

【原著・臨床】

インフルエンザに伴う急性中耳炎症例の検討

矢野 寿一¹⁾²⁾・末武 光子¹⁾・遠藤 廣子³⁾・高柳 玲子³⁾・小林 俊光⁴⁾¹⁾東北労災病院耳鼻咽喉科*²⁾国立仙台病院ウイルスセンター³⁾東北労災病院小児科⁴⁾東北大学大学院医学系研究科感覚器病態学講座耳鼻咽喉科学分野

(平成 15 年 5 月 9 日受付・平成 15 年 6 月 6 日受理)

インフルエンザにおける急性中耳炎合併頻度、急性中耳炎症例から分離される菌種、分離頻度、中耳貯留液中のインフルエンザウイルスの有無を検討した。

2001 年 2 月から 5 月まで (2001 年シーズン) と、2002 年 1 月から 6 月まで (2002 年シーズン) に、東北労災病院耳鼻科または小児科で A 型および B 型インフルエンザと診断された症例のうち、急性中耳炎を合併していた 2001 年シーズン 33 例 (A 型 7 例, B 型 26 例), 2002 年シーズン 66 例 (A 型 52 例, B 型 14 例), 計 99 症例を対象とした。急性中耳炎合併頻度は 2001 年シーズン A 型 10.9%, B 型 31.7%, 2002 年シーズン A 型 18.1%, B 型 7.3%, 全体で 15.8% であった。急性中耳炎合併例の平均年齢は 2001 年シーズン A 型 1.4 歳, B 型 3.2 歳, 2002 年シーズン A 型 1.7 歳, B 型 2.9 歳で、インフルエンザ患者の平均年齢 (2001 年シーズン A 型 5.3 歳, B 型 3.5 歳, 2002 年シーズン A 型 4.3 歳, B 型 7.4 歳) より低値であった。2 歳以下で特に合併率が高く、38.7% に達していた。対象 99 症例中、鼻咽腔拭い液 97 例, 中耳貯留液 80 例で細菌培養を実施し、*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* が検出された症例は、それぞれ 54 例, 34 例, 64 例および 11 例, 7 例, 3 例であった。中耳貯留液を検体にインフルエンザウイルスの有無について検討し、2001 年シーズン B 型 19 症例中 17 症例 (89.5%) で迅速診断キット陽性であった。2002 年シーズン A 型では、ウイルス培養, RT-PCR および迅速診断キットにより中耳貯留液中にインフルエンザウイルスが確認されたのは 43 症例中 10 例 (23.3%) で、2002 年シーズン B 型ではウイルス培養, 迅速診断キットで 13 症例中 6 例 (46.2%) が陽性であった。インフルエンザに伴う急性中耳炎では、低年齢児ほどその合併率は高値であった。また、シーズン・インフルエンザの型により頻度は異なるが、中耳貯留液中にもインフルエンザウイルスの存在が明らかであった。

Key words: 急性中耳炎, インフルエンザ, 迅速診断, ウイルス分離, RT-PCR 法

インフルエンザは重要な小児呼吸器ウイルス感染症で、しばしば肺炎や急性中耳炎を合併する。当科においてもインフルエンザ流行期には多数の急性中耳炎患者が来院する。しかし、インフルエンザに伴う急性中耳炎の合併頻度がどの程度か、また、合併する急性中耳炎はインフルエンザウイルスによるものか、細菌性二次感染なのかについてはこれまで十分検討されていない。そこでインフルエンザにおける急性中耳炎合併頻度、急性中耳炎症例から分離される菌種、分離頻度、中耳貯留液中のインフルエンザウイルスの有無を検討した。

I. 対象と方法

1. 対象

2001 年 2 月から 5 月まで (2001 年シーズン) と、2002 年 1 月から 6 月まで (2002 年シーズン) の 2 シーズンにおいて、東北労災病院耳鼻咽喉科または小児科で A 型インフルエンザおよび B 型インフルエンザと診断さ

