

【原著・臨床】

口腔外科領域感染症における検査試料の品質、臨床的重症度と原因菌検出率との関連性について

金子 明寛¹⁾・山根 伸夫²⁾・椎木 一雄³⁾・松崎 薫⁴⁾・小林 寅詰⁴⁾・佐々木次郎¹⁾¹⁾ 東海大学医学部口腔外科*²⁾ 足利赤十字病院口腔外科³⁾ いわき市立総合磐城共立病院歯科口腔外科⁴⁾ 三菱化学ビーシーエル化学療法研究室

(平成9年7月31日受付・平成9年10月21日受理)

口腔感染症からの原因菌の検索は閉塞膿瘍から穿刺吸引により常在細菌の汚染を避けながら採取した試料を用いて検討を行っている。口腔は常在菌の汚染を受けやすい環境にあり、採取した試料の品質は原因菌の検出に影響すると考えられる。今回、検査材料の基準を新鮮度および品質度をもとに作成し、臨床症状とあわせて検討を行った。細菌学的に感染症状が明らかな検体すなわち菌量も多くさらに貪食像も観察された検体は原因菌の検出率も高かった。これらの検体からは、特に嫌気性菌の検出率が高かった。重症度と検出菌の関連性では、重症な症例ほど嫌気性菌の検出率が高かった。これらの結果から今回定めた品質基準と臨床症状は関連が深く診断的意義が高いと思われた。

Key words: 口腔感染症, 細菌学的試料の質, 閉塞膿瘍, 原因菌検出率

菌性感染症の原因菌は oral streptococci と嫌気性菌の混合感染によるものが多い。oral streptococci の中には *Streptococcus milleri* グループの検出が多く、嫌気性菌は *Peptostreptococcus* 属, *Prevotella* 属, *Porphyromonas* 属 および *Fusobacterium* 属などが多く認められる^{1,2)}。菌性感染症患者からの検体採取は常在細菌の汚染を避け閉塞膿瘍から穿刺吸引により行っているが、その中に存在する菌量や好中球による貪食の様子がそれぞれ異なる場合がある。主に呼吸器由来の材料については一定の基準を定め、検体の品質管理が行われているが当該領域では材料の採取法については統一されてきたが、厳密な品質管理は行われず、検査材料の品質については規定がなかったのが現状である。文献的にも細菌の集中同定で、検体を採取した後の輸送培地の違いと菌検出について比較を行った報告があるのみで³⁾、検査試料の基準と、臨床症状をあわせて検討した報告はみられなかった。そこで、今回4施設に限定して厳密な管理のもとに細菌学的検査を実施し、得られた検体の品質と原因菌の検出、さらには臨床症状との関連性を含めて詳細な検討を行ったので報告する。

I. 材料と方法

1. 検体採取と分離培養

1996年9月から1996年12月まで、いわき市立総合磐城共立病院歯科口腔外科、足利赤十字病院口腔外科、東海大学医学部口腔外科および、フジ写真フィルム健康管理センター歯科を受診した急性菌性感染症患

者46名の閉塞膿瘍から以下の方法で穿刺吸引を行い検体を採取し試料とした。すなわち、閉塞膿瘍周囲を簡易防湿した後、ポビドンヨードを用いて消毒し、18Gの針を用いて穿刺吸引を行った。得られた検体はただちに輸送培地であるシードチューブ®(栄研)に挿入した。試料は、各培地に画線塗沫を行い以下の通りに培養を行った。アネロコロンピアウサギ血液寒天培地(BBL)は、35℃3日から7日間嫌気培養、コロンピア羊血液寒天培地(BBL)およびチョコレートII寒天培地(BBL)は35℃、2日間炭酸ガス培養(10% CO₂)を行った。同定はApi STREP 20 (bio Mérieux) および VITEK system (bio Mérieux) を用いた。

2. 検査材料の基準

検査材料の基準は、新鮮度および品質度を喀痰検査法の指針に準拠して⁴⁾作成した。すなわち新鮮度は検体採取から処理までの保存日数が1日以内の検体をA、適切な輸送培地を使用して処理までの保存日数が3日以内の検体をB、そして、適切な輸送培地を使用して処理までの保存日数が4日以上以上の検体をC、とした。品質度は100倍の低倍率鏡検像で1視野に対し、好中球数が25以上の鏡検像を示したものをa、好中球数が10から25未満で扁平数が5以下の鏡検像をbおよび、好中球数が10未満の鏡検像をcとした。なお、1,000倍の鏡検像で菌量が1視野100以上で、好中球による貪食が強く認められたものは、原因菌の可能性が高い

