

## 正常外耳道における *Malassezia* の検出

森川 敬之 高山 幹子 石井 哲夫

東京女子医科大学耳鼻咽喉科学教室

藤代 佳子

東京女子医科大学中央検査部臨床検査科

菊池 賢 戸塚 恭一

東京女子医科大学感染対策科

### Detection of *Malassezia* in normal external auditory meatus

Takayuki MORIKAWA, Mikiko TAKAYAMA, Tetsuo ISHII

Department of Otolaryngology, Tokyo Women's Medical University

Yoshiko FUJISHIRO

Clinical laboratory, Tokyo Women's Medical University

Ken KIKUCHI, Kyouichi TOTSUKA

Department of Infectious Disease, Tokyo Women's Medical University

We reported about the detection of *Malassezia* in the field of otolaryngology in the last journal of Japan Society for Infectious Diseases in Otolaryngology, and it was predicted that *Malassezia* was a microbiological flora of external auditory meatus. In this time, we classified cerumens of normal external auditory meatus by cultivating in several culture media and analysing its DNA. Referring to its result, we report about the detection of *Malassezia* in normal external auditory meatus.

*Malassezia* was detected 39 cases among 103 cases (38%) of cerumen from normal external auditory meatus. Among them, males was 11 out of 25 (44%) and females was 28 out of 78 (36%). In these 39 cases, wet type cerumen was 14 and dry type was 25. There is no difference between wet type and dry type cerumen in this result, so it is predicted that cerumen type have no relation with growth of *Malassezia*.

*M. slooffiae* was most detected in 28 cases, and it accounted for 72% of each type cerumen. It is predicted that *M. slooffiae* is a microbiological flora of external auditory meatus, and it may have some relation to growth of cerumen.

It was 26 out of 39 cases (67%) that they have any experience in breeding animals. Among that, 11 cases is dog and it is worthy of notice about the relation of its pathogenesis in human.

はじめに

当院の耳鼻咽喉科領域の感染症における *Malassezia* 属検出症例について検討し、前回の本学会で報告した<sup>1)</sup>。その結果、健常人の外耳道における常在菌の可能性も考えられた。そこで今回、我々は健常人の耳垢を採取し、これを培養して発育良好な検体に対して DNA 解析を施行し、菌種の同定を行った。この結果をもとに、健常人外耳道における *Malassezia* 属の検出について検討したので報告する。

研究対象および検出方法

対象は健常人の外耳道 103 耳（男性 25、女性 78）の左右いずれか一方より耳垢を採取したものを使用した。これをオリーブオイル重層クロラムフェニコール加ポテトデキストロース寒天培地、Modified Dixon 培地、オイル無添加ポテトデキストロース寒天培地の 3 種類の培地にて各々 37℃ で 5 日間、25℃ で 25 日間の計 30 日間培養した。酵母様真菌が発育したもので、明らかにオイル無添加培地よりオイルが添加されたポテトデキストロース寒天培地の方が良好な発育を見せたものを *Malassezia* 属と判定し、ITS1 領域の DNA 塩基配列から菌種の同定を行った。

結 果

採取した耳垢 103 例中、全体の 38% にあたる 39 例（男性 11 例、女性 28 例）において *Malassezia* 属が検出された (Table 1)。39 例中、Wet type より 14 例、Dry type より 25 例が検出された (Table 2)。同定菌種としては *M. slooffiae* が最も多く 28 例 (Wet type 10 例、Dry type 18 例) で同定され、次いで *M. furfur* が 6 例 (Wet type 2 例、Dry type 4 例) であった (Table 3)。ペット飼育との関連性に着目すると、*Malassezia* 属が検出された 39 例中、26 例において過去、および現在においてペットの飼育歴が認められた (Table 4)。

Table 1 Number of detected samples of *Malassezia*.

年齢(歳)	男性	女性	計(例)
0~20	1/2	0/0	1/2
21~30	3/7	12/34	15/41
31~40	6/10	8/24	14/34
41~50	1/5	7/15	8/20
51~	0/1	1/5	1/6
計	11/25 (44%)	28/78 (36%)	39/103 (38%)

Table 2 Number of detected cerumens of *Malassezia*.