れた患者は 625 症例で、2001 年シーズン 146 症例 (A 型 64 例 (平均 5.3 歳), B 型 82 例 (平均 3.5 歳), 全平均 4.3 歳), 2002 年シーズン 479 症例 (A 型 288 例 (平均 4.3 歳), B 型 191 例 (平均 7.4 歳), 全平均 5.3 歳) であった。このうち、急性中耳炎を合併していた 2001 年シーズン 33 例 (A 型 7 例, B 型 26 例), 2002 年シーズン 66 例 (A 型 52 例, B 型 14 例), 計 99 症例を対象とした (Table 1)。対象の平均年齢は 2001 年シーズン A 型 1.4 歳, B 型 3.2 歳, 2002 年シーズン A 型 1.7 歳, B 型 2.9 歳であった。

インフルエンザの診断は、2001 年シーズンはインフルエンザ OIA[®] (第一化学薬品) およびディレクティジェン FluA[®] (日本バクソンディッキンソン社) を使用し、インフルエンザ OIA[®]陽性で、ディレクティジェン FluA[®]陽性例を A 型インフルエンザウイルス感染症、

Table 1. Number of cases with acute otitis media

Season	Influenza A	Influenza B	Total
2001	7 (64)	26 (82)	33 (146)
2002	52 (288)	14 (191)	66 (479)
Total	59 (352)	40 (273)	99 (625)

(): the number of cases with influenza virus infection

インフルエンザ OIA[®]陽性で、ディレクティジェン FluA[®]陰性例を B 型インフルエンザウイルス感染症とした。2002 年シーズンはキャピリア FluA, B[®] (日本バクソンディッキンソン社) を使用し、キャピリア FluA[®]陽性を A 型インフルエンザウイルス感染症、キャピリア FluB[®]陽性を B 型インフルエンザウイルス感染症とした。検体は、鼻咽腔拭い液から採取し、それぞれのキットのプロトコールに準じて施行した。2002 年シーズンはさらに、インフルエンザウイルス分離培養も併用して A 型および B 型インフルエンザの診断を行った。

急性中耳炎の診断は耳鼻咽喉科医によって行い、鼓膜の発赤・膨隆のあるもの、または中耳貯留液が認められる症例とした。

2. 急性中耳炎合併例の背景

インフルエンザに急性中耳炎を合併した症例について、その頻度、年齢との関係、インフルエンザの型による違い、入院治療を要した頻度について検討した。

3. 急性中耳炎症例における鼻咽腔・中耳貯留液中の細菌分離培養

インフルエンザに急性中耳炎を合併した 99 症例のうち、鼻咽腔拭い液から 97 症例、中耳貯留液から 80 症例で、細菌分離培養を実施した。

肺炎球菌については、微量液体希釈法を用いて MIC を測定し、National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) の基準で、その penicillin G に対する感受性から、0.063 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下を PSSP (penicillin susceptible *Streptococcus pneumoniae*), 0.125~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を PISP (penicillin intermediate-resistant *S. pneumoniae*), 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を PRSP (penicillin resistant *S. pneumoniae*) と分類した¹⁾。*Haemophilus influenzae* については、まずディスク法で、ceftiofur または ampicillin (ABPC) 耐性と判定された株について、セフィナーゼディスク (日本バクソンディッキンソン社) で β -ラクタマーゼ産生の有無を、微量液体希釈法にて MIC を測定した。 β -ラクタマーゼ産生株を BLPAR (β -lactamase producing ampicillin resistant), β -ラクタマーゼ非産生で ABPC の MIC が 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の株を BLNAR (β -lactamase non-producing ampicillin resistant), β -ラクタマーゼ非産生で ABPC の MIC が 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下の株、またはディスク法にて ABPC 感性株を BLNAS (β -lactamase non

-producing ampicillin susceptible) と分類した。

4. 急性中耳炎症例における中耳貯留液中のインフルエンザウイルス

1) インフルエンザ迅速診断キット

2001 年シーズンの B 型インフルエンザ 26 症例のうち 19 症例をインフルエンザ OIA[®]で、2002 年シーズンの症例については、A 型 20 例、B 型 8 例をキャピリア FluA, B[®]を用いて、中耳貯留液を検体としてインフルエンザウイルスの有無を確認した。