ことから品質度を1段階あげた。

3. 重症度の判定基準

重症度については口腔外科領域感染症の効果判定基準⁵⁾にもとづく主治医判定で定めた。すなわち, 治療開始日の体温, 全身倦怠, 局所の発赤, 硬結, および自発痛の有無など9項目の臨床症状の最高評点合計が30点のスコアで, 治療開始日の評点合計が20点以上を重症, 16点以上から20点未満を中等症および15点以下を軽症と定めた。

II. 結 果

1. 検査材料の基準にもとづく品質分類

46検体を検査材料の基準にもとづいて分類した結果は下記の通りである。

Aaとした検体すなわち細菌学的に十分適している検体は24検体で, 総検体数の52.2%であった。AbまたはBaの検体すなわち細菌学的に適している検体は12検体で, 総検体数の26.1%であった。Bbとした検体は1検体で2.2%であった。Ac, Ca, BcおよびCbの検体すなわち細菌学的に適していない検体は9検体で, 総検体数の19.6%であった。

2. 検出菌

46検体からの検出菌のうち, 通性嫌気性菌, 好気性菌の検出菌および検出率をTable 1に, 嫌気性菌の成績をTable 2に示した。総検出数は195菌株で好気性菌70菌株, 嫌気性菌125菌株であった。好気性菌は*S. milleri*グループが30菌株でもっとも多く検出された(Table 1)。嫌気性菌は全検出菌の64%を占め*Prevotella*属が50菌株, *Peptostreptococcus*属が42菌株および*Porphyromonas*属が9菌株検出され, この3菌種で嫌気性菌の78%を占めた(Table 2)。

3. 検査材料の品質度にもとづく検出菌数

検査材料の基準にもとづく品質度と検出菌数をTable 3に示した。Aaとした検体すなわち細菌学的に十分適している24検体から好気性菌が37菌株検出され, 陽性率は58.3%, 嫌気性菌は24検体から76菌株検出され陽性率は91.7%であった。AbまたはBaの細菌学的に適している12検体から好気性菌が22菌株検出され, 陽性率は83.3%, 嫌気性菌は12検体から38菌株検出され陽性率は75.0%であった。母集団の数も少なく統計的な有意差は認められなかったが, 細菌学的に十分適しているAaの24検体の嫌気性菌陽性率は91.7%で, 細菌学的に適していないAc, Ca, BcおよびCbの9検体の嫌気性菌陽性率は77.3%で, 両者の検出率は異なる傾向が認められた。

4. 重症度別の検出菌数

重症度の判定は41症例で検討を行い, 主治医判定でAが重症, Bが中等症, Cが軽症, Dが軽症でさらに閉塞膿瘍から検体を採取する時に, 常在菌の汚染が疑える症例とした。その結果, 嫌気性菌の平均菌数は重

Table 1. Species of aerobic bacteria isolated from closed abscesses (Total: 46cases)

Organisms	No. of isolates (%)
<i>Streptococcus milleri</i> group	30 (42.3)
<i>S. intermedius</i>	15 (21.1)
<i>S. constellatus</i>	14 (19.7)
<i>S. anginosus</i>	1 (1.4)
Other streptococci	14 (19.7)
<i>S. mitis</i>	5 (7.0)
<i>S. oralis</i>	4 (5.6)
<i>S. sanguis</i>	2 (2.8)
<i>S. salivarius</i>	2 (2.8)
<i>S. adjacents</i>	1 (1.4)
<i>Gemella morbillorum</i>	5 (7.0)
<i>Gemella haemolysans</i>	4 (5.6)
<i>Neisseria</i> species	5 (7.0)
<i>Lactococcus cremoris</i>	4 (5.6)
<i>Stomatococcus</i> species	2 (2.8)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	3 (4.2)
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1 (1.4)
Aerobic gram positive rods	2 (2.8)
Non-glucose fermenting gram-negative rods	1 (1.4)

Table 2. Species of anaerobic bacteria isolated from closed abscesses (Total: 46 cases)

