

反復性中耳炎における環境因子としての 集団保育について — 保育園における鼻咽腔細菌叢の検討 —

矢野 寿一

長崎大学耳鼻咽喉科・北里大学医学部微生物

末武 光子

東北労災病院耳鼻咽喉科

井上 松久

北里大学医学部微生物

小林 俊光

長崎大学耳鼻咽喉科

Analysis of Nasopharyngeal Flora in Children Attending a Day-care Center by Pulsed-Field Gel Electrophoresis Patterns

Hisakazu YANO

Department of Otolaryngology, Nagasaki University School of Medicine and Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine

Mitsuko SUETAKE

Department of Otolaryngology, Tohoku Rosai Hospital

Matsuhisa INOUE

Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine

Toshimitsu KOBAYASHI

Department of Otolaryngology, Nagasaki University School of Medicine

To investigate how microbes spread from child to child in a day-care center, we monitored six children attending a day-care center and analyzed nasopharyngeal isolates from the children using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). The six children were two boys and four girls and were born between August 1995 and November 1997. When some children presented with purulent rhinorrhea simultaneously in the day-care center, we obtained nasopharyngeal culture of all children from September 1998 to March 1999. Moreover, when a child was found to have AOM,

nasopharyngeal secretion from the child was cultured. In this period, twenty-eight isolates of *M. catarrhalis*, thirteen isolates of *S. pneumoniae* and four isolates of *H. influenzae* were recovered. As the results of PFGE, eight patterns of *M. catarrhalis*, ten of *S. pneumoniae* and one of *H. influenzae* were recognized. Based on PFGE patterns, the spread of *M. catarrhalis* from a child to other children was recognized in the day-care center. However, the period of each prevalence of infection with *M. catarrhalis* was for 2~6 weeks. And when the next prevalence of infection with *M. catarrhalis* occurred, PFGE pattern of the strains changed. The strains of *M. catarrhalis* infecting each child also changed. The same as with *M. catarrhalis*, the strains of *S. pneumoniae* also changed in each child. However, the infection of *H. influenzae*, unlike the case of *M. catarrhalis* and *S. pneumoniae*, persisted for about three months in the child.

はじめに

反復性中耳炎は2歳以下の保育園児に多発する傾向があり¹⁾, 集団保育が反復性中耳炎のリスクファクターとして強く関与していると考えられている^{2, 3, 4)}. そこで, 集団保育されている園児6人の鼻咽腔細菌検査を繰り返し行い, 鼻咽腔細菌叢への集団保育の影響, 各園児の鼻咽腔細菌叢の経時的な変化について検討した.

対象と方法

(1) 対象

対象は東北労災病院附属保育園の園児で, 男児2名, 女児4名, 年齢は1歳から3歳の合計6名 (Table 1)とした. この保育園は東北労災病院に勤務するスタッフ用の施設で, 園児6人は一室で保育され, 1997年12月より1999年3月まで臨床経過を観察した.

Table 1 Children attending a day-care center attached to Tohoku Rosai Hospital in Sendai

Child	Sex	Date of Birth
1	M	May 28, 1997
2	F	Aug. 19, 1995
3	M	Nov. 10, 1997
4	F	Sep. 6, 1996
5	F	Jul. 1, 1996
6	F	Aug. 23, 1996

(2) 菌株採取

検体は耳鼻咽喉科用シードスワブ2号 (栄研化学) を用いて, 経鼻的に上咽頭より採取し, 採取後速やかに同定検査を実施した. 菌株採取は, 園内で急性中耳炎を含めた上気道感染症流行時に園児全員から施行した. また, 急性中耳炎の治療経過が長引いた園児に対して, 随時追加した. なお, 園児からの菌株採取については, 保護者に十分説明した上, 東北労災病院倫理委員会にて承認を得た後に行った.

(3) 分離菌の解析

1998年9月から1999年3月までに分離同定された *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* について検討を行った. 菌株の各種抗菌薬に対する感受性測定は, 日本化学療法学会の感受性測定法に準じ寒天平板希釈法にて行い, β -ラクタマーゼ産生の有無は P/Case TEST (昭和薬品) にて確認した. 疫学的解析にパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を施行し, 上気道感染症流行時の起炎菌の拡散, 及び経時的にみた各園児の起炎菌の同一性を検討した.