2) インフルエンザウイルス分離培養

2002 年シーズンの症例について、A 型インフルエンザ 52 症例中 43 症例に、B 型インフルエンザ 14 症例中 13 症例において鼻咽腔拭い液および中耳貯留液からインフルエンザウイルス分離培養を試みた。鼻咽腔拭い液および中耳貯留液を、0.5% Gelatin 加 Eagle's MEM (SIGMA) に penicillin G および streptomycin をそれぞれ 100 u/mL, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に加えた保存液中に採取し、3,000 回転 15 分遠心後、その上清を 3.5% trypsin 加 Eagle's MEM 溶液中の Mardin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞に接種、34°C 5% CO₂ 孵卵器で培養し、細胞変性効果 (CPE) の有無を観察した。CPE が確認された培養上清について、七面鳥赤血球を用いた凝集試験を行い、凝集活性が認められたものについて、国立感染症研究所より分与された 2001/02 シーズン検査キットのフェレット抗血清を用いて赤血球凝集抑制試験を行い、A 型および B 型インフルエンザウイルスを同定した。

3) RT-PCR

2002 年シーズンの A 型インフルエンザ 52 症例中 43 症例について、中耳貯留液から A 型インフルエンザウイルスの検出を目的に RT-PCR を施行した。検体を採取した保存液を材料として、RNeasy Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出した。RT-PCR は、One Step RNA PCR Kit (タカラバイオ) を使用し、M 蛋白遺伝子領域で設定したプライマー²⁾を用いた。50°C 30 分逆転写反応させた後、94°C 2 分で逆転写酵素を失活させ、94°C 30 秒、50°C 30 秒、72°C 1 分のサイクルを 30 回行った。反応後、1.2% アガロースゲル電気泳動後に紫外線下で観察し、M 蛋白遺伝子 310 bp のバンドの有無を確認した。

II. 結 果

1. 急性中耳炎合併頻度と年齢

各シーズンの A 型、および B 型インフルエンザ患者数と急性中耳炎合併頻度をそれぞれ Fig. 1 に年齢別に示した。合併頻度は 2001 年シーズンの A 型インフルエンザ 64 例中 7 例 (10.9%)、B 型インフルエンザ 82 例中 26 例 (31.7%)、2002 年シーズンの A 型インフルエンザ 288 例中 52 例 (18.1%)、B 型インフルエンザ 191 例中 14 例 (7.3%) であった。

