

## CLINICAL SIGNIFICANCE OF ANAEROBES IN CHRONIC SINUSITIS

Keiko Ito, Yatsuji Ito, Toshimi Kojima,  
Keisuke Mizuta, Takahiro Yamada, Hideo Miyata

Department of Otorhinolaryngology, Gifu University School of Medicine

Kunitomo Watanabe, Kazue Ueno

Institute of Anaerobic Bacteriology, Gifu University School of Medicine

The importance of anaerobes in chronic sinusitis has been well recognized. Since Baba (1970) several studies were performed in Japan, but it is true that there is unnegligible discrepancy in the recovery rate of anaerobes and detailed bacteriology with the report by Brook. So, the clinical significance of anaerobes in chronic sinusitis were reevaluated by using proper cultivation technique.

Ten maxillary effusion and 14 mucous membrane specimens obtained from 15 chronic sinusitis patients were examined. The specimens were put into Kenkiporter<sup>®</sup>, immediately transported to the laboratory, and processed within one hour.

The effusion specimens were directly inoculated onto a set of aerobic and anaerobic culture media plates including several selective plates. The mucous membrane was homogenized in 2ml of enriched thioglycollate broth before plating.

From effusion specimens, anaerobic bacteria were isolated in 6 of the 8 culture-positive specimens (75%). A total of 28 bacteria, including 23 anaerobic and 5

aerobic bacteria was isolated with an average 3.5 species per specimen. The predominant anaerobic organisms were gram negative rods (52.2%) including *Prevotella* spp., *Porphyromonas* sp. and *Fusobacterium* sp..

All of the mucous membrane specimens were culture positive, and anaerobic bacteria were isolated from all specimen. A total of 53 bacteria, including 29 anaerobic and 24 aerobic bacteria, was isolated, yielding an average of 3.8 species per positive specimen (2.1 anaerobes and 1.7 aerobes). Most frequently isolates were *Propionibacterium acnes* (11 strains).

In seven cases, we examined both effusion and mucous membrane specimens. Mixed infections were found in all of mucous membrane specimens, but in 3 of 7 effusion specimens.

In this study, anaerobic bacteria were isolated with higher frequency as compared with previous Japanese studies. The significance of anaerobes in chronic sinusitis should not be underestimated.

## 慢性副鼻腔炎における嫌気性菌の臨床的意義

伊藤 敬子 伊藤 八次 小島 俊己  
水田 啓介 山田 剛寛 宮田 英雄

岐阜大学医学部耳鼻咽喉科学教室

渡辺 邦友 上野 一恵

岐阜大学医学部附属嫌気性菌実験施設

### 緒 言

慢性副鼻腔炎における嫌気性菌の関与についてはすでによく知られている。国内でも1970年の馬場<sup>1)</sup>の報告以来いくつかの研究がみられるが、それらのデータと外国での研究データの間嫌気性菌検出に関して差異が認められている<sup>1)~8)</sup>。そこで検体採取から処理までの時間の短縮と、選択培地を併用した適正な分離培養を行うなど方法に細心の注意を払って、慢性副鼻腔炎の細菌学について再検討を行った。また、上顎洞貯留液と上顎洞粘膜からの検出菌が異なるという過去の報告<sup>9)7)</sup>に基き、この点についても検討を行った。

### 対 象

1989年7月から1992年7月までに岐阜大学耳鼻咽喉科で慢性副鼻腔炎のために上顎洞・篩骨洞根本手術を施行した患者15例を対象とした。性別は男性12例、女性3例、年齢は15歳から76歳(平均42.9歳)であった。検査材料は、手術中に採取された上顎洞貯留液10検体および上顎洞粘膜14検体である。術前2日間は抗生剤投与を行わないことを原則としたが、4検体は両側例のため1回目の手術後、他側の検体採取の前日まで抗生剤投与を受けていた。