Wet type	14/42例(33%)
Dry type	25/61例(41%)
合計	39/103例(38%)

Table 3 Cases and cerumens of *Malassezia*.

菌種	Wet	Dry	合計(例)
<i>M. slooffiae</i>	10(72%)	18(72%)	28(72%)
<i>M. furfur</i>	2(14%)	4(16%)	6(15.5%)
<i>M. sympodialis</i>	1(7%)	1(4%)	2(5%)
<i>M. obtusa</i>	0	1(4%)	1(2.5%)
<i>M. restricta</i>	1(7%)	0	1(2.5%)
同定不能	0	1(4%)	1(2.5%)
計	14	25	39

Table 4 Relations in animal feeds and *Malassezia*.

	ペット有	ペット無	計
<i>Malassezia</i> 発育(+)	26例 (25.2%)	13例 (12.6%)	39例 (37.8%)
<i>Malassezia</i> 発育(-)	39例 (37.9%)	25例 (24.3%)	64例 (62.2%)
計	65例 (63.1%)	38例 (36.9%)	103例

飼育ペットの内訳は、イヌが11例と最多であった。

## 考 察

*Malassezia* 属は当初、*M. furfur*, *M. pachydermatis*, *M. sympodialis* の3菌種のみが同定されていたが、その後の研究により、新たに *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta*, *M. slooffiae* の4菌種が同定され、現在のところ7菌種に分類されている (Table 5)。*Malassezia* 属は、脂質要求性が大きな特徴であり、今回の培養方法のようにオイル添加培地にて著しい発育を示す<sup>2,3)</sup>。

*Malassezia* 属の無染色像を (Fig. 1) に示す。楕円形で、矢印にて示すように括れが存在

Table 5 Species and source of *Malassezia*.

菌種	由来
<i>M.furfur</i>	ヒト、サル、ブタ、ウシ、ペリカン
<i>M.pachydermatis</i>	イヌ、ネコ、フェレット、ヒト、ブタ
<i>M.sympodialis</i>	ヒト
<i>M.globosa</i>	ヒト、ウシ、チータ
<i>M.obtusa</i>	ヒト
<i>M.restricta</i>	ヒト
<i>M.slooffiae</i>	ヒト、ブタ、ヒツジ、ヤギ

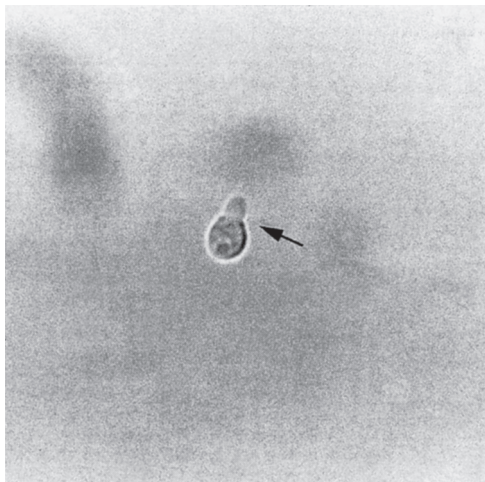


Fig. 1 Photomicrograph of *Malassezia* (non-stain).

するのが特徴であるが、これだけでは菌種までは判断できないため、菌種を同定するにはDNA解析などのさらに詳しい検査が必要となる。

*Malassezia* 属検出例の年齢に着目すると、いずれの世代においても約40%の割合で *Malassezia* 属が検出されており、年齢による差は、認められなかったが、性別では男性が44%、女性が38%と、男性の方がやや高率に認められた (Table 1)。一般的に、男性の方が男性ホルモンによる皮脂腺からの脂質分泌が女性より多いため<sup>4)</sup>、*Malassezia* 属が発育しやすいことが予想される。

*Malassezia* 属検出例の耳垢の性状に着目すると、前回の本研究会において、*Malassezia* 属がWet typeの外耳道の常在菌である可能性を我々は示唆したが<sup>1)</sup>、今回の検査結果においてはWet typeでは33%、Dry typeでは41%であった (Table 2)。この結果より、耳垢の性状に関係なく *Malassezia* 属は外耳道において発育することが示唆された。

