

小児下痢症患者からの腸管系病原菌の分離状況

青木紀子 田中 博 大瀬戸光明 浅井忠男
井上博雄 石丸啓朗*¹ 中野省三*¹

Isolation of enteropathogenic bacteria from pediatric patients with acute gastroenteritis

Noriko AOKI, Hiroshi TANAKA, Mitsuaki OSETO, Tadao ASAI
Hiroo INOUE, Yoshiro ISHIMARU*¹, Syozo NAKANO*¹

From January, 1997 to December, 2001, bacterial examinations were conducted on stool specimens from patients with acute gastroenteritis below eighteen years old at a pediatric clinic in Matsuyama city.

As the results, 371 enteropathogenic bacteria (diarrheagenic *E. coli*: 172 strains, *Salmonella* spp.: 61 strains and *Campyrobacter* spp.: 138 strains) were isolated in 352 out of 1,668 cases. Those enteropathogens were prevalent in summer. The most predominant O-serotype of diarrheagenic *E. coli* was O1 (80 strains, 46.5%) followed by O18 (21 strains, 12.2%). Only one case of enterohemorrhagic *E. coli* O26 (VT1) was detected. And of the detected *Salmonella* spp., the most predominant O-serotype was O9 (48 strains, 78.7%) followed by O7 (10 strains, 16.4%). As a clinical symptom of the patients with any enteropathogen, fever was highly observed in the cases with *Salmonella* spp. and *Campyrobacter* spp. And, it was noteworthy that bloody stools were observed in 26.6% of stools from the patients with *Campyrobacter* spp..

Keywords : acute gastroenteritis, diarrheagenic *E. coli*, *Salmonella*, *Campyrobacter*

はじめに

愛媛県感染症発生動向調査事業における最近 10 年間の感染性胃腸炎の患者報告数は、インフルエンザの流行があった 1995 年、1998 年をのぞき常に一位に位置し、2000 年には 17,759 人、2001 年には 16,277 人となっている。小児におけるウイルス性下痢症の病原体検出については随時本報に掲載されてきたが、下痢症はウイルス以外にもさまざまな病原体が起因となりうる疾患であるため、今回、我々は松山市内の小児科定点医療機関である一小児科医院における小児下痢症患者の糞便から腸管系病原菌の分離を試みた。そして分離された病原菌の年次別検出状況、季節的変動等と患者の年齢構成、臨床症状について調査した。

材料と方法

1. 検査材料

1997 年 1 月から 2001 年 12 月までの間に松山市内の感染症サーベイランスの小児科定点医療機関である I 小児

愛媛県立衛生環境研究所 松山市三番町 8 丁目 234 番地

*1 石丸小児科

科医院において感染性胃腸炎と診断された 18 歳以下の患者から採取された糞便を検体とした。

2. 細菌分離同定

調査対象細菌は赤痢菌、サルモネラ、下痢原性大腸菌、病原性ビブリオ（腸炎ビブリオ・コレラ菌等）、カンピロバクターとした。

糞便 1 白金耳を DHL, MLCB, TCBS, スキロー培地の各分離培地に直接塗抹し、37°C で一昼夜培養した。培養後、各選択培地上に発育したコロニーのうち、対象細菌が疑われるコロニーを釣菌し、常法¹⁾の生化学的性状試験により同定した。

なお下痢原性大腸菌は生化学的性状試験で大腸菌と同定された菌株 3～5 株を市販の病原性大腸菌免疫血清（デンカ生研 1 号セット）を用いて血清型別を実施し、その血清型により下痢原性大腸菌と推定した。さらに腸管出血性大腸菌の血清型と報告²⁾のある菌株と連絡表に血便と記載のあった検体から分離された大腸菌についてはラテックス凝集反応（デンカ生研）によりベロ毒素産生の有無を確認した。また、サルモネラについても同定された菌株を市販のサルモネラ免疫血清（デンカ生研 1 号セット）で血清型別した。一方、スキロー培地上に発育した

カンピロバクターが疑われるコロニーは、Gram 染色を行い、Gram 陰性のらせん状の形態を示す細菌をカンピロバクターとした。

3. 臨床症状及び便の状態

臨床症状および便の状態は、検体搬入時に添付される連絡表に記入のあった発熱、下痢、腹痛、嘔気、血便について有症者の割合を算出した。発熱は 37 度以上を発熱ありとした。

結 果

1. 年次別検出状況

1997 年 1 月から 2001 年 12 月までの 5 年間に松山市内の I 小児科医院において感染性胃腸炎と診断された 18 歳以下の患者から採取された糞便からの年次別病原菌検出状況を表 1 に示した。糞便 1,668 件中 352 件 (21.1%) から腸管系病原菌が検出された。年次別にみて検出率が最も高かったのは 2001 年の 24.6% で検出率が最も低かったのは 1998 年の 16.9% であった。最も高頻度に検出されたのは下痢原性大腸菌で 172 株、次いでカンピロバクター 138 株、サルモネラ 61 株であった。赤痢菌および病原性ビブリオは検出されなかった。下痢原性大腸菌の年次別検出率は 1998 年には 6.5% であったもののほかの年は 9.1 ~ 12.6% であった。サルモネラは 5 年間を通して 4% 以下で、特に 2000 年には 1.7% という低い検出率であった。カンピロバクターは 2000 年までは 7% 前後の検出率であったが、2001 年には 14.3% と倍増した。

2. 月別検出状況

下痢原性大腸菌、サルモネラおよびカンピロバクターについて 5 年間の累積月別病原菌検出数を図 1 に示す。下痢原性大腸菌は 5 月から増加し始め、6 月でピークに達した後、9 月まで減少するが、12 月にふたたび第 2 のピークとなり年間を通して検出されている。同じくカンピロバクターも 3 月から増加し始め 5 月にピークに達し