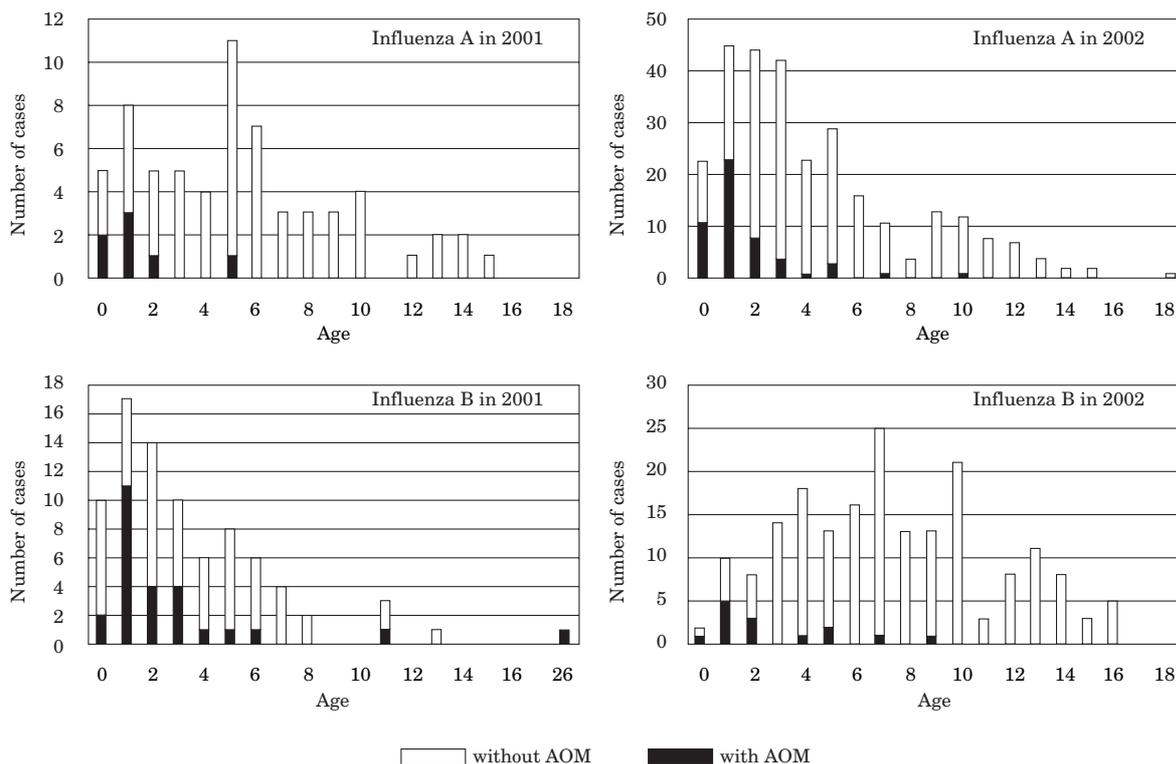


Fig. 1. Age distribution and number of cases with influenza virus infection with and without AOM.

2001年シーズンのインフルエンザ患者（平均年齢A型5.3歳、B型3.5歳）のうち、急性中耳炎を合併した症例の平均年齢はそれぞれ1.4歳、3.2歳であった。2002年シーズン（平均年齢A型4.3歳、B型7.4歳）での急性中耳炎合併症例では、平均年齢はそれぞれ1.7歳、2.9歳であった。両シーズンとも急性中耳炎合併症例の平均年齢の方がより低値であった。

今回入院治療を要した症例数は、2001年シーズン16例（48.5%）、2002年シーズン24例（36.3%）で、平均年齢はそれぞれ3.8歳と1.3歳であった。

2. 分離菌

鼻咽腔拭い液から細菌培養を実施した97症例中95

例で細菌が検出され、重複例を含め、*S. pneumoniae* 54例、*H. influenzae* 34例、*Moraxella catarrhalis* 64例であった。一方、中耳貯留液では80例中51例（63.4%）が菌陰性で、*S. pneumoniae*、*H. influenzae*、*M. catarrhalis*は、それぞれ11例、7例、3例から検出されたのみであった。入院を要した症例では、中耳貯留液中からの分離菌は*S. pneumoniae* 7症例、*H. influenzae* 3症例、*M. catarrhalis* 1症例であった。Table 2に、鼻咽腔拭い液、中耳貯留液からの分離菌の結果を示した。

3. 中耳貯留液中のインフルエンザウイルス

2001年シーズンのB型インフルエンザ症例で、中耳貯留液を検体としてインフルエンザOIA®によるインフルエンザウイルス迅速診断を行い、19症例中17症例（89.5%）が陽性であった。

2002年シーズンのA型インフルエンザ症例では、中耳貯留液を検体としてウイルス培養、およびRT-PCRを施行した43症例のうち、それぞれ6症例および7症例が陽性であった。また、中耳貯留液を検体としてキャピリアFluA®を施行した20症例中、5例が陽性であった。すなわち、中耳貯留液から上記いずれかの方法のうち、少なくともひとつでA型インフルエンザウイルスが確認されたのは43症例中10症例（23.3%）であった（Table 3, No. 1~10）。

一方、2002年シーズンB型インフルエンザ罹患急性中耳炎症例14例のうち、中耳貯留液を検体としてキャピリアFluB®を施行した8症例中、4例が陽性であった。また、中耳貯留液ウイルス培養は13症例中、2例で陽

Table 2. Isolates from nasopharynx and middle ear effusion

	NS	MEE
<i>S. pneumoniae</i>	54 (20)	11 (7)
PSSP	18 (4)	5 (3)
PISP	26 (12)	3 (2)
PRSP	10 (4)	3 (2)
<i>H. influenzae</i>	34 (15)	7 (3)
BLNAS	23 (9)	5 (2)
BLNAR	10 (6)	2 (1)
BLP	1 (0)	0 (0)
<i>M. catarrhalis</i>	64 (27)	3 (1)
Others	26 (10)	5 (1)
Negative	2 (2)	51 (19)
Total	180 (74)	77 (31)