結 果

(1) 臨床経過

1997年12月から1999年3月までの各園児の臨床経過を Table 2 に示した. 園内で急性

Table 2 Clinical course of the six children

Child	Date of episode															
	1997		1998						1999							
	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May.	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.
1	AOM	AOM	URI			AOM			AOM			URI	URI	URI		URI
2	URI			URI										URI		URI
3							E		AOM			AOM	AOM	AOM		URI
4	AOM		AOM	AOM	AOM	URI	AOM				AOM			URI		URI
5	AOM													URI		URI
6		AOM	AOM	URI					AOM		URI	AOM	AOM	URI		

AOM, acute otitis media; URI, upper respiratory infection; E, entrance to the day-care center

Table 3 *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae*, and *H. influenzae* isolates recovered from the six children from the nasopharynx

Child	Date of isolation														
	1998			1999											
	9/24	10/29	11/9	11/17	11/24	12/4	12/15	1/21	1/25	1/28	3/1	3/2	3/9	3/15	3/23
1	(-)	M	/	M	M	M, PS	/	M	M	/	M.	/	PS	/	(-)
2	(-)	M, PR	/	M	/	M	/	/	(-)	/	(-)	/	/	H	PR
3	(-)	/	/	M, PI	/	M, H	M, PI	/	M, PS	M, H, PS	/	M, H	/	/	(-)
4	(-)	(-)	M	M	/	M	/	/	M	/	/	/	M	/	(-)
5	(-)	PR, PI	/	(-)	/	M	/	/	M	/	/	/	M	/	(-)
6	(-)	(-)	M	M	/	M	/	M	/	/	/	/	PS	/	PS

M, *M. catarrhalis*; PR, penicillin-resistant *S. pneumoniae*; PI, penicillin-intermediate-resistant *S. pneumoniae*;

PS, penicillin-susceptible *S. pneumoniae*; H, *H. Influenzae*; (-), not cultured or only nasopharyngeal flora; /,

not screened

中耳炎の多発を認め、とくに3番の園児は、1998年5月の保育園入園後より急性中耳炎を繰り返すようになった。一方、2番や5番の園児のように、3番の園児と同じ保育園で過ごしながらか、ほとんど急性中耳炎を発症しない園児も認められた。

(2) 分離菌

1998年9月から1999年3月までの各園児の主な分離菌についてTable 3に示す。この期間中、*M. catarrhalis* 28株、*S. pneumoniae* 13株、*H. influenzae* 4株が分離された。benzylpenicillinに対する感受性測定の結果、*S. pneumoniae* 13株はpenicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) 3株、penicillin-intermediate-resistant *S. pneumoniae* (PISP) 4株、penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP) 6株に分類された。P/Case TESTにて、全ての*M. catarrhalis*と*H. influenzae*がβ-ラクタマーゼを産生していた。

(3) PFGE

PFGEから、*M. catarrhalis* 28株は8パターンに、*S. pneumoniae* 13株は10パターンに、*H. influenzae* 4株は1パターンに型別された。8パターンに型別された*M. catarrhalis*をそれぞれM1~M8株とした。同様に*S. pneumoniae*および*H. influenzae*をS1~S10およびH株とした(Figure 1-a,b)。

(4) 園内での起炎菌の拡散

*M. catarrhalis*に関しては、M1, M2, M4及びM7株の流行が園内で認められた(Table 4)。それぞれの流行期間は2~6週間であり、次の流行時には異なる菌株の流行がみられた。*S. pneumoniae*, *H. influenzae*に関しては園内での流行はみられなかった(Table 5)。起炎菌を各園児毎にみても、*M. catarrhalis*, *S. pneumoniae*に関しては経時的に異なる菌株が感染していた。しかし、*H. influenzae*に関しては約3ヶ月間同じ菌株が継

