

CLINICAL AND BACTERIOLOGICAL STUDIES ON HAEMOPHILUS INFLUENZAE ISOLATED FROM CHILDREN

Takahiko Nomura Aichi Medical University
Hisakazu Sugimori Sapporo National Hospital
Hiroshi Watanabe Taketani Hospital
Rinya Sugita and Yutaka Fujimaki Juntendo University
Masao Naito and Akio Suzuki Fujita-Gakuen University
Tokutake Watanabe Oita Medical University
Akiteru Yumizaki Oita Prefectural Hospital
Takuo Maeyama Kagoshima University
Shigeo Goto Goto Clinic(Yamagata)
Koichi Deguchi and Seiji Oda Tokyo Clinical Research Center
Shunkichi Baba Nagoya City University

Between February and August 1983, 246 strains of *Haemophilus influenzae* isolated from acute purulent otitis media (APOM) and sinusitis in children were tested for antibiotic sensitivity and β -lactamase production. In the same period, the organisms isolated from cultures of previously antiseptitized external auditory canal (EAC) in 127 children with APOM without perforation of tympanic membrane and the isolates from their middle ear effusions obtained by tympanocentesis were compared with special interest to coagulase-negative staphylococci (CNS).

The results are as follows.

1) Thirteen percent of 246 *H. influenzae* strains showed MICs of 3.13 or more of ampicillin and amoxicillin per ml, and all

of them produced β -lactamase.

The incidence of ampicillin-resistant *H. influenzae* in APOM was 12.4% of 153 strains, while in sinusitis, it was 15% of 93 strains.

- 2) Previous antiseptics of EAC by 70% ethanol swabbing was found to be inadequate, because 55% of 127 cultures of EAC revealed positive bacterial flora.
- 3) Close investigation of the data on CNS isolated from EAC and middle ear effusions revealed, whenever a *S. epidermidis* strain was isolated from a middle ear effusion, it was also isolated from the EAC of the same patient, and the reverse was not true. This demonstrates the possible fact that *S. epidermidis* isolated from middle ear effusions of APOM might be a contaminant on specimen collection.

小児由来 H influenzae, CNS に関する臨床細菌学的検討

愛知医科大学	野村隆彦
国立札幌病院	杉森久一
武谷病院	渡辺洋
順天堂大学	杉田麟也・藤巻豊
名古屋保健衛生大学	内藤雅夫・鈴木昭夫
大分医科大学	渡辺徳武
大分県立病院	弓崎明輝
鹿児島大学	前山拓夫
後藤医院(山形県)	後藤重雄
東京総合臨床検査センター	出口浩一・小田清次
名古屋市立大学	馬場駿吉

はじめに

小児急性化膿性中耳炎の起炎菌に関して我々は全国的な共同研究を行い、本邦でも北欧諸国や米国と同様に *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* が主体であることを報告した¹⁾。その際、ampicillin 耐性 *H. influenzae* (β -lactamase 産生株) が45株中3株7%に認められたことから、耐性化の現況を更に多数の菌株について把握するため、小児の化膿性中耳炎および副鼻腔炎由来 *H. influenzae* 246 株に対する経口抗菌剤の感受性を検討するとともに、 β -lactamase 産生株のチェックを合わせて行った。

また小児急性化膿性中耳炎鼓膜非穿孔例の外耳道消毒効果、鼓室貯留液の検出菌検索を行い、従来 *Staphylococcus epidermidis* と一括されていたコアグラゼ陰性ブドウ球菌(CNS)に関する若干の知見を得たので報告する。

対象および方法

H. influenzae の感受性は1983年2月から8月までに共同研究で集め得た15才以下の小児の化膿性中耳炎由来153株と副鼻腔炎由来93株、計246株について5種類の経口抗菌剤ampicillin(ABPC), amoxicillin(AMPC), cephalexin(CEX), cefaclor(CCL), minocycline