Organisms	No. of isolates (%)
<i>Prevotella</i>	50 (39.1)
<i>P. intermedia</i>	15 (11.7)
<i>P. oris</i>	11 (8.6)
<i>P. melaninogenica</i>	9 (7.0)
<i>P. oralis</i>	5 (3.9)
<i>P. buccae</i>	5 (3.9)
<i>Prevotella</i> species	5 (3.9)
<i>Peptostreptococcus</i>	42 (32.8)
<i>P. micros</i>	24 (18.8)
<i>P. anaerobius</i>	9 (7.0)
<i>P. magnus</i>	2 (1.6)
<i>Peptostreptococcus</i> species	7 (5.5)
<i>Porphyromonas</i>	9 (7.0)
<i>P. gingivaris</i>	5 (3.9)
<i>P. asaccharolytica</i>	3 (2.3)
<i>Porphyromonas</i> species	1 (0.8)
<i>Fusobacterium</i>	7 (5.5)
<i>F. nucleatum</i>	3 (2.3)
<i>F. necrophorum</i>	1 (0.8)
<i>Fusobacterium</i> species	3 (2.3)
<i>Veillonella parvula</i>	3 (2.3)
<i>Bacteroides</i> species	2 (1.6)
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 (0.8)
<i>Actinomyces israelii</i>	1 (0.8)
Anaerobic gram-positive rods	13 (10.2)

症と主治医が判定したものほど多く, Aで嫌気性菌の平均菌数は3.2菌数, Bで2.9菌数, Cで2.2菌数であった。なお, 今回採取した検体において軽症(c)例が少なかったため, 有意差検定は行わなかったが嫌気性菌の陽性率はAおよびBに高い傾向が認められた

Table 3. Microbiological findings of orofacial infection in relation to sample quality
(Total: 46 samples)

Grade	Aerobes		Anaerobes	
	average (no. of bacteria/sample)	positive (%)	average (no. of bacteria/sample)	positive (%)
Aa	1.5 (37/24)	58.3	3.2 (76/24)	91.7
Ab Ba	1.8 (22/12)	83.3	3.2 (38/12)	75.0
Bb	2.0 (2/ 1)	100	0 (0/ 1)	0
Ac · Ca · Bc · Cb	1.1 (10/ 9)	77.8	1.6 (14/ 9)	77.8

Aa: A sample that is less than one-day-old with a neutrophil count of 25 or more in each microscopic field (a sample sufficiently suitable for bacteriological examination)

Ab, Ba, and Bb: A sample that is less than three-day-old with a neutrophil count between 10 to 25 in each microscopic field (a sample suitable for bacteriological examination)

Ac, Ca, Bc, and Cb: A sample that has been kept for 3 days or more or has the neutrophil count in arange of 10 to 25 in each microscopic field (a sample unsuitable for bacteriological examination)

Table 4. Microbiological findings of orofacial infection in relation to clinical symptoms
(Total: 41 samples)

Clinical symptoms	Aerobes		Anaerobes	
	average (no. of bacteria/sample)	positive (%)	average (no. of bacteria/sample)	positive (%)
A	1.9 (37/20)	75.0	3.2 (64/20)	85.0
B	1.1 (16/14)	50.0	2.9 (41/14)	85.7
C	1.8 (9/ 5)	100	2.2 (11/ 5)	80.0
D	1.0 (2/ 2)	100	0 (0/ 2)	0

A: Severe cases, B: Moderate cases, C: Mild cases, D: Mild cases and those suspected to be contaminated with normal bacterial flora

(Table 4).

III. 考 察

今回実施施設を限定し、口腔外科領域感染症における細菌学的検討を採取材料の新鮮度および品質度を厳密に管理して検討を行った。これらの成績と過去の当該領域の臨床試験での細菌の集中同定の結果^{6,7)}を比べると今回の検討の方が検出菌数が多く、特に嫌気性菌の検出率が高かった。今回の結果は総検出菌数 195 菌株で、1 検体あたり平均検出数は 4.3 株で、好気性菌は 1.6 株、嫌気性菌は 2.8 株であった。過去の臨床試験のデータから任意に今回の検討と同じ 46 件を選び、検出菌数を比べると、過去の成績は、好気性菌 58 株、嫌気性菌 38 株で総検出菌数は 96 株と今回の約半分の検出であった。1 検体あたり平均検出数は、好気性菌 1.3 株、嫌気性菌 0.8 株の計 2.1 株の検出で、嫌気性菌のみを比較しても今回の嫌気性菌の検出は過去の約 3.5 倍となる。同様の集中同定でこのような違いが出た要因の 1 つは、検査材料の新鮮度に違いがあると考えられる。すなわち、今回の検討では、新鮮度 A とした検体採取から処理までの保存日数が 1 日以内の検体が 36 検体で、新鮮度 B とした、適切な輸送培地を使用して処理までの保存日数が 3 日以内の検体が 10 検体であった。このように保存日数が 1 日以内の検体が全検体数の約 80 % を占めたのに対して、過去の臨床試験時 46 件の