M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8

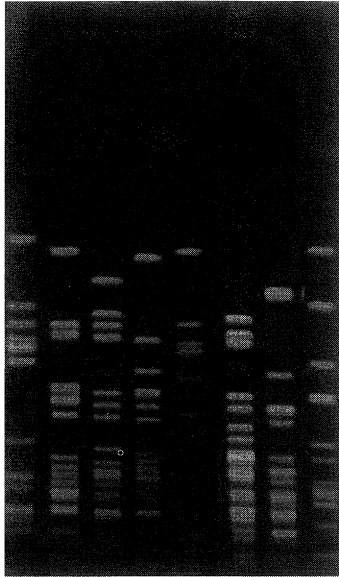


Fig. 1-a Analysis of PFGE patterns for *M. catarrhalis*. *M. catarrhalis* isolates were classified as M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 or M8 based on their PFGE patterns.

S1 S2 S3 S4 S5 S6 S7 S8 S9 S10 11

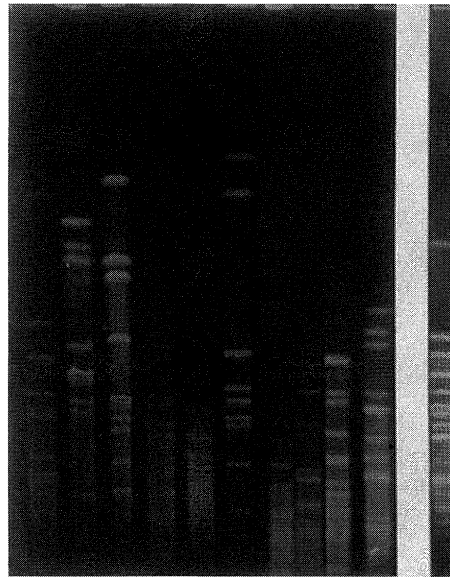


Fig. 1-b Analysis of PFGE patterns for *S. pneumoniae* and *H. influenzae*. *S. pneumoniae* isolates were classified into S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9 and S10 based on their PFGE patterns. All *H. influenzae* isolates were of the same strain.

Table 4 Nasopharyngeal culture results showing spread of *M. catarrhalis* in the day-care center

Child	Date of isolation													
	1998				1999									
	10/29	11/9	11/17	11/24	12/4	12/15	1/21	1/25	1/28	3/1	3/2	3/9	3/15	3/23
1	M1		M1	M4	M1		M6	M7		M7				
2	M1		M1		M1									
3			M2		M4	M4		M7	M7		M8			
4		M2	M3		M5			M7				M7		
5					M4			M5				M7		
6		M2	M2		M4		M7							

Table 5 Nasopharyngeal culture results showing spread of *S. pneumoniae* and *H. influenzae* in the day-care center

Child	Date of isolation													
	1998				1999									
	10/29	11/9	11/17	11/24	12/4	12/15	1/21	1/25	1/28	3/1	3/2	3/9	3/15	3/23
1					S5, S6							S9		
2	S1												H	S10
3			S4		H	S7		S8	H, S8		H			
4														
5	S2, S3													
6												S8		S8

続いて検出された。

考 察

急性中耳炎は、小児期に最も頻繁に罹患する急性感染症の一つである。従来、急性中耳炎は、ペニシリン系薬の投与によって、比較的短期間

に治癒してきた。しかし近年、治療に抵抗性が再発を繰り返す、反復性中耳炎症例を経験するようになった。さらにこのような反復例に加えて、内服薬に反応せず、多量の耳漏や高熱が持続し、入院の上抗菌薬の点滴静注を必要とする

重症例が増加してきている^{5, 6)}。そこで、反復性中耳炎のリスクファクターの一つと考えられている集団保育について、東北労災病院附属保育園の園児を対象として分子生物学的手法を用いて疫学的検討を行った。