### 検査方法と観察項目

#### (1) 検査方法

手術中に採取された検体はケンキポーター(クリニカルサプライ)に入れ、ただちに検査室へ輸送した。1時間以内に培養を開始した。上顎洞粘膜は、ガラスビーズまたは組織homogenizerを用いてenriched thioglycollate broth (ETG) 2mlとともにhomogenizeした。好気培養にはBTB(Bromthymol blue)乳糖寒天培地を、CO<sub>2</sub>培養にはチョコレート寒天培地と5%ヒツジ血液寒天培地を用いた。嫌気培養には非選択培地としてBrucella HK (Hemin, Vitamin K) 血液寒天培地、選択培地としてPV (Paromomycin-Vancomycin) 加Brucella HK 血液寒天培地、PEA (Phenylethyl alcohol) 加Brucella HK 血液寒天培地、BBE (Bacteroides bile esculin) 寒天培地を用いた。好気・CO<sub>2</sub>培養は37°Cで48時間、嫌気培養はGasPak Pouch (BBL Microbiology Systems, USA) を用いて37°Cで5~7日間行った。ETG 液体培地による増菌培養も並行して行った。同定方法の詳細はすでに報告<sup>9)</sup>した通りである。

#### (2) 観察項目

上顎洞貯留液と上顎洞粘膜のそれぞれについて、菌検出率、複数菌検出例、検出菌の菌種レベルでの同定について観察した。

結 果

(1) 培養成績

菌検出の結果を検体の種類別に Table 1に

Result	Type and No. of specimens	
	Effusion	Mucosa
anaerobes only	3	3 (1)
aerobes only	2 (1)	0
anaerobes and aerobes	3	1 1 (2)
culture negative	2	0
Total	1 0 (1)	1 4 (3)

Number in parentheses indicates the number of specimens from patients who had chemotherapy till one day before operation.

Table 1 Microbiological results of specimens from maxillary sinus in chronic sinusitis

示した。まず上顎洞貯留液から得られた10検体では嫌気性菌のみの検出3検体、好気性菌のみの検出2検体、嫌気性菌と好気性菌の混合検出が3検体、培養陰性2検体であった。培養陽性8検体中6検体(75%)から嫌気性菌が分離されており、複数菌分離例は5検体であった。

一方、粘膜の14検体は貯留液とは異なり、全例培養陽性であった。嫌気性菌は100%の検体から分離され、14検体中13検体(92.9%)までが複数菌分離例であった。また、この中には貯留液の培養で陰性であった2例のうち1例の検体が含まれている。その症例の粘膜からは嫌気性菌、好気性菌がそれぞれ1菌種ずつの合計2菌種が分離された。

分離菌については、上顎洞貯留液培養陽性8検体からは合計28株が分離され、嫌気性菌が23株(82.1%)、好気性菌が5株(17.9%)であった。培養陽性1検体あたりの平均菌株数は3.5株(嫌気性菌2.9株、好気性菌0.6株)であった。

一方、上顎洞粘膜からは合計53株が分離された。嫌気性菌が29株(54.7%)、好気性菌が24株(45.3%)であった。培養陽性1検体あたり平均3.8株(嫌気性菌2.1株、好気性菌1.7

Isolates	No. of strain
Anaerobic bacteria	
Gram-positive cocci	
<i>Peptostreptococcus micros</i>	3
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	2
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	1
Gram-positive rods	
<i>Propionibacterium acnes</i>	3
<i>Eubacterium aerofaciens</i>	1
<i>Eubacterium alactolyticum</i>	1
Gram-negative rods	
<i>Prevotella intermedia</i>	3
<i>Prevotella oris</i>	2
<i>Prevotella oralis group</i>	2
<i>Prevotella buccae</i>	1
<i>Prevotella melaninogenica</i>	1
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1
<i>Bacteroides sp. non B. fragilis group</i>	1
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1
subtotal	23
Aerobic bacteria	
Gram-positive cocci	
<i>Streptococcus anginosus</i>	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1
<i>Micrococcus sp.</i>	1
Gram-negative rods	
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	1
subtotal	5
TOTAL	28

Table 2 Bacteria isolated from 8 positive specimens from effusion of maxillary sinus with chronic sinusitis