内訳は、A: 検体採取から処理までの保存日数が 1 日以内の検体が 21 検体で、B: 適切な輸送培地を使用して処理までの保存日数が 3 日以内の検体が 22 検体、C: 適切な輸送培地を使用しているが処理までの保存日数が 4 日以上たった検体が 3 例であった。このように、2 日から 3 日の検体が多く、保存日数が 1 日以内の検体は全検体数の約 45 % のみであった。この点が今回検討を行った試料と顕著な違いであった。嫌気性菌は従来から報告があるように検体採取から処理までの時間が検出に影響を与える⁸⁻¹⁰⁾。内野ら¹¹⁾は今回用いた輸送培地であるシードチューブ®(栄研)の検討で、*Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*などは 1 日から 2 日が保持能力の限界であると報告している。また、口腔レンサ球菌の *Streptococcus intermedius* と *P. micros* との混在においては、*P. micros* の減少に伴い *S. intermedius* も減少するとも報告している。この報告と今回の結果より考えて、適切な輸送培地を使用しても、採取から処理までの期間は 1 日以内が望ましいと思われた。

一方、口腔感染症の原因菌の決定では、検査材料が常在細菌の汚染を受けている可能性があるため閉塞膿瘍から穿刺吸引で得られた検体の菌量および食食など鏡検像の検討を行いこの所見を参考にすることが必要である。

喀痰の品質管理では、100 倍の低倍率鏡検像におい

て1視野に好中球が25個以上で、扁平上皮数が10から25以下の検体の培養(Geckler分類¹²⁾の第3群)が診断上有用であるとしている¹³⁾。我々は今回品質度の基準として、これらを参考にしたが、菌性感染症の閉塞膿瘍から得られた検体は喀痰と異なり、扁平上皮数は少ないため、5以下を基準として定め、主に好中球数で判定する基準を作成した。検査材料の品質度については、過去の臨床試験時のデータと比較検討を行っていないが、今回の検討では鏡検像より見て、細菌学的に感染症状が明らかな検体ほど菌量および貪食も3+以上が多く認められ、特に嫌気性菌の検出率が高かった。検出菌は*S. miller*グループと*Prevotella*属および*Peptostreptococcus*属などoral streptococciと嫌気性菌の複数感染症が多く認められた。検査材料の品質度がcで細菌学的に適していないとされた検体からは、菌の発育が認められない症例や、*Gemella morbillorum*など発育が認められても貪食が認められない症例などが見られた。これらの結果から今回定めた品質基準は診断的意識が高いと思われた。従来より、口腔感染症の検体採取は閉塞膿瘍より穿刺吸引を行い原因菌の決定を行っているが、特に、歯周組織炎、歯冠周囲炎などでは、閉塞膿瘍の形成が認められなかったり、閉塞膿瘍が認められても検体採取量が少なく、菌の同定ができたとしても、起炎菌が常在菌の発育なのか臨床的に苦慮することも多く見られる。現在使用されている口腔感染症の抗菌薬判定基準の細菌学的検討では、閉塞膿瘍からの検体採取は義務づけられているが、今回定めたような品質基準にもとづいた口腔感染症の抗菌薬判定基準については記載がなく、各臨床医の判断で行われてきた。今回の品質基準は診断的意義が高く、このような基準を口腔感染症の抗菌薬判定基準に導入することは必要なことと思われた。

重症度と検出菌の関連性では、好気性菌の平均菌数は重症例のAで1.9菌株、軽症例のCで1.8株と平均数に著しい違いは認められなかったが、嫌気性菌の平均菌数は重症例のAで3.2菌株、軽症例のCで2.2菌株と違いが認められた。今回、主治医が重症であると判定した症例では、軽症に比べ嫌気性菌の検出率が高