NS: Nasal swab, MEE: Middle ear effusion

(): hospitalized patients

Table 3. The positive cases of influenza virus from middle ear effusion in 2002

No.	Sex	Age	Detection kit		Viral culture		RT-PCR	Bacterial culture	
			NS	MEE	NS	MEE	MEE	NS	MEE
1	M	0	A	A	A	(-)	(-)	(-)	(-)
2	M	1	A	A	(-)	(-)	A	MC	CNS
3	F	0	A	A	A	A	A	MC, Cory	(-)
4	F	1	B	A/B	RSV	(-)	(-)	PSSP, BLNAS, MC	PSSP
5	F	2	A	A/B	A	A	A	PSSP, MC	(-)
6	F	2			A	A	A	PISP, MC	(-)
7	F	3	A		A	A	A	PSSP, HP, Cory	(-)
8	F	3	A		A	A	A	BLNAS, MC	(-)
9	M	2	A		A	A	(-)	PISP, MC	(-)
10	M	0	A		B	B	A	MC	(-)
11	F	1	A	B	A	(-)	(-)	PSSP, BLNAS, MC, Cory	(-)
12	M	1	A	B	A	(-)	(-)	PISP, MC	(-)
13	M	5			(-)	B	(-)	PISP	PISP

NS: Nasal swab, MEE: Middle ear effusion

(-): cannot isolate or detect any viral or bacterial species

RSV: Respiratory Syncytial Virus

MC: *Moraxella catarrhalis*

Cory: *Corynebacterium* spp.

CNS: Coagulase-negative staphylococci

HP: *H. parainfluenzae*

性であった。すなわち、中耳貯留液からいずれかの方法でB型インフルエンザウイルスが検出されたのは13症例中6症例(46.2%)であった(Table 3, No. 4, 5, 10~13)。

III. 考 察

1. インフルエンザにおける急性中耳炎合併頻度

近年、中耳貯留液中のウイルス検索も行われるようになりウイルス性中耳炎の存在が注目を集めるようになった³⁾。しかしインフルエンザ罹患者のどの程度に急性中耳炎が存在するのか、ウイルス性、細菌性の頻度はそれぞれどの程度かについての検討は十分行われていない。今回の2シーズンの検討では、急性中耳炎合併頻度はA型、B型あわせて625症例中99例、15.8%であった。2歳以下で合併率が高く、191症例中74例、38.7%に達していた。低年齢児のインフルエンザ罹患時には急性中耳炎の有無を確認する必要があると考えられる。

急性中耳炎の合併頻度はシーズン、インフルエンザの型によって異なっていた。すなわち2001年シーズンA型(64例中7例, 10.9%)、2002年シーズンB型(191例中14例, 7.3%)では合併頻度が低く、2001年シーズンB型(82例中26例, 31.7%)、2002年シーズンA型(288例中52例, 18.1%)で高い傾向がみられた。この理由については不明であるが、インフルエンザ罹患者の平均年齢が低い場合(2001年シーズンB型3.5歳、2002年シーズンA型4.3歳)に急性中耳炎の合併が多く、学童の占める割合が高く平均年齢が高い場合(2001年シーズンA型5.3歳、2002年シーズンB型7.4歳)は急性中耳炎の合併頻度は低くなっていた。流行するインフルエンザの型によって罹患する小児の年齢が異なる

ことが主な原因なのか、インフルエンザの型そのものによっても急性中耳炎の罹患しやすさに違いがあるのか、また使用する抗インフルエンザ薬による影響がどの程度あるのかについては今後さらに検討したい。

2. 分離菌

インフルエンザに急性中耳炎を合併した場合の鼻咽腔拭い液および中耳貯留液の分離菌を調べたところ、鼻咽腔拭い液からはほとんどの症例で*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*が単独または複数分離された。それに対し中耳貯留液からの菌陽性率は36%、三大起炎菌の分離頻度は26%に留まり、明らかに細菌性中耳炎と診断しえたものは全急性中耳炎の1/4であった。