同定菌種としては *M. slooffiae* が最も多く、Wet type, Dry type いずれのtypeに関してもともに72%を占めた (Table 3)。前回の本研究会においては、*Malassezia* 属が検出された4例において、そのすべてが *M. slooffiae* であったことを報告したが<sup>1)</sup>、今回も高率に *M. slooffiae* が認められた。これらより、*M. slooffiae* はヒトの外耳道における常在菌である可能性が高く、耳垢の形成との関連性が推測される。

ペット飼育との関連性に着目すると、*Malassezia* 属はヒト以外の動物の正常皮膚や外耳道からも数多く検出されている<sup>5)</sup>。また、*Malassezia* 属によるイヌの外耳道炎に関する報告が現在までに報告されており<sup>6)~9)</sup>、ヒト以外の動物におけるその病原性についても明らかになってきている。*Malassezia* 属検出例における67%にペット飼育歴が認められているだ

けに、ヒトに対する病原性との関係性の検討が今後の課題である。

### ま と め

健常人の耳垢を採取したところ、38%において *Malassezia* 属が検出され、特に *M. slooffiae* が多く認められた。耳垢の性状の Wet type, Dry type と *Malassezia* 属の検出に関しては、大きな差は認められなかった。

### 参 考 文 献

- 1) 森川敬之, 高山幹子, 石井哲夫, 他: 耳鼻咽喉科領域における *Malassezia* 検出症例の検討. 耳鼻感染 18 : 93-96, 2000.
- 2) Mayser P, Pickel M, Haze P, et al. : Different utilization of neutral lipids by *Malassezia furfur* and *Malassezia sympodialis*. Medical Mycology 36 : 7-14, 1998.
- 3) Mayser P, Haze P, Papavassilis C, et al. : Differentiation of *Malassezia* species : selectivity of Cremophor EL, castor oil and ricinoleic acid for *M. furfur*. British Journal of Dermatology 137 : 208-213, 1997.

- 4) 伊藤雅章: 皮膚の構造と機能, 標準皮膚科学, 池田重雄, 荒田次郎, 医学書院: 3-19, 1994.
- 5) Gueho E, Midgley G, Guillot J : The genus *Malassezia* with description of four new species. Antonie-van-Leeuwenhoek 69 : 337-355, 1996.
- 6) Uchida Y, Mizutani M, Kubo T, et al. : Otitis Externa Induced with *Malassezia pachydermatis* in Dogs and the Efficacy of Pimaricin. J. Vet. Med. Sci. 54 : 611-614, 1992.
- 7) Coutinho SD, de Souza T, Paula CR : Protein profiles of *Malassezia pachydermatis* isolated from dogs. Mycopathologia 139 : 129-135, 1997.
- 8) Cole LK, Kwochka KW, Kowalski JJ, et al: Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. JAVMA 4 : 534-538, 1998.
- 8) 串田寿明: *Malassezia pachydermatis* が原因と思われる犬外耳道炎にサルファ剤・トリメトプリム合剤の奏功した症例. 獣医畜産新報 47 : 284-287, 1994.

### 質 疑 応 答

質問 川内秀之 (島根医大)

耳垢を処理されて 30 日間培養された後に PCR を施行されている理由は、直接耳垢からの検索は無理ですか。

応答 森川敬之 (東京女子医大)

まず培養を施行し、*Malassezia* 属であるかどうかを確認した後、菌種同定を目的に PCR を施行した。

質問 川内秀之 (島根医大)

オイルを培地に入れておられる理由は、

応答 森川敬之 (東京女子医大)

*Malassezia* 属の脂質要求性に着目した。

質問 川内秀之 (島根医大)

健常人がかなりの出現率と思いますが normal flora と言ってよろしいのでしょうか。

応答 森川敬之 (東京女子医大)

*M. slooffiae* に関して高率に健常人の外耳道より検出されており、normal flora の可能性は高いと思われる。

連絡先: 森川 敬之

〒162-8666

東京都新宿区河田町 8-1

東京女子医科大学耳鼻咽喉科学教室

TEL 03-3353-8111 FAX 03-5269-7351