株)が分離された。

(2) 分離菌種成績

Table 2に上顎洞貯留液から分離された菌の一覧を示した。嫌気性菌23株のうち、グラム陰性桿菌が12株で全体の52.2%を占めていた。中でも*Prevotella intermedia*をはじめとする*Prevotella spp.*が9株(39.1%)と多かった。*Peptostreptococcus micros* 3株を含む*Peptostreptococcus spp.*は6株(26.1%)であった。*Propionibacterium acnes* 3株を含むグラム陽性桿菌は5株(21.7%)であった。好気性菌5株では*Streptococcus anginosus* 2株をはじめとするグラム陽性球菌が4株で全体の80%を占めた。

Table 3に上顎洞粘膜から分離された菌の一覧を示した。嫌気性菌29株では貯留液の場合と異なり、*Propionibacterium acnes* 11株を含む*Propionibacterium spp.*が13株(44.8%)と最も多く、次いで*Actinomyces*

Isolates	No. of Isolates
<b>Anaerobic bacteria</b>	
Gram-positive cocci	
<i>Peptostreptococcus micros</i>	2
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	1
Gram-positive rods	
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 1
<i>Propionibacterium granulosum</i>	1
<i>Propionibacterium sp.</i>	1
<i>Actinomyces spp.</i>	4
<i>Bifidobacterium sp.</i>	1
Gram-negative cocci	
<i>Voillonella sp.</i>	1
Gram-negative rods	
<i>Prevotella intermedia</i>	2
<i>Prevotella oralis group</i>	1
<i>Prevotella sp.</i>	1
<i>Bacteroides sp. non B. fragilis group</i>	1
<i>Fusobacterium nucleatum anaerobic GNR</i>	1
subtotal	2 9
<b>Aerobic bacteria</b>	
Gram-positive cocci	
<i>Streptococcus anginosus</i>	3
<i>Streptococcus sanguis</i> †	3
<i>Streptococcus mitis</i>	1
<i>Streptococcus pyogenes</i> (β-hemolytic)	1
<i>Streptococcus salivarius subsp. salivarius</i>	1
<i>Streptococcus spp.</i>	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4
<i>Staphylococcus capitis</i>	2
<i>Gemella haemolysans</i>	2
<i>Micrococcus sp.</i>	1
Gram-positive rods	
<i>Corynebacterium spp.</i>	2
Gram-negative rods	
<i>Acinetobacter lowffi</i>	1
<i>Pasturella multocida subsp. multocida</i>	1
subtotal	2 4
TOTAL	5 3

Table 3 Bacteria isolated from 14 specimens from mucous membrane of maxillary sinus with chronic sinusitis

spp. が4株であり、*Bifidobacterium sp.* 1株を加えた無芽胞グラム陽性桿菌が18株と全体の62.1%を占めた。次いで*Prevotella intermedia* 2株をはじめグラム陰性桿菌が7株(24.1%)であった。好気性菌24株ではグラム陽性球菌が19株(79.2%)と圧倒的に多く、その内訳は*Streptococcus spp.* 11株(45.9%)、*Staphylococcus spp.* 6株(25%)であった。

