

## グラム染色による小児急性中耳炎症例の起炎菌迅速診断

佐々木 一 葉<sup>1)</sup> 矢野 寿 一<sup>2)</sup> 沖津 尚 弘<sup>1)</sup> 入間田 美保子<sup>1)</sup>  
天野 雅 紀<sup>1)</sup> 黒川 い く<sup>3)</sup> 真崎 純 子<sup>3)</sup> 堀 亨<sup>4)</sup>  
大山 健 二<sup>1)</sup> 小林 俊 光<sup>4)</sup>

1) 東北労災病院耳鼻咽喉科

2) 仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター

3) 東北労災病院検査科細菌検査室

4) 東北大学耳鼻咽喉・頭頸部外科

### The Evaluation of Gram Staining for Early Diagnosis of Acute Otitis Media in Infants and Children

Kazuha SASAKI<sup>1)</sup>, Hisakazu YANO<sup>2)</sup>, Naohiro OKITSU<sup>1)</sup>, Mihoko IRIMADA<sup>1)</sup>,  
Masanori AMANO<sup>1)</sup>, Iku KUROKAWA<sup>3)</sup>, Junko MASAKI<sup>3)</sup>, Toru HORI<sup>4)</sup>,  
Kenji OHYAMA<sup>1)</sup>, Toshimitsu KOBAYASHI<sup>4)</sup>

1) Department of Otolaryngology, Tohoku Rosai Hospital

2) Virus Research Center, Clinical Research Division, Sendai National Hospital

3) Department of Laboratory, Tohoku Rosai Hospital

4) Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Tohoku University Graduate School of Medicine

Gram staining is the most useful and cost-effective test in the clinical microbiology laboratory. In this study, we evaluated the usefulness of gram staining for early diagnosis of causative bacteria of acute otitis media (AOM).

From November 2005 to October 2006, we studied 360 children with AOM at the Department of Otolaryngology of Tohoku Rosai Hospital. The children, 260 boys and 100 girls, were under 10 years old, with the average age being  $2.0 \pm 2.1$  years, and 252 children (70%) were under 2 years old. We obtained 360 specimens of nasopharyngeal secretions (NPS) and 415 of middle ear fluid (MEF) (including 55 bilateral AOM cases), and gram staining and bacterial culture of MEF and NPS were performed.

Sensitivity and specificity of NPS were 80.4% and 88.5% in *Streptococcus pneumoniae* and 62.1% and 96.8% in *Haemophilus influenzae*. As for MEF, sensitivity and specificity were 58.2% and 95.1% in *S. pneumoniae*, and 36.9% and 97.8% in *H. influenzae*.

Although the MEF sensitivity of *H. influenzae* was low, gram staining was useful diag-

nostic examination for rapid detection of causative pathogen because of high values of sensitivity and specificity of NPS in both species and specificity of NPS in *H. influenzae*.

はじめに

近年、急性中耳炎の主たる起炎菌である肺炎球菌、インフルエンザ菌の急速な薬剤耐性化により、反復例や重症化例が増加してきている<sup>1)</sup>。従って、できるだけ早期に、適切な抗菌薬による治療を開始するためには、起炎菌の迅速診断が重要である。

そこで我々は、小児急性中耳炎症例に対し、グラム染色による起炎菌迅速診断を試みたので報告する。

対象と方法

2005年11月から2006年10月までの一年間に東北労災病院耳鼻科を受診した10歳以下の急性中耳炎360例（平均2.0歳，男児260例，女児100例）を対象とした。

対象症例の鼻咽腔ぬぐい液360検体，中耳貯留液415検体（両耳から採取した55症例を含む）を用いてグラム染色を行い，細菌培養結果をもとに感度・特異度を算出した。また，抗菌薬投与の有無による感度，特異度の相違を検討した。

検体は，シードスワブγ2号（栄研化学）と滅菌綿棒に採取し，それぞれ細菌分離培養，グラム染色に用いた。

グラム染色は，パイフェル液を使用したハッカーの変法で行った<sup>2)</sup>。すなわち，1) スライドグラスに検体を塗抹，火炎固定，2) クリスタルバイオレット液にて染色し水洗，3) ルゴール液にて媒染後，水洗，4) 純アルコールにて脱色し，水洗，5) パイフェル液にて染色後水洗，乾燥し鏡検した（鏡検まで所要時間は約5分）。