(MINO)についてそれぞれMICを測定し、 β -lactamase 産生株の検出にはディスク法を用いた。

外耳道消毒効果とCNSの検討は共同研究参加施設を受診した15才以下の急性化膿性中耳炎鼓膜非穿孔例127例を対象とした。70%エタノールで消毒乾燥後の外耳道を先端の細い滅菌綿棒にTCS-Brothを浸し、これを用いて外耳道を十分に擦過した後綿棒をTCSポーター内で洗い、次いで鼓膜切開を行い、流出する中耳貯留液をやはり先端の細い滅菌綿棒で外耳道に触れないように注意して採取し、直ちに別のTCSポーターへ移し、2個の検体を当日中に速達便で東京総合臨床検査センターへ送付。菌検索にあたって従来 *S. epidermidis* として一括されていたCNSについてはKloosの分類によりIDテストSP-18解析システムにより詳しく同定した。

結 果

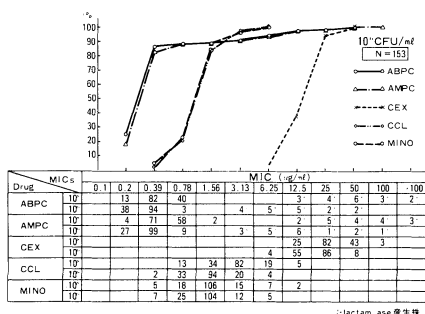
1. *H. influenzae* の薬剤感受性と β -lactamase 産生株

化膿性中耳炎由来 *H. influenzae* 153株のMICを表1に示した。ABPCとAMPCについては*印が β -lactamase 産生株を表わす。

10^6 CFU/ml について検討するとABPC, AMPCとも153株中135株が $0.2 \sim 0.78 \mu\text{g/ml}$

にあり最もすぐれているが、 $3.13\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の株が18株存在し、これらは全例 β -lactamase 産生株であった。CEX は $6.25\sim 50\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し測定した5種類の抗菌剤のうちでは最悪であった。CCL と MINO はともに $0.39\sim 6.25\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、ピークは $1.56\mu\text{g}/\text{ml}$ にあり β -lactamase 産生株と非産生株の間にMICの差は認められなかった。

表1 小児中耳炎由来 Haemophilus influenzae のMIC



副鼻腔炎由来 *H. influenzae* 93株のMICは表2のごとくで化膿性中耳炎とほぼ同じ成績であった。ABPC と AMPC はともに93株中79株が $0.2\sim 0.78\mu\text{g}/\text{ml}$ にあり、 $3.13\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の14株すべてが β -lactamase 産生株であった。CEX は $6.25\sim 50\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲にあり、CCL は $0.78\sim 6.25\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布してピークが $1.56\mu\text{g}/\text{ml}$ に見られた。MINO は $0.39\sim 12.5\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布したがピークはCCL と同じ $1.56\mu\text{g}/\text{ml}$ に見られた。

表2 小児副鼻腔炎由来 Haemophilus influenzae のMIC

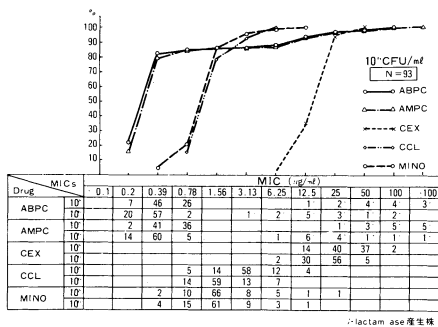
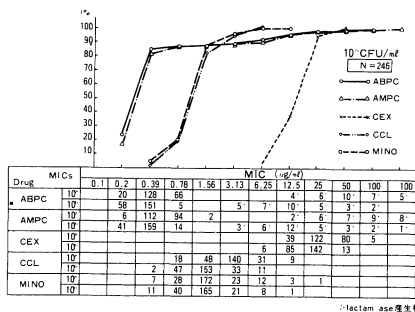


表3は化膿性中耳炎と副鼻腔炎をあわせた246株の成績で、化膿性中耳炎、副鼻腔炎ともほぼ似かよった成績のため合計でも各薬剤のMICピークは表1、2と同一で、MIC累積グラフで見るとABPCとAMPC、CCLとMINOが各々ほぼ同一の累積感受性パターンを示し、CEXの感受性不良が顕著である。 β -lactamase 産生株は246株中32株13.0%であった。 β -lactamase 産生株と非産生株のMICはABPCとAMPCにおいては明確な差があり、 β -lactamase 非産生株でありながら、ampicillin 耐性を示す株は一例も認められなかった。