くなる傾向があり、重症度と嫌気性菌の検出率は正の相関を示すと思われた。

菌性感染症の原因菌検索では、採取材料の鏡検像を参考にするとともに、検体採取後速やかに検体処理を行う必要があると考えられた。

文 献

- 1) Lewis M A O, MacFalane T W, MacGowan D A: A microbiological and clinical review of the acute dentoalveolar abscess. Br. J. Oral. Maxillofac. Surg. 28: 359~366, 1990
- 2) van Winkelhoff A J, van Steenberg T J M, de Graff J: The role of blackpigmented *Bacteroides* in human oral infections, J. Clin. Periodontol 15: 145~155, 1988
- 3) 金子明寛, 山根信夫, 佐々木次郎, 他: panipenem/betamipronの基礎的・臨床的検討。Chemotherapy 39 (sup.3): 647~665, 1991
- 4) 斉藤 厚, 山口恵三, 渡部 彰, 他: 喀痰検査法の指針(案)一討議試料一第2回日本臨床微生物学総会シンポジウム 1 呼吸器感染症における起炎菌の決定方法。4~55, 1992
- 5) 高井 宏, 道 健一, 佐々木次郎, 他: 菌性感染症に対する抗生物質の効果判定基準について。歯薬療法 1: 120~160, 1982
- 6) 金子明寛, 椎木一雄, 坂本春生, 他: Cefteram pivoxil (CFTM-PI) 多施設臨床試験の分離菌株に対する細菌学的検討。歯薬療法 9: 113~122, 1990
- 7) 金子明寛, 佐々木次郎, 椎木一雄, 他: Cefditoren pivoxil (ME-1207) 多施設臨床試験の分離菌株に対する細菌学的検討。歯薬療法 11: 124~140, 1992
- 8) 板根やよい, 田中美智男, 浦 敏郎, 他: シードスワブの有用性に関する検討。臨床と細菌 11: 92~96, 1984
- 9) 草野朱美, 手塚孝一, 森 節子, 他: 各種の病原細菌の輸送条件に関する検討。臨床と微生物 12: 459~463, 1985
- 10) Loesche W J: Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria. Appl. Microbiol 8: 723~727, 1969
- 11) 内野卯津樹, 小林寅詰: 嫌気性輸送容器シードチューブ(栄研)の基礎的検討一複数菌存在時における保持能力の検討一。臨床と微生物 20: 569~581, 1993
- 12) Geckler R W: Microscopic and bacteriological comparison of paired sputa and transtracheal aspirates. J. Clin. Microbiol 6: 396~399, 1977
- 13) 後藤陽一郎: 喀痰の定量培養法一臨床的意義。日臨微誌 1: 94~99, 1991

Relationship among the quality of microbiological samples collected from patients with orofacial infections, clinical severity of the infection, and the rates of isolation of causative agents

Akihiro Kaneko¹⁾, Nobuo Yamane²⁾, Kazuo Shiiki³⁾, Kaoru Matsuzaki⁴⁾,
Intetsu Kobayashi⁴⁾ and Jiro Sasaki¹⁾

¹⁾ Department of Oral Surgery, School of Medicine, Tokai University, Bouseidai Isehara, Kanagawa 259-11, Japan

²⁾ Department of Dentistry and Oral Surgery, Ashikaga Red Cross Hospital

³⁾ Department of Dentistry and Oral Surgery, Iwaki Kyoritsu General Hospital

⁴⁾ Chemotherapy Division Mitsubishi Kagaku I. Inc.

For the identification of bacterial agents responsible for dental infections, samples are aspirated from closed abscesses by using aspiration needles, while avoiding contamination by the normal bacterial flora. The oral cavity is an environment that is readily contaminated with bacteria and it is necessary to constantly monitor the quality of the sample that has been collected. We prepared a standard for testing materials based on their freshness and quality and confirmed their correlation with the clinical symptoms. The percentage of isolation of causative agents was high and both bacterial volume and phagocytosis were rated over 3+ in the samples collected from those patients in whom infections had been bacteriologically confirmed. As for the correlation between severity and bacterial isolation, the percentage of isolation of anaerobic bacteria was high in proportion to the severity of the illness. In view of these findings, it was concluded that the standard of quality we set in this study has an important bearing on clinical symptoms and that such a standard is clinically significant. It is essential to consider the quality of the samples that have been collected when one attempts to isolate the right causative bacterial agents in orofacial infections.