

COMPARATIVE STUDY OF NORMAL FLORA OF TONSILS IN AGES

Masaki Sakai, Atsushi Kishimoto, Toshikazu Tokuda,
Natsuki Morishima, Mikio Yagisawa, Tadao Nishimura

DEPARTMENT OF OTO-RHINO-LARYNGOLOGY THE SECOND AFFILIATED HOSPITAL
FUJITA-GAKUEN HEALTH UNIVERSITY

We tried a bacteriological examination of 60 cases of healthy normal tonsils to study the age-related change in normal flora in terms of the identification and semi-determination of separated strains mainly of aerobic bacteria; API-strep was used for the identification of Streptococci. For convenience, these 60 cases were divided into 4 groups, i. e. group of neonatus,

group of infants, group of adults and group of high-aged persons.

As a result, the group of neonatus showed low ratios of detection of *S.sanguis* II, and *Neisseria* spp. and demonstrated high quantities of *S.mitis* and *S.salivarius*. The group of infants and high-aged persons showed high ratios of detection of *H.influenzae* and *S.pneumoniae* 1.

扁桃常在菌叢の年齢別比較検討

酒井 正喜 岸本 厚 徳田 寿一
森島 夏樹 八木澤 幹夫 西村 忠郎

藤田学園保健衛生大学第2教育病院

耳鼻咽喉科学教室

I. はじめに

口蓋扁桃（以後扁桃と略す）は人体の免疫臓器の中でも最も外界に近く、外来の細菌やウイルスにさらされている。また扁桃には生後間もなくより常在菌叢が存在し、これら菌種相互の間では拮抗、共生という原則においてバランスが保たれ、病原細菌やウイルスからの感染に対して防御的に働いている。

今回我々は健常者の扁桃より菌検を行い、その年齢的な変化について好気性菌を中心に検討を加えたので報告する。

II. 対象および方法

1. 対象

平成元年1月より平成2年8月までの期間中に扁桃より菌検を施行した60検体が対象である。その内訳は、当院産科において分娩出生した生後3日から5日の新生児8例（新生児群）、1歳より12歳の16例（小児群）、13歳より50歳の22例（成人群）、51歳より84歳の14例（高齢者群）の合計60例であり、扁桃を含めて上気道に急性および慢性炎症を認めないものとした。

2. 方 法

i) 検体採取法及びその定量培養法

各々の症例について右扁桃陰窩より検体を採取した。なお、新生児については扁桃の陰窩が未発達のため、その扁桃上面のぬぐい液を検体とした。検体採取後ただちに10培希釈系列により $10^3 \sim 10^8$ にあたる希釈液を作製した。この希釈液をウマ血液寒天培地、チョコレート培地、DHL培地に塗抹し、培養を施行した。なお、これらで判定した菌量は半定量の枠内とした。

ii) 細菌同定法

培養後、各培地のコロニーを肉眼にて観察しグラム染色を施行、顕微鏡下にて観察した後に分離培養を行った。またStreptococciの同定にはAPIストレップ20を用いた。

III. 成 績

1. 細菌の検出率 (Table 1)

Bacteria	I	II	III	IV
	3~5D No. of cases/%	1~12Y No. of cases/%	13~50Y No. of cases/%	51Y~ No. of cases/%
<i>Streptococci</i>				
<i>S. pyogenes</i>	0	0	0	0
<i>S. agalactiae</i>	0	0	0	1 (7.1%)
<i>S. carnis</i>	0	0	0	0
<i>S. pneumoniae</i> 1	1 (12.5%)	6 (37.5%)	0	1 (7.1%)
<i>S. pneumoniae</i> 2	0	2 (12.5%)	1 (4.6%)	2 (14.3%)
<i>S. pneumoniae</i> 3	0	0	0	0
<i>S. mitis</i>	7 (87.5%)	15 (93.8%)	22 (100%)	11 (78.6%)
<i>S. sanguis</i> I	0	7 (43.8%)	1 (4.6%)	5 (35.7%)
<i>S. sanguis</i> II	3 (37.5%)	9 (56.3%)	20 (90.9%)	13 (92.8%)
<i>S. salivarius</i>	7 (87.5%)	11 (68.8%)	20 (90.9%)	13 (92.8%)
<i>S. milleri</i> I	0	0	0	1 (7.1%)
<i>S. milleri</i> II	0	2 (12.5%)	3 (13.6%)	2 (14.3%)
<i>S. milleri</i> III	0	0	0	0
other <i>Streptococci</i>	0	0	0	0
<i>Gemella morbillorum</i>	0	1 (6.3%)	4 (18.2%)	1 (7.1%)
<i>Lactococcus cremoris</i>	0	0	0	0
<i>Micrococci</i>	1 (12.5%)	3 (18.3%)	3 (13.6%)	3 (21.4%)
<i>Staphylococci</i>				
<i>S. aureus</i>	0	4 (25.0%)	12 (54.6%)	5 (35.7%)
CNS	3 (37.5%)	1 (6.3%)	0	1 (7.1%)
<i>Neisseria</i> spp.	1 (12.5%)	15 (93.8%)	20 (90.9%)	10 (71.4%)
<i>Branhamella catarrhalis</i>	0	1 (6.3%)	2 (9.1%)	2 (14.3%)
<i>Haemophilus</i>				
<i>H. influenzae</i>	0	6 (37.5%)	0	3 (21.4%)
<i>H. parainfluenzae</i>	0	7 (43.8%)	13 (59.1%)	2 (14.3%)
<i>H. parahaemolyticus</i>	0	3 (18.8%)	10 (45.5%)	1 (7.1%)
GPR	0	2 (12.5%)	5 (22.7%)	7 (50.0%)
GNR	1 (12.5%)	4 (25.0%)	2 (9.1%)	5 (35.7%)
Fungi	0	1 (6.3%)	2 (9.1%)	3 (21.4%)
Total no. of cases	8	16	22	14