Table 2 は 1997 年 12 月から 1999 年 3 月までの各園児の臨床経過を示しているが、園内で急性中耳炎・上気道感染症の多発を認めた。とくに 3 番の園児は、1998 年 5 月の入園前までは全く急性中耳炎の既往はなかったが、入園後より急性中耳炎を繰り返すようになっていく。このことは、3 番の園児にとって、保育園入園が急性中耳炎の反復に大きく関与したことが推察される。一方、2 番や 5 番の園児のように、3 番の園児と同じ保育園で過ごしながら、ほとんど中耳炎を発症しない子も認められ、宿主側の要因も急性中耳炎の反復化に重要であり、急性中耳炎は複数の因子が関与する疾患であることが示唆される。

1998 年 9 月から 1999 年 3 月までに、28 株の *M. catarrhalis* が分離された。この 28 株を PFGE から型別すると、8 パターンに分類され、Table 4 に示すように園内で同一株の拡散が確認された。例えば、10/29 に 1 番と 2 番の園児が同時に M1 株に感染していた。11/9 には M2 株が 4 番と 5 番の園児に感染し、11/17 には 3 番の園児にまで拡がっていた。11/24 には M4 株が 1 番の園児に感染すると、12/4 には 3, 5, 6 番の園児に拡がっていた。1/21 には 6 番の園児から M7 株が分離されたが、この株は最終的には、2 番の園児を除く他の全員に拡がっていた。このように、一つの菌株が園内に入り、その株が流行しても、次の流行時には同じ *M. catarrhalis* といっても異なる株が拡散していることがわかった。

これを各園児別にみても、2 番の園児を除く 5 人がこの期間中に 3 種類以上の *M. catarrhalis* が分離されており、*M. catarrhalis* は 2~3 週、長くて 6 週で、異なる

株に入れ変わっていた。このことは、菌株特異的な抗体が産生され、一度感染した菌株は特異抗体により除菌されるものの、この特異抗体が反応しない異なった菌株が感染してくるものと推察される。

今回の検討では、*S. pneumoniae*, *H. influenzae* の園内での大きな流行はみられなかったが、S8 株が 3 番から 6 番の園児に、H 株が 3 番から 1 番の園児に拡がったことが確認された。各園児別にみても、*S. pneumoniae* は *M. catarrhalis* 同様、経時的には異なった株が分離される傾向にあった。しかし、*H. influenzae* に関しては、3 番の園児に約 3 ヶ月間同じ株が分離された。*M. catarrhalis*, *S. pneumoniae* と異なり、*H. influenzae* は除菌されにくい可能性が考えられるが、症例数が少なく、今後検討していきたい。

ま と め

- 1) 集団保育中の園児 6 人の鼻咽腔細菌叢をパルスフィールドゲル電気泳動法等にて検討した。
- 2) 上気道感染症流行時に、園内で同一菌株の拡散が認められた。
- 3) 園児個人別にみると、経時的には各感染時で異なる菌株が起炎菌となる傾向がみられた。

参 考 文 献

- 1) 小林俊光, 末武光子, 保富宗城, 他: 反復性中耳炎の病態と治療. 耳展 42: 73-97, 1999
- 2) Hardy AM and Fowler MG: Child care arrangements and repeated ear infections in young children. Am J Public Health 83: 1321-1325, 1993
- 3) Niemela M, Uhari M and Mottonen M: A pacifier increases the risk of recurrent acute otitis media in children in day care centers. Pediatrics 96: 884-888, 1995
- 4) Pukander J, Luotonen J, Timonen M et al: Risk factors affecting the occurrence of acute otitis media among 2-3-year-old

urban children. Acta Otolaryngol (Stockh)
100: 260-265, 1985

- 5) 遠藤廣子, 末武光子, 入間田美保子: 入院加療を必要とした乳幼児急性中耳炎, 下気道炎の検討, 1994~1997年, ペニシリン耐性肺炎球菌の増加. 日本化学療法学会誌 47: 30-34, 1999
- 6) 末武光子, 入間田美保子: 耐性肺炎球菌と急性中耳炎の重症化. JOHNS 13: 1147-1151, 1997

連絡先: 矢野寿一

〒852-8501 長崎市坂本1-7-1

長崎大学医学部耳鼻咽喉科学教室

TEL 095-849-7350 FAX 095-849-7352