus aureus	Proteus vulgaris	Klebsiella sp.	Ps. aeruginosa
YAMAMOTO, et al (1967)	Staphylococcus sp.	Ps. aeruginosa	Proteus sp.	Streptococcus sp.
SUGITA (1977)	St. aureus	St. epidermidis	Corynebacterium sp.	Ps. aeruginosa
KOSEKI, et al (1986)	St. aureus	Corynebacterium sp.	Ps. aeruginosa	St. epidermidis

Table 3. Comparison of bacteriae cultured from the otorrhea in otitis media chronica between in five reports.

(2)術前耳漏よりの検出菌について

術前の慢性中耳炎と真珠腫性中耳炎の検出菌の頻度を比べると，後者では *Ps. aeruginosa* 及び *St. epidermidis* とその他の菌群による混合感染の頻度が高かった。これは，後者の場合各種抗生剤を長期間使用することが多く，そのため耐性菌の出現や菌交代現象も起こり易いと考えられ，これが混合感染の頻度が

高い原因の一つと思われた。また，各対象耳に対する平均培養施行回数をみると，術前の慢性中耳炎では1.6回，術前の真珠腫性中耳炎では1.9回，術後症例では2.5回であった。さらに，*St. epidermidis* の混合感染の頻度は，各々2.4%，17.1%，9.5%であることから，培養施行回数が多くなると，外耳道の常在菌とも考えられる *St. epidermidis* が混合感染菌として検出される頻度が高くなる可能性もあると思われた。

(3)術後耳漏よりの検出菌について

術後症例においては，*Candida sp.* が19.0%と他の細菌に比し検出率が高くなっていたが，検出された13株中8株(61.5%)は同一耳よりのものであり，術後耳漏のみられたものが少なかったためこのような結果となったと考えられる。また，当科では点耳液として最近高頻度にCefamandoleを使用しているが，このCefamandole点耳により最終的に真菌症の形をとった可能性もあると思われた。また，術後症例では，ほとんどの細菌の検出率が低下しているが，これは前述した平均培養施行回数(2.5回)を考え合わせると，培養施行ごとにその検出菌がかわっていくためとも思われ，術後の複雑な菌交代現象が推測された。従って，術後に耳漏をみた場合には必要に応じ繰り返し細菌検査を施行する必要があると思われた。

(4) *Ps. aeruginosa* の混合感染について

Ps. aeruginosa の混合感染時に同時に検出された菌は，*Corynebacterium sp.*，*Prov. stuartii*，*Pr. mirabilis* の頻度が高く，しかも多種混合感染が多かったが，これも広域抗菌スペクトラムを有する抗生剤の多用の結果，このような弱毒菌であるグラム陰性桿菌の組み合せによる混合感染が増加したためと考えられた。しかし，*Corynebacterium sp.* は，外耳道の常在菌であるという報告[5]もあり，今後は，慢性中耳炎，真珠腫性中耳炎の術前・術後における外耳道常在菌に対する検討をも行う必要があると考えられた。

(5) *St. aureus* の薬剤感受性について

St. aureus の薬剤感受性をみると，CMZ, CEZの薬剤感受性は高かったが，逆にPCG, GMのそれは低かった。特に術後症例においては，その傾向がより明らかであった。

今回は，薬剤感受性の検討に際し1濃度ディスク法を用いたが，ディスク法の場合，菌量等の条件により成績が変動することが知られている。MIC法との比較検討[6]によると，PCG, ABPCにおいてはMIC法よりディスク法の方が感受性が低く表現されるか，もしくは成績にバラツキが多く，また，逆にTCにおいてはディスク法の方が高く表現され，SBPC, CEZ, GMにおいてはMIC法とディスク法で，ほぼ成績が一致していたという。以上のことを考え合わせると，*St. aureus* に対してはCMZが最も高い薬剤感受性を有すると思われ，CMZ耐性株は，まだ無視できる状態にあると考えられた。

(6) *Ps. aeruginosa* の薬剤感受性について

Ps. aeruginosa の薬剤感受性をみると，PIPC, CFSの薬剤感受性は高かったが，逆にCL，特に術後のCLのそれは低かった。上記同様，MIC法との比較検討[6]によると，SBPCにおいてはディスク法の方が感受性はやや高く表現されるが，GM, AMK においては成績にバラツキがあり，ディスク法で高く表現された例もあったという。以上のことを考え合わせると，*Ps.aeruginosa* に対してはPIPCが現在最も高い薬剤感受性を有すると思われ，SBPC, GM, AMK, CL に対しては，Figure 7で示した以上に耐性が生じてきている可能性もあると考えられた。

(7)培養陰性例について

今回は，好気性培養のみを行ったが，培養陽性率は89.6%であり，残りの10.4%からは細菌は検出されなかった。この10.4%の培養陰

性例は，いわゆる無菌性膿の形をとっており，嫌気性菌による感染であった可能性も否定できない。杉田は，慢性中耳炎耳漏よりの嫌気性菌の検出頻度は約5％と報告しており[4)]，今後は好気性菌のみではなく，嫌気性菌に対しても十分検討する必要があると思われた。

ま　と　め

慢性中耳炎及び真珠腫性中耳炎の耳漏より検出される好気性菌に関して，*St. aureus* 及び *Ps.aeruginosa* の両者を中心に検討を加え以下の結果を得た。

1.検出頻度は *St. aureus, Corynebacterium sp.*，*Ps. aeruginosa* の3者が高く，近年 *Corynebacterium sp.* の検出率が高くなってきていると思われた。

2. *St. aureus* における混合感染では，*Corynebacterium sp.* との2種混合感染が43.6％と半数近くを占めた。

3. *Ps. aeruginosa* における混合感染では，4種以上の混合感染，特に *Prov. stuartii, Pr. mirabilis* などのグラム陰性桿菌との混合感染の頻度が高かった。

4.薬剤感受性成績では，*St. aureus* に対してはCMZが，*Ps. aeruginosa* に対してはPIPCが，それぞれ最も高い薬剤感受性を示した。

文　　献

1) 細谷省吾，他：化膿性疾患の細菌叢と免疫療法。克誠堂(東京)，1943
2) 西端八郎，他：慢性中耳炎の細菌培養成績の検討。耳喉29：987－992，1957
3) 山本　馨，他：慢性中耳炎の耳漏より検出される菌の種類とその薬剤感受性。耳喉39：11－23，1967
4) 杉田麟也：慢性中耳炎の細菌学的研究。日耳鼻80：907－919，1977
5) Perry, E. T. et al : Studies on the growth of bacteria in the human ear canal . J. Invest . Dermat. 27：165－170，1956
6) 高須賀信夫，他：慢性中耳炎耳漏より分離した細菌の各種抗生物質感受性について。耳展23(補6)：13－32，1980

質　疑　応　答

質問　内藤雅夫（保健衛生大）

緑膿菌に対してPIPC の治療効果はどうでしょうか。

応答　小関芳宏（獨医大越谷病院）

実際には今迄は *Ps. aeruginosa* に対してはCFSの点耳液を使用しており，臨床例でのPIPCの効果については不明である。

質問　杉田麟也（順天堂浦安病院）

無菌性耳漏のみられた症例の内訳は？

応答　小関芳宏（獨医大越谷病院）

無菌性耳漏は，術前の慢性中耳炎で9.4％，術後の慢性中耳炎で3.2％，術前の真珠腫性中耳炎で7.3％，術後の真珠腫性中耳炎で25.0％を占めた。