表3 小児中耳炎・副鼻腔炎由来 Haemophilus influenzae のMIC



2. 消毒後外耳道と鼓室貯留液から検出されたCNS

70%エタノール消毒後の外耳道から得た検体を培養すると、表4のごとく127例の検索のうち菌を検出しなかったのは57例44.9%に過ぎず、残りの55.1%には何らかの菌を検出する成績が得られた。検出菌の内訳はCNSが34株が一番多く、次いでBacillus subtilis 19株、Staphylococcus aureus 18株の順であった。CNSは表4の注2に示すごとくS. epidermidis 27株、S. cohnii 2株、S. capitis 1株、S. haemolyticus 2株、S. hycus 1株、同定不能1株と、S. epidermidisが圧倒的多数を占めた。一方外耳道検索後に鼓膜切開して得られた鼓室貯留液からは、S. pneumoni-

ae 32株, *H. influenzae* 31株に次いで12株の CNS を検出したが, そのうち *S. epidermidis* 6株, *S. cohnii* 2株計8株は同時に検索した外耳道から全く同一の菌を検出しており, 外耳道菌の混入と判定した。残りの4株は鼓室貯留液からのみ検出し, 同時に外耳道からは検出せず, 混入を証明出来なかった。4株の内訳は *S. haemolyticus* 3株, *S. cohnii* 1株で, *S. epidermidis* は1株もなかった。

表4 外耳道(消毒後)からの検出菌

検出菌種	検出数	頻度(%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	14.2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	34	26.8
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	
<i>Streptococcus songorii</i>	1	
<i>Streptococcus mitis</i>	1	
<i>Streptococcus faecalis</i>	2	
<i>Bacillus subtilis</i>	19	15.0
<i>Corynebacterium sp</i>	3	
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	
<i>Proteus mirabilis</i>	1	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	2	
NF-GNR	2	
<i>Propionibacterium acnes</i>	2	
<i>Candida albicans</i>	1	
No growth	57	44.9
〈検索数〉	127 ¹⁾	

1) 検出数 / 検索数 × 100
 2) *Staphylococcus epidermidis* 27, *Staphylococcus cohnii* 2, *Staphylococcus faecalis* 1, *Staphylococcus haemolyticus* 2, *Staphylococcus aureus* 1, 同定不能 1
 3) 同一患者で複数回検出されたものは数を1とした

考 察

戦後, 本邦において, *H. influenzae* の急性化膿性中耳炎, 副鼻腔炎起炎菌としての重要性を認識されてきたのは, まだ比較的最近のことである。その理由は, 検体の採取方法, 培養や保存が他菌にくらべてかなり困難であるなど, 主に手技上の問題にあったのであるが, 近年少しずつ解決されてきているようである。それとともに, 主に米国で報告されてきた, β -lactamase を産生する ampicillin 耐性 *H. influenzae* を急性化膿性中耳炎から検出した報告が本邦でも見られるようになった。しかし, 小児化膿性中耳炎と副鼻腔炎由来の多数の菌株について検討した報告は本邦では我々が最初であり, 化膿性中耳炎由来 *H. influenzae* 153株中18株 (12.4%), 副鼻腔炎由来, 93株中14株 (15.0%), 合わせて 246 株中

32株 (13.0%) の β -lactamase 産生株が見られたことは, Rohn, D.D. らが1982年に小児の急性および慢性非穿孔性中耳炎由来101株から得た, 16.8%の報告をやや下回るものの, 本邦でも耳鼻咽喉科日常診療にあたって, ampicillin 耐性 *H. influenzae* の検出を念頭におくべきことを裏付けるものである。

ampicillin 耐性株は当然のことながら AMPC にも耐性であり, 現在のところ経口抗菌剤としては CCL と MINO の選択が勧められる。しかし, β -lactamase 非産生株については, 現在でも ABPC, AMPC が CCL, MINO よりすぐれた感受性を示しており, *H. influenzae* 感染症の第一選択剤は依然として ABPC, AMPC などの合成ペニシリン系薬剤と考える。

中耳健常小児の外耳道常在菌に関する検討は, Brook, I., 高橋らの報告がある。これによると, 主な常在菌は, *S. epidermidis* (CN S), *S. aureus*, *Corynebacterium sp*, *Bacillus subtilis* などとしている。高橋らは中耳炎発症時の外耳道から検出される菌種は, 健常例から検出される菌種とほぼ同様の菌種構成を示すと報告した。