鏡検による起炎菌の推定は，グラム陽性双球菌を含めたグラム陽性連鎖球菌が認められた場合は肺炎球菌を，グラム陰性短桿菌が認められた場合はインフルエンザ菌とした。グラム染色は東北労災病院細菌検査室にて行い，臨床検査

技師による判定を行った。

結 果

グラム染色の結果をTable 1に示した。肺炎球菌は，鼻咽腔ぬぐい液で感度80.4%，特異度は88.5%であった。中耳貯留液では感度58.2%，特異度95.1%であった。一方，インフルエンザ菌は鼻咽腔ぬぐい液で感度62.1%，特異度96.8%，中耳貯留液で感度36.9%，特異度97.8%であった。

対象症例のうち，2週間以内に抗菌薬投与，または検査時投与中の症例は173例であった。これらの症例における感度，特異度をTable 2に示した。Table 1と比較して，抗菌薬投与がある場合も感度，特異度はほぼ同等の結果であった。

Table 1 Results of gram staining of nasopharyngeal secretions and middle ear fluid in 360 children with acute otitis media

	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		<i>Haemophilus influenzae</i>	
	NPS	MEF	NPS	MEF
Sensitivity (%)	80.4	58.2	62.1	36.9
Specificity (%)	88.5	95.1	96.8	97.8

NPS; nasopharyngeal secretions  
MEF; middle ear fluid

Table 2 Results of gram staining in 173 children with antibiotic therapy within 2 weeks

	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		<i>Haemophilus influenzae</i>	
	NPS	MEF	NPS	MEF
Sensitivity (%)	80.7	57.7	64.9	37.5
Specificity (%)	87.5	96.7	95.2	98.1

NPS; nasopharyngeal secretions  
MEF; middle ear fluid

考 察

グラム染色は，1884年にChristian Gramにより開発され，最も迅速かつ有用な検査法の一つであり，現在でも臨床の現場で広く用いられてい

る<sup>3)</sup>。また、グラム染色は菌の形態や染色性を観察するだけでなく、炎症の有無や、原因菌の特定、治療効果の判定など、多くの所見を得ることが出来る検査法でもある。

今回、反復例や重症例の増加で問題となっている小児急性中耳炎症例を対象として、グラム染色による起炎菌推定について検討した。鼻咽腔ぬぐい液を用いたグラム染色では、肺炎球菌、インフルエンザ菌とも感度、特異度は良好で、インフルエンザ菌の感度65%以外はすべて80%以上であり、起炎菌推定に有用と考えられた。一方、中耳貯留液では、特異度はどちらの菌種も95%以上と高値であったが、鼻咽腔ぬぐい液と比べ感度が低く、特にインフルエンザ菌では37%と低値であった。この原因として、中耳貯留液の検体量が限られること、鼓膜切開により検体中に血球成分が多くなるとグラム陰性菌は判別しにくいこと、が挙げられる。感度をより上げるためには検体採取時に血液の混入をできるだけ少なくする意識が必要であろう。

2週間以内の抗菌薬投与の有無によって、感度、特異度に変化はみられなかった。抗菌薬前投与による細菌培養分離率低下の影響とも考えられるが、前投与があってもグラム染色による迅速診断を施行することに支障はないと考えられる。

耳鼻科領域における市中感染症の代表的な起炎菌として、肺炎球菌、インフルエンザ菌、モラクセラ・カタラリスが挙げられる。これらの

菌はそれぞれ、グラム陽性双球菌（連鎖球菌）、グラム陰性短桿菌、グラム陰性双球菌として染色されることから、鏡検により鑑別が可能であり、急性中耳炎以外の市中感染症においてもグラム染色は有用と考えられる。多忙な日常診療の中で、グラム染色を行うことは困難かもしれないが、グラム染色検査キットも市販されており、より簡便に鏡検できるようになっている。グラム染色は感染症診断の基本となる検査であり、今後、多くの施設での施行が望まれる。

### 参 考 文 献

- 1) 小林俊光ほか：反復性中耳炎の病態と治療。耳鼻咽喉科展望 42：73-97, 1999
- 2) Murray PR, EJ Baron, MA Tenover, RH Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. ASM Press, Washington, D.C.
- 3) 柳原克紀：グラム染色，河野茂，平湯洋一（編）p266-71，ベットサイドで役立つ微生物検査ガイド，文光堂2006

連絡先：矢野 寿一

〒983-8520

仙台市宮城野区宮城野2-8-8

仙台医療センター臨床研究部ウイルスセンター

TEL&FAX 022-293-1173