(3) 上顎洞貯留液と粘膜の同時検査例の分離菌成績

上顎洞貯留液と粘膜の両者を同時に検討しえた7例から分離された菌は、Table 4の如

Pair	Effusions	Mucosa
1	<i>P. micros</i> , <i>Peptostreptococcus sp.</i> <i>Bacteroides sp. non B. fragilis group</i> <i>P. magnus</i> , <i>P. melaninogenica</i> , <i>P. oralis</i> <i>F. nucleatum</i>	<i>P. micros</i> , <i>Peptostreptococcus sp.</i> <i>Bacteroides sp. non B. fragilis group</i> <i>P. acnes</i> , <i>Propionibacterium sp.</i> <i>Actinomyces sp.</i> , <i>Voillonella sp.</i> <i>S. anginosus</i> , <i>Streptococcus sp.</i>
2	<i>P. oralis group</i> , <i>P. intermedia</i> <i>P. acnes</i> , <i>E. aerofaciens</i> <i>P. oralis</i> , <i>S. anginosus</i>	<i>P. oralis group</i> , <i>P. intermedia</i> <i>Prevotella sp.</i> , anaerobic GNR <i>S. anginosus</i>
3	<i>P. acnes</i>	<i>P. acnes</i> , <i>Actinomyces sp.</i>
4	<i>P. acnes</i> , <i>S. epidermidis</i>	<i>P. acnes</i> , <i>S. capitis</i> <i>Corynebacterium sp.</i> , <i>A. lowffi</i>
5	<i>P. paucimobilis</i>	<i>P. acnes</i> , <i>S. sanguis</i> <i>Streptococcus sp.</i>
6	<i>Micrococcus sp.</i>	<i>P. acnes</i> , <i>Actinomyces sp.</i>
7	no growth	<i>P. acnes</i> , <i>S. capitis</i>

Table 4 Microbial isolates in seven pairs of specimens that showed disparity in types of bacterial isolates between effusions and mucosa

くである。完全一致例はなく、一部の菌種のみ一致が3例であった(3菌種2例, 1菌種1例)。複数菌を認めたのは、貯留液では7例中3例、粘膜では7例中7例であった。

考 察

(1) 菌検査方法について

慢性副鼻腔炎からの検出菌についての報告は少なくないが、国内文献と外国文献の本疾患における培養陽性率、嫌気性菌検出率、分離菌種などに差が認められた。これらの差の生じた理由についていくつかの論文を検討したところ、その理由として検体の採取部位、輸送・培養方法など技術的な点がまず考えられた。そこで、次の4点に留意して検査を行った。①手術中に採取された検体はただちにケンキポーターに入れて輸送し、1時間以内に細菌検査を行った。②粘膜はガラスビーズまたは組織 homogenizer を用いて homogenize して用いた。③嫌気性菌の分離を確実にを行うために選択培地を併用した。④培養時間を5日以上とることにより slow growing bacteria を見逃さないようにしたことである。

慢性副鼻腔炎における検体の採取方法としては、①鼻腔内から主として綿棒で採取、②上顎洞穿刺によって上顎洞貯留液を採取<sup>1)</sup>、③上顎洞手術中に上顎洞貯留液を採取<sup>1)2)4)5)6)7)</sup>、④上顎洞手術中に上顎洞粘膜を

採取<sup>5)7)</sup>などいろいろな方法がとられている。①についてはデータの判定上問題が多いと考えられるため、本稿では③と④の採取による検体のみを対象とした。

### (2) 菌検出成績について

慢性副鼻腔炎の上顎洞貯留液からの嫌気性菌の検出率は、本邦では馬場<sup>1)</sup>は388洞中61洞(15.1%)、藤巻ら<sup>2)</sup>は71洞中23洞(32%)、森本ら<sup>3)</sup>は23洞中8洞(34.8%)に検出している。外国では、Frederickら<sup>4)</sup>が83洞中培養陽性62洞でその内43洞(培養陽性例中69.4%)に嫌気性菌を検出している。Karmaら<sup>5)</sup>は61洞中33洞が培養陽性でその内9洞(培養陽性例中27.3%)に検出している。最も高い分離率を示しているのはBrook<sup>6)</sup>で、72洞中66洞が培養陽性でその内58洞(培養陽性例中87.9%)に嫌気性菌を検出している。以上を要約すると培養陽性例中の嫌気性菌検出率は国内文献では15.1%~34.8%、外国文献では27.3%~87.9%となる。私共は10検体中8検体が培養陽性でその内6検体(培養陽性例中75%)に嫌気性菌を検出した。今回の結果は従来の本邦の報告よりも嫌気性菌の検出率は高く、培養陽性例の7~8割程度は嫌気性菌が検出されるのではないかと考えた。