Table 1 Isolation frequency of bacteria from tonsils

Table 1

宿主と比較的強い共生関係にある resident floraとして、*S. mitis*, *S. salivarius*, *S. sang-*

uis II, *Neisseria* spp.が検出され、一方宿主と比較的弱い共生関係にある transient floraとして*S. pneumoniae*, *Haemophilus*属, *Staphylococcus*属等が主に検出された。

2. 細菌の菌量 (Table 2)

(Log. values of bacteria/ml)

Bacteria	I	II	III	IV
	3~5D mean ± SD	1~12Y mean ± SD	13~50Y mean ± SD	50Y~ mean ± SD
<i>Streptococci</i>				
<i>S. pyogenes</i>				5.0 ± 0.0
<i>S. agalactiae</i>				
<i>S. carnis</i>				
<i>S. pneumoniae</i> 1	6.0 ± 0.0	5.3 ± 0.5		6.0 ± 0.0
<i>S. pneumoniae</i> 2		4.5 ± 0.5	4.0 ± 0.0	4.5 ± 0.5
<i>S. pneumoniae</i> 3				
<i>S. mitis</i>	6.4 ± 0.5	5.1 ± 1.0	5.6 ± 1.0	5.4 ± 0.6
<i>S. sanguis</i> I		4.3 ± 0.9	4.0 ± 0.0	5.0 ± 1.1
<i>S. sanguis</i> II	5.7 ± 0.5	5.0 ± 1.3	5.8 ± 1.1	5.0 ± 0.8
<i>S. salivarius</i>	6.4 ± 0.7	5.6 ± 1.2	5.6 ± 1.3	5.1 ± 0.8
<i>S. milleri</i> I				6.0 ± 0.0
<i>S. milleri</i> II		5.0 ± 1.0	5.0 ± 0.0	4.0 ± 1.0
<i>S. milleri</i> III				
other <i>Streptococci</i>		6.0 ± 0.0	4.8 ± 1.5	5.0 ± 0.0
<i>Gemella morbillorum</i>				
<i>Lactococcus cremoris</i>				
<i>Micrococci</i>	7.0 ± 0.0	4.0 ± 0.8	5.0 ± 0.8	4.0 ± 0.8
<i>Staphylococci</i>				
<i>S. aureus</i>		4.8 ± 1.5	4.1 ± 0.9	3.4 ± 0.5
CNS	6.3 ± 0.9	3.0 ± 0.0		4.0 ± 0.0
<i>Neisseria</i> spp.	5.0 ± 0.0	5.1 ± 1.0	5.1 ± 1.0	4.3 ± 0.8
<i>Branhamella catarrhalis</i>		3.0 ± 0.0	4.5 ± 0.5	4.5 ± 0.5
<i>Haemophilus</i>				
<i>H. influenzae</i>		6.3 ± 0.5		5.0 ± 0.8
<i>H. parainfluenzae</i>		3.9 ± 0.6	4.5 ± 1.1	4.5 ± 0.5
<i>H. parahaemolyticus</i>		5.7 ± 0.5	4.7 ± 0.6	3.0 ± 0.0
GPR		4.0 ± 1.0	4.6 ± 1.0	4.3 ± 0.0
GNR	5.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	3.0 ± 1.3
Fungi		2.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0	3.7 ± 1.7