中耳からの分離菌でもっとも多かったのは*S. pneumoniae*で11株、次いで*H. influenzae*7株であった。*M. catarrhalis*は鼻咽腔拭い液からは64株ともっとも多く分離されていたにもかかわらず中耳からは3株で、急性中耳炎を引き起こす病原菌としての重要度は低いと考えられた。Heikkinenら³⁾もインフルエンザに伴う急性中耳炎の中耳貯留液から*S. pneumoniae*が有意に高頻度に分離されることを報告しており、インフルエンザの二次感染における*S. pneumoniae*の重要性を認識すべきと思われる。われわれの検討でも中耳貯留液から細菌が分離された症例のうち、重症化のため入院を要したのは*S. pneumoniae*によるものももっとも頻度が高く11症例中7例であった。近年、*S. pneumoniae*は急速な薬剤耐性を獲得しており、PRSPによる重症中耳炎が大きな問題になっている^{4,5)}。インフルエンザ罹患に伴う肺炎球菌性中耳炎では重症化する可能性が高く

十分注意する必要がある。

3. 中耳貯留液中のインフルエンザウイルス

急性中耳炎の中耳貯留液中のインフルエンザウイルスについて Heikkinen ら³⁾は 456 例の急性中耳炎を検討し、インフルエンザのある急性中耳炎では 24 例中 10 例 (42%) でインフルエンザウイルスを検出するなど、インフルエンザウイルスそのものによる急性中耳炎の存在を示す報告が相次いでいる⁶⁻⁹⁾。今回のわれわれの検討ではウイルス分離、インフルエンザ迅速診断キット、RT-PCR 法いずれかが陽性を示したものは 2001 年シーズン B 型インフルエンザ 89.5%、2002 年シーズン A 型インフルエンザ 23.3%、B 型インフルエンザ 46.2% であった。シーズンやインフルエンザの型により検出頻度が異なっており、検索方法の統一を図って今後さらに検討する必要があるが、中耳貯留液からウイルス分離例があることからインフルエンザウイルスそのものによる急性中耳炎の存在は明らかであった。

現在、インフルエンザ迅速診断キットは多数発売されているが、その目的はインフルエンザウイルス感染症の診断であり、鼻咽腔や咽頭ぬぐい液を検体とした報告¹⁰⁻¹²⁾がほとんどで、インフルエンザウイルス性急性中耳炎の診断を目的として中耳貯留液を検体とした報告はない。ウイルス性中耳炎の存在を示唆する報告も採取した中耳貯留液からのウイルス分離や PCR あるいは RT-PCR 法の結果にもとづくものであるため、臨床の現場で急性中耳炎がウイルス性かどうかを即時に判定し、その結果を治療に反映する目的には使えない。また PRSP、BLNAR などの薬剤耐性菌の急増が急性中耳炎の重症化を引き起こし、抗菌薬使用の見直しが急務となっている近年、細菌性中耳炎、非細菌性中耳炎を識別し適切な治療を選択することはますます重要になっていると考えられる。その意味で中耳貯留液中のインフルエンザウイルスの検索に迅速診断キットを用いることは、意義あることと考える。しかし次々発売となる迅速診断キットの診断精度については十分な情報がないのが現状である。今回の検討では、2002 年シーズンの中耳貯留液からキャピリア FluA[®]が陽性であった 5 症例について、RT-PCR では 3 症例、ウイルス培養では 2 症例が陽性で、少なくともどちらかで検出された症例は 3 例あることから、中耳貯留液を検体としたキャピリア FluA[®]による迅速

診断は有用であると考えられた。しかし、2001 年シーズンのインフルエンザ OIA[®]が陽性の 17 例はウイルス培養や RT-PCR での裏づけがなく、2002 年シーズンのキャピリア FluB[®]陽性の 4 例は、ウイルス分離、RT-PCR が全例陰性で、疑陽性の可能性があるため、今後症例を重ね検討していきたい。