上顎洞粘膜からの嫌気性菌の分離率については、石田ら<sup>7)</sup>は21例中18例が培養陽性でその内7洞(培養陽性例中38.9%)に嫌気性菌を検出している。Karmaら<sup>5)</sup>は61洞中52洞が培養陽性で17洞(培養陽性例中32.7%)に検出している。私共は14洞中全洞が培養陽性であり、そのすべてに嫌気性菌を検出した。今回の結果からは上顎洞粘膜では貯留液よりも高頻度に嫌気性菌が検出されることがわかった。

### (3) 検出菌種について

上顎洞貯留液から検出された嫌気性菌種について検討した。国内文献ではすべてがグラム陽性球菌の占める割合が多いと報告してい

る。すなわち馬場<sup>1)</sup>は64株中51株(79.7%)、藤巻ら<sup>2)</sup>は30株中60%、森本ら<sup>3)</sup>は9株中5株(55.6%)、荻野ら<sup>8)</sup>は17株中15株(88.2%)、石田ら<sup>7)</sup>は5株中5株(100%)と述べている。一方、外国文献ではグラム陽性球菌も多いが、*Bacteroides*などのグラム陰性桿菌が多く検出されるとの報告がみられる。Frederickら<sup>4)</sup>は80株中*Streptococcus* spp. が28株(35%)、*Bacteroides*が19株(23.8%)、Brook<sup>6)</sup>は131株中anaerobic cocciが39株(29.8%)、*Bacteroides* spp.が50株(38.2%)、*Fusobacterium* spp.が10株(7.6%)と報告している。すなわちBrookによると分離された嫌気性菌のうちグラム陰性桿菌が45.8%を占めていることになり、日本のこれまでのデータと大きく異なっている。私共の成績では、*Prevotella* spp.が23株中9株(39.1%)でグラム陰性桿菌が52.2%を占めており、Brookらのデータと同様グラム陰性桿菌の関与が高いことを示している。これは選択培地を併用し、長時間の培養を行ったことにより、slow growingな菌の分離率が高まったと考えている。

上顎洞粘膜からの分離菌の内訳では、石田ら<sup>7)</sup>は7株中*Peptococcus* spp. 3株、*Peptostreptococcus* spp. 3株と85.7%がグラム陽性球菌であったと報告している。Karmaら<sup>5)</sup>は24株中anaerobic diphtheroidが10株、*Peptostreptococcus* spp., *Veillonella* spp., *Bacteroides* spp.がそれぞれ3株ずつ分離されたとしている。私共の成績では、*Propionibacterium* spp., *Actinomyces* spp.を含むグラム陽性桿菌が29株中18株(62.1%)を占め、グラム陰性桿菌は7株(24.1%)、グラム陽性球菌は3株(10.3%)であり、Karmaらの成績と類似する結果であった。上顎洞粘膜に関する文献は少ないが、今回の結果から考えると、*Propionibacterium acnes*をはじめとする*Propionibacterium* spp.の関与が

かなり高いことが明らかとなった。 *P.acnes* は皮膚の常在菌として起炎菌としては軽視されていたが、近年眼科領域、外科領域でこの菌の潜在的病原性を指摘する論文<sup>10)</sup>も発表されていること、また、手術中の検体という材料の優秀性をも考えあわせると、本菌の起炎菌としての役割は高いのではないかと考えられる。なお、第1回北アメリカ嫌気性菌感染症シンポジウム<sup>11)</sup> (1992年7月)において、*P.acnes* が分離された場合には病原菌として考えるべきであると結論づけられている。

#### (4) 上顎洞貯留液と粘膜の同時検査例で分離された菌について

上顎洞粘膜ではTable 4に示したように複数菌分離例が多いことから、慢性副鼻腔炎の上顎洞では、粘膜の方が細菌にとってはより増殖しやすい場所であることがわかった。Karmaら<sup>5)</sup>、石田ら<sup>7)</sup>が述べているように、私共も上顎洞粘膜の細菌叢が副鼻腔炎の状態をよく反映していると考えている。上顎洞貯留液と粘膜の分離菌の差については、石田ら<sup>7)</sup>は貯留液と粘膜内では菌の生育の環境が異なり、粘膜中の方がより好気的な環境にあると考えられると述べている。私共は貯留液と粘膜ではかなり細菌学的環境のちがいが予想されるものの、酸化還元電位の値などの客観的なマーカーが必要であると思われ、その理由については現時点では不明である。