Table 2 The number of bacteria from tonsils

Table 2

全体にStreptococciが高い菌量を示す傾向にあった。なお、表では1 ml中の菌量の対数をmean ± SDで示した。

3. resident floraの検出率の比較 (Fig 1)

S. mitis, *S. salivarius*は年齢的に検出率の差を認めなかった。*S. sanguis* IIは新生児群、小児群では成人群、高齢者群より推計学的に有意に低い検出率を示した。また、*Neisseria* spp.は新生児群ではその他の群に比し推計学的に有意に低い検出率を示した。

4. resident floraの菌量の比較 (Fig 2)

*S. mitis*は新生児群においてその他の群に比し推計学的に有意に高い菌量を示した。また、*S. salivarius*も同様の傾向を示したが推計学的に有意な差を認めたのは新生児群と高齢者群との間だけであった。*S. sanguis* IIは

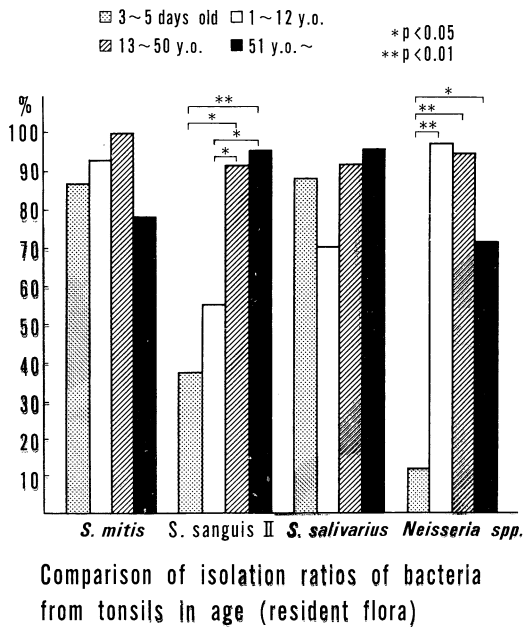


Fig 1

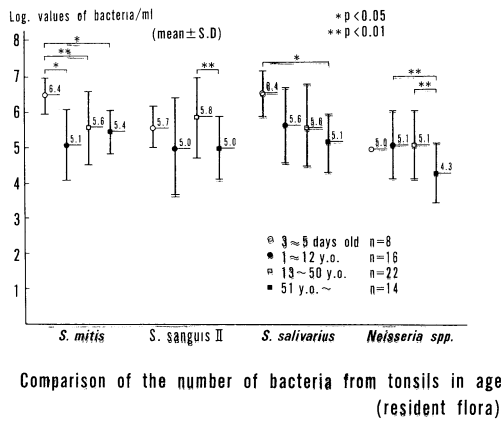


Fig 2

新生児群，成人群では，小児群，高齢者群より高い菌量を示す傾向が認められたが，推計学的に有意な差を認めたのは成人群と高齢者群との間だけであった。*Neisseria spp.*は高齢者群においてその他の群より低い菌量を示す傾向にあり，小児群，成人群との間に推計学的に有意差を認めた。