文 献

- 1) National Committiee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard—5 th ed; M 7-A 5, NCCLS, Wayne, Pennsylvania, USA, 2000
- 2) Cherian T, Bobo L, Steinhoff M C, et al.: Use of PCR—enzyme immunoassay for identification of influenza A virus matrix RNA in clinical samples negative for cultivable virus. *J Clin Microbiol* 32: 623~628, 1994
- 3) Heikkinen T, Thint M, Chonmaitree T: Prevalence of various respiratory viruses in the middle ear during acute otitis media. *N Engl J Med* 340: 260~264, 1999
- 4) 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。耳鼻咽喉科展望 42: 73~97, 1999
- 5) 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
- 6) Heikkinen T, Chonmaitree T: Increasing importance of viruses in acute otitis media. *Ann Med* 32: 157~163, 2000
- 7) Chonmaitree T, Heikkinen T: Role of viruses in middle—ear disease. *Ann N Y Acad Sci.* 830: 143~157, 1997
- 8) Chonmaitree T, Owen M J, Patel J A, et al.: Effect of viral respiratory tract infection on outcome of acute otitis media. *J Pediatr* 120: 856~862, 1992
- 9) Chonmaitree T, Owen M J, Howie V M: Respiratory viruses interfere with bacteriologic response to antibiotic in children with acute otitis media. *J Infect Dis* 162: 546~549, 1990
- 10) 清水英明, 渡邊寿美, 川上千春, 他: ELISA を用いた A 型インフルエンザウイルス迅速診断キットの検討。感染症誌 72: 827~833, 1998
- 11) 渡邊寿美, 清水英明, 川上千春, 他: インフルエンザウイルス抗原迅速検キットの検討。感染症誌 73: 1199~1204, 1999
- 12) 三田村敬子, 川上千春, 渡邊寿美: POCT によるインフルエンザ抗原検査。検査と技術 30: 443~448, 2002

Acute otitis media associated with influenza virus infection

Hisakazu Yano¹⁾²⁾, Mitsuko Suetake¹⁾, Hiroko Endo³⁾,
Reiko Takayanagi³⁾ and Toshimitsu Kobayashi⁴⁾

¹⁾Department of Otolaryngology, Tohoku Rosai Hospital, 4-3-21 Dainohara, Aoba-ku, Sendai 981-8563, Japan

²⁾Virus Research Center, National Sendai Hospital

³⁾Department of Pediatrics, Tohoku Rosai Hospital

⁴⁾Department of Otolaryngology, Tohoku University Graduate School of Medicine

We studied 99 children who were diagnosed as having acute otitis media (AOM) associated with influenza A and B virus infection at the Department of Otolaryngology and Pediatrics, Tohoku Rosai Hospital from February to May, 2001 (2001 Season) and from January to June, 2002 (2002 Season). The incidence of AOM were 10.9% of influenza A and 31.7% of influenza B in 2001 Season, and 18.1% of influenza A and 7.3% of influenza B in 2002 Season. The mean age of AOM were 1.4 years old of influenza A and 3.2 of influenza B in 2001 Season, and 1.7 of influenza A and 2.9 of influenza B in 2002 Season. In children below 2 years of age, the incidence of AOM was higher (38.7%). In 97 cases, 54 isolates of *Streptococcus pneumoniae*, 34 of *Haemophilus influenzae* and 64 of *Moraxella catarrhalis* were recovered from the nasal swab. In contrast, only 11 isolates of *S. pneumoniae*, 7 of *H. influenzae* and 3 of *M. catarrhalis* were recovered from the middle ear effusion (MEE) in 80 cases. In 19 cases of influenza B in 2001 Season in which influenza virus antigen detection from MEE were performed by using detection kit, 17 cases were positive. In 43 cases of influenza A in 2002 Season in which influenza virus antigen detection from MEE were performed by using detection kit, viral culture, or RT-PCR, 10 cases were positive in some methods. In 13 cases of influenza B in 2002 Season by detection kit or viral culture, 6 cases were positive. In conclusion, the cases with influenza virus infection were a high risk of AOM especially infant and young children. Our results suggest in some cases of influenza virus infection, the main etiology of AOM is influenza virus.