#### ま と め

国内文献と外国文献の慢性副鼻腔炎の細菌学に関するデータに相違がみられたため、手術中に得られた上顎洞貯留液と上顎洞粘膜を対象として再評価を行った。その結果、以下のことが明らかとなった。

- ① 従来の国内の報告に比べ、貯留液で80%、粘膜で100%と非常に高い培養陽性率が得られた。
- ② 嫌気性菌は貯留液から75%。粘膜から100%検出され、本疾患に高率に関与して

いることが考えられる。

- ③ 培養陽性1症例から分離された平均菌株数は、貯留液で3.5株(嫌気性菌2.9株、好気性菌0.6株)、粘膜で3.8株(嫌気性菌2.1株、好気性菌1.7株)と多菌種であった。
- ④ 上顎洞粘膜で複数菌分離例が貯留液より多く、上顎洞貯留液と粘膜の細菌叢の差がより明確となった。

#### 参 考 文 献

- 1) 馬場駿吉:慢性副鼻腔炎における嫌気性菌に関する臨床的ならびに実験的研究。名市大医誌 20:800-852, 1970.
- 2) 藤巻 豊 他:上顎洞炎の検出菌について。第11回嫌気性菌感染症研究会誌:43-45, 1981.
- 3) 森本高弘 他:副鼻腔炎の細菌学的検討—上顎洞と鼻腔の比較—。耳鼻臨床 78:1308-1314, 1985.
- 4) Frederick J et al: Anaerobic infection of the paranasal sinuses. The new England journal of medicine 290:135-137, 1974.
- 5) Karma P et al: Bacteria in chronic maxillary sinusitis. Arch Otolaryngol 105:386-390, 1979.
- 6) Brook I: Bacteriology of chronic maxillary sinusitis in adults. Ann Otol Rhinol Laryngol 98:426-428, 1989.
- 7) 石田 稔 他:副鼻腔貯留液および粘膜表層上に認められた検出菌について。日耳鼻 86:1455-1460, 1983.
- 8) 荻野 仁 他:慢性副鼻腔炎における起炎菌の現状。耳喉 55:347-353, 1983.
- 9) 伊藤敬子 他:耳鼻咽喉科感染症の細菌学的研究 (1)副鼻腔嚢胞での検討。日耳鼻 93:1229-1238, 1992.
- 10) Brook I et al: Infections caused by *Propionibacterium* species. Reviews of Infectious Diseases 13:819-822, 1991.

- 11) First North American Congress on Anaerobic Bacteria and Anaerobic Infections. Marina Del Rey, California, 1992.

---

質 疑 応 答

**質問** 梶 博幸 (自治医大耳鼻科)

- ① 正常の上顎洞における嫌気性菌の検出率はどれくらいか。
- ② 副鼻腔炎の発症には自然口の閉鎖が関与していると思うが、嫌気性菌の高度検出は、副鼻腔炎の原因と考えるか、結果と考えるか。

**追加** 向井貞三 (奈良医大)

菌の継代培養による本家返りの結果、field strainが教科書通りのlaboratory strainの性質を持つ様になってidentificationし易くなる事を経験しておりますが、御意見を。

**質問** 新川 敦 (東海大)

多種類の検出された嫌気性菌の感受性検査はどうか。

**応答** 伊藤敬子 (岐阜大)

- ① 正常上顎洞における検討は行っていない。
- ② 嫌気性菌自体あるいは好気性菌とのsynergicな働きにより病原性があると考えている。

**応答** 伊藤敬子 (岐阜大)

正確な同定には純培養菌が必要である。特に耳鼻科領域では嫌気性菌が複数菌の一部として分離されるので、数回の継代培養は純培養菌を得るために必須である。

**応答** 伊藤敬子 (岐阜大)

本疾患からの検出菌に対する薬剤感受性検査はまだ行っていない。