5. *H.influenzae*の検出率と菌量の比較

(Fig 3) : 新生児群，成人群においては，*H.influenzae*は検出されず，小児群，高齢者

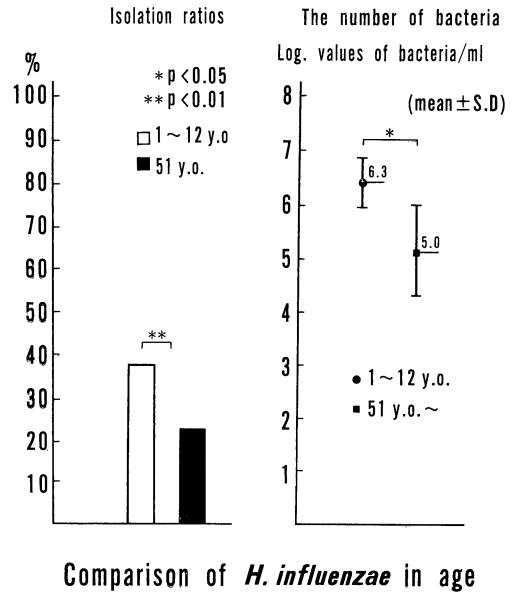


Fig 3

群にのみ検出された。また，小児群における菌量は，高齢者群に比して推計学的に有意に高かった。

6. *S.sanguis I*の検出率と菌量の比較

(Fig 4) : *S.sanguis I*は主に小児群，高齢

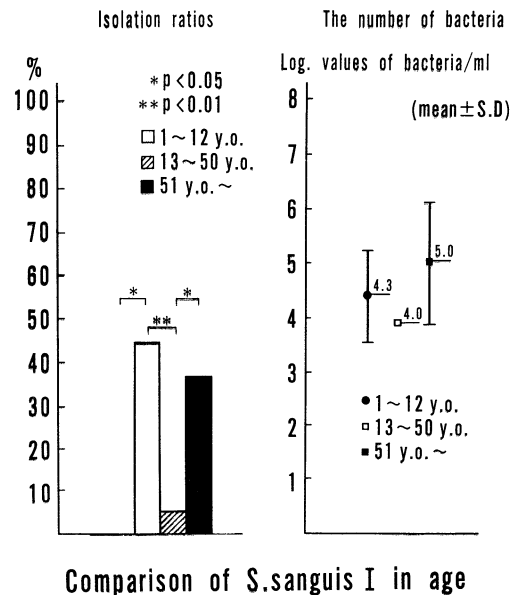
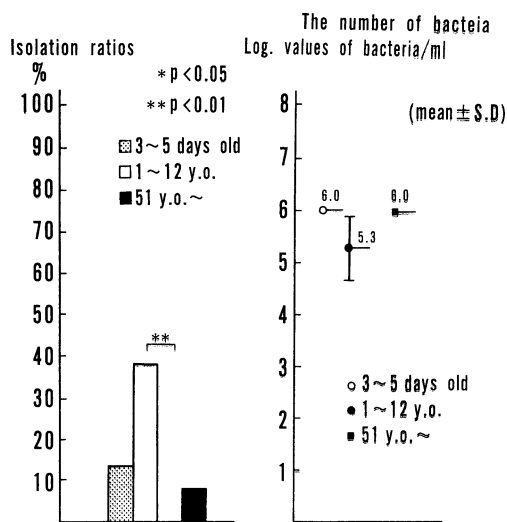


Fig 4

者群において検出され、成人群ではその検出率は先の2群に比して推計学的に有意に低く、新生児群では検出されなかった。また検出された*S.sanguis* Iの菌量には年齢的な差は認められなかった。

7. *S.pneumoniae* 1の検出率と菌量の比較

(Fig 5) : *S.pneumoniae* 1は、小児群に



Comparison of *S. pneumoniae* 1 in age

Fig 5

においてその他の群より高い検出率を示す傾向が認められ、成人群では検出されなかった。検出された*S.pneumoniae* 1の菌量には年齢的な差は認められなかった。

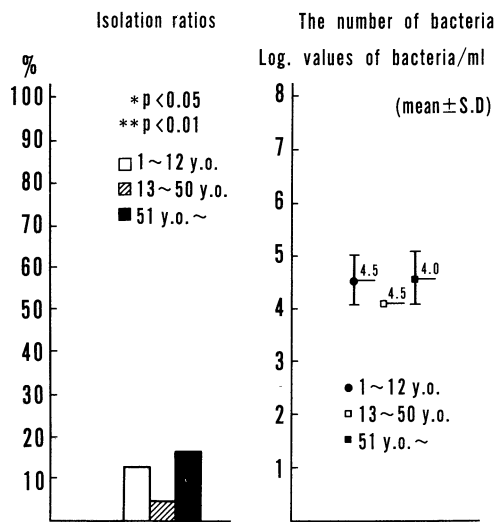
8. *S.pneumoniae* 2の検出率と菌量の比較

(Fig 6) : *S.pneumoniae* 2は小児群、成人群、高齢者群において比較的低い検出率で認められ、新生児群には検出されなかった。また、*S.pneumoniae* 2は、検出率、菌量ともに年齢的な差は認められなかった。