急性化膿性中耳炎鼓膜非穿孔例を対象として, 外耳道消毒効果と鼓室貯留液内の菌の検索を, 特に CNS に注目して検討した目的は, 我々の共同研究で, 外耳道消毒基準を守り, 鼓膜切開後慎重に鼓室貯留液を採取しても, 起炎菌のほかに CNS をはじめとする外耳道常在菌と思われる菌が検出されるため, 同一症例で, 消毒後の外耳道と鼓室貯留液から検出される細菌をできる限り詳細に同定, 対比して, 外耳道常在菌混入の因果関係を明確にしたかったためである。

まず注目すべきことは, 日常診療の範囲内で行える外耳道の消毒法では約55%の症例に菌が検出されたことであり, できるだけ簡易で, より完璧な消毒法の工夫が望まれるとこ

ろであるが、中耳炎の検出菌成績を読むにあたっては、non pathogen の混入が避けられないことを前提として、pathogen を推定する必要がある。

外耳道および鼓室貯留液から検出したCNS計46株のうち、S. epidermidis が33株で最多であったが、鼓室から S. epidermidis を検出した6例は、全例外耳道からも同時に検出しており、新鮮な急性化膿性中耳炎非穿孔例の鼓室貯留液から検出される S. epidermidis は検体採取時における、外耳道からの混入と解釈すべき根拠と考える。他のCNSについては検出数が少いため、今後更に検討を要する。

ま と め

1) 1983年2月から8月の期間に、小児化膿性中耳炎由来 H. influenzae 153株中18株 (12.4%)、小児副鼻腔炎由来93株中14株 (15.0%) 合わせて246株中32株 (13.0%) の β -lactamase 産生 ampicillin 耐性 H. influenzae を検出した。

2) 小児急性化膿性中耳炎鼓膜非穿孔例127例中70例、約55%は消毒後の外耳道からCNSをはじめとする外耳道常在菌を検出した。

3) 外耳道から検出したCNS 34株の内訳は、S. epidermidis 27株、S. cohnii 2株、S. capitis 1株、S. haemolyticus 2株、S. hycus 1株、同定不能1株であった。鼓室貯留液検出のCNSはS. epidermidis 6株、S. cohnii 3株、S. haemolyticus 3株計12株であったが、同時に外耳道から検出したケースを除外すると、S. haemolyticus 3株、S. cohnii 1株で、S. epidermidis は1株もなかった。

文 献

- 1) 内藤雅夫, 他: 小児急性中耳炎の検出菌と薬剤感受性. 耳鼻咽喉科感染症研究会誌 1; 33-36, 1983.
- 2) 杉田麟也, 他: 急性化膿性中耳炎の起炎菌. 日耳鼻 82; 568-573, 1979.
- 3) 野村隆彦, 他: 耳鼻咽喉科領域における

Haemophilus influenzae 感染症. 耳鼻と臨床26; 442-444, 1980.

- 4) 内藤雅夫, 他: 小児急性化膿性中耳炎の細菌学的検討. 耳鼻臨床76 増2; 991-997, 1983.
- 5) Schwartz, R. H. et al: The increasing incidence of ampicillin-resistant Haemophilus influenzae. JAMA 239; 320-323, 1978.
- 6) Lim, D.J. et al: Antibiotic-resistant bacteria in otitis media with effusion. Ann Otol Rhinol Laryngol 89 Suppl 65; 278-280, 1980.
- 7) 藤田信一, 他: 耳漏から分離された β -lactamase 産生 Haemophilus influenzae の臨床細菌学的検討. 耳鼻と臨床 27; 707-713, 1981.
- 8) 藤巻 豊, 他: 小児急性化膿性中耳炎に対するセファクロルの有用性の臨床細菌学的研究. 耳鼻咽喉科感染症研究会誌1; 14-18, 1983.
- 9) Rohn, D. D. et al: Incidence of organisms in otitis media. Ann Otol Rhinol Laryngol 92 Suppl 107; 17, 1983.
- 10) Brook, I.: Microbiological studies of the external auditory canal in children. Acta Otolaryngol 91; 285-287, 1981.
- 11) 高橋健一, 他: 小児の外耳道常在菌と化膿性中耳炎発症時の鼓室内からの検出菌. 耳鼻咽喉科感染症研究会誌 1; 30-32, 1983.