9. その他の菌種：その他の菌種においては年齢的に有意な差は認められなかった。

IV. 考 察

正常扁桃における検出菌、菌量については



Comparison of *S. pneumoniae* 2 in age

Fig 6

すでに諸家の報告があり、resident floraについては、出口ら¹⁾はα-streptococci 10³~10⁵cfu/ml, *Neisseria* 10⁵~10⁶cfu/mlと、杉田ら²⁾はα-streptococci, *Neisseria*, γ-streptococciともに10⁴~10⁵cfu/mlと、報告しており若干の相違はあるものの我々の結果もおおむね同様の傾向を示していた。今回の我々の結果では、*S.mitis*, *S.salivarius*が全年齢を通じて高い検出率で見られ、resident floraとして考えられた。また、*S.mitis*, *S.salivarius*は、*S.pyogenes*等の病原細菌の増殖、定着を抑制することが知られており^{3)~6)}、これらの菌が、新生児群においてその他の群より高い菌量として認められたことは、免疫力が未発達な新生児期⁷⁾の感染防御に重要な役割を果たしているのではないかと考えられた。また、小児群及び高齢者群においては*S.sanguis* Iの検出率が増加し、成人群においては*S.sanguis* IIの検出率が増加しており、α-streptococciの年齢による量的及び質的変動が生体防御に影響を及ぼしている可能性のあることが推測された。

一方、*H. influenzae*, *S. sanguis* I, *S. pneumoniae* 1等はin vitroにおいてIgA1を分解するProteolytic enzymeを産生することが知られておりvirulence factorである可能性が指摘されている^{8)~10)}。

我々の成績では、これらの3菌種は小児群においてその他の群に比して有意に高い検出率で同定されている。このことは、扁桃の感染症が小児期に多く見受けられることと何らかの関連があるのではないかと推測された。

また、*H. influenzae*, *S. pneumoniae*の鼻腔粘膜上皮細胞への定着性は成人より小児において有意に高いとの報告があり¹¹⁾、扁桃においても年齢によって細菌の定着性に何らかの差があるのではないかと推測された。

V. ま と め

- i) 健常扁桃60例より菌検を施行し、好気性菌を中心に細菌の同定及び半定量を行い検討を加えた。
- ii) *S. salivarius*, *S. mitis*が各年齢叢を通じて高い検出率で検出され、扁桃に対して強い馴化性を示した。特に新生児群においてはその他の群に比して有意に高い検出率を示した。
- iii) *S. pneumoniae* 1, *H. influenzae*, *S. sanguis* Iは小児群においてその他の群に比して有意に高い検出率を示した。
- iv) これらの結果より常在菌叢の年齢的な変化が、小児期に扁桃炎の頻度が高いことと何らかの関係があるのではないかと考えられた。

文 献

- 1) 出口浩一：Primary infectionを主とした患者から検出される細菌の様相—検出される細菌の特徴について—その1，メディアサークル，26：1，1981
- 2) 杉田麟也：口蓋扁桃とアデノイド組織の検出菌と菌量について，日耳鼻感染誌，2：111-115，1984
- 3) Sanders, E. : Bacterial interferens. I. Its occurrence among the respiratory tract flora and characterization of inhibition of group A streptococci by viridans streptococci, J. Inf. Dis., 120 : 698, 1969
- 4) Dajani, A.s. : Viridans, Bacteriocins of alpha-hemolytic streptococci : Isolation, Characterization, and partial purification, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 9 : 81, 1976
- 5) 藤森 功：扁桃摘出術前後における咽頭細菌叢の推移に関する細菌学的評価，日耳鼻，92：703-707，1988
- 6) 増田 真理子：口腔内連鎖球菌の病原細菌に対する発育阻止作用，急性気道感染症患児の咽頭における成績，感染症学雑誌，59：559-568，1986
- 7) 鳥居新平：年齢による感染の特徴と易感染性，小児内科，20：1818-1822，1988
- 8) Male, C.J. : Immunoglobulin A1 protease production by Haemophilus influenzae and Streptococcus pneumoniae, Infect. Immunol., 26 : 254-261, 1979
- 9) Kilian, M. : IgA 1 proteases from Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, and Streptococcus sanguis : Comparative Immunochemical studies, Journal of Immunol., 1 : 2596-2600, 1980
- 10) 小澤 敦：扁桃感染症の生態学と化学療法，日扁桃誌，24：275-279，1985
- 11) 茂木五郎：分泌型IgAと細菌定着，“中耳炎と免疫” 茂木五郎著：54-60，1989

質 疑 応 答

質問 茂木五郎（分医大）

新産児扁桃陰窩からのAompe採取の方法は？

応答 酒井正喜（保衛大第2）

新生児においては、その扁桃発育の未熟の
為検体は咽頭ぬぐい液となった。

扁桃常在菌の季節的变化は、過去の当院に
ての検索では認められなかった。

質問 嶽 良博（和歌山労災病院）

同一個体において季節的変動や感冒などによっても変遷するのか。

追加 荻 仁（大手前病院）

口腔内常在菌には、季節変動は認めなかった。鼻、耳では季節変動を認めた。