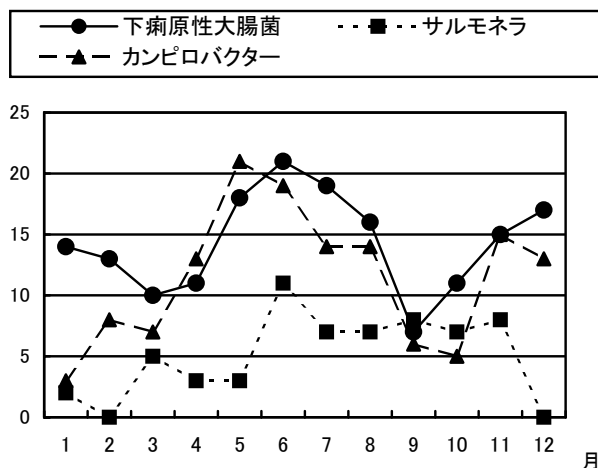


図 1 累積月別病原菌検出数 (1997 年 ~ 2001 年)

た後、10 月まで減少するが 11 月 12 月に再び増加していた。サルモネラは 5 年間を通して 12 月から 2 月の寒冷期には 2 件しか検出されておらず、明らかに夏季に多く検出された。

3. 下痢原性大腸菌の血清型別

下痢原性大腸菌の血清型別検出数を表 2 に示す。172 株中 O1 が 46.5% を占めた。次いで O18 が 21 株 (12.2%)、O6・O26・O111・O126 がそれぞれ 6 株ずつ検出された。腸管出血性大腸菌は 2001 年 9 月に O26 (VT1 産生株) が 1 例検出された。

4. サルモネラの血清型別

サルモネラの血清型別検出数を表 3 に示す。5 年間に検出された 61 株中 78.7% にあたる 48 株は O9 であった。O7 は 10 株検出されているが、その内 6 株は 1999 年の 3 月から 4 月にかけて検出された S.Oranienburg であった。残りの 4 株は 1998 年の 11 月に S.Tennessee が 2

表 1 年次別病原菌検出状況

年	1997	1998	1999	2000	2001	計
検 査 件 数	374	402	340	302	250	1668
病原菌検出検体数 (%)	85 (22.7)	68 (16.9)	79 (23.2)	58 (19.2)	62 (24.6)	352 (21.1)
下痢原性大腸菌 (%)	44 (11.8)	26 (6.5)	41 (12.1)	38 (12.6)	23 (9.1)	172 (10.3)
サルモネラ (%)	17 (4.5)	15 (3.7)	18 (5.3)	5 (1.7)	6 (2.4)	61 (3.7)
カンピロバクター (%)	29 (7.8)	29 (7.2)	24 (7.1)	20 (6.6)	36 (14.3)	138 (8.3)
分離菌株計	90	70	83	63	65	371

表2 下痢原性大腸菌の血清型別検出数

血清型	分離菌株数(%)
O1	80 (46.5)
O6	6 (3.5)
O8	3 (1.7)
O18	21 (12.2)
O20	1 (0.6)
O25	3 (1.7)
O26	6 (3.5)
O27	1 (0.6)
O28ac	3 (1.7)
O44	1 (0.6)
O55	2 (1.2)
O86a	5 (2.9)
O111	6 (3.5)
O114	4 (2.3)
O119	5 (2.9)
O124	1 (0.6)
O125	1 (0.6)
O126	6 (3.5)
O128	3 (1.7)
O146	2 (1.2)
O153	2 (1.2)
O159	3 (1.7)
O166	3 (1.7)
O167	2 (1.2)
O169	2 (1.2)
計	172 (100)

表3 サルモネラの血清型別検出数

血清型	分離菌株数(%)
O7	10 (16.4)
O8	1 (1.6)
O9	48 (78.7)
不明	2 (3.3)
計	61 (100)

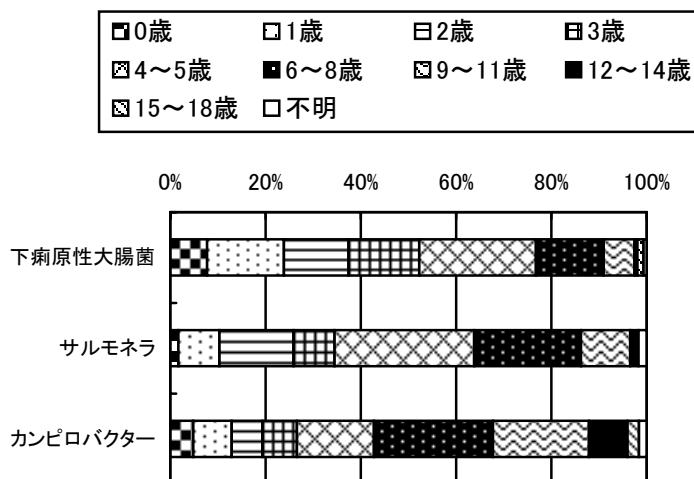


図2 病原菌検出患者における年齢構成

*他菌との重複検出患者除く

株 1999 年の 4 月と 6 月に一株ずつ *S. Infantis* が検出された。

5. 患者の年齢構成

病原菌が検出された患者の年齢構成を図2に示す。下痢原性大腸菌が検出された患者では3歳以下の乳幼児が52.3%を占めているのに対しサルモネラ、カンピロバクターではそれぞれ34.5%、26.6%であった。6歳から11歳の小学生の年代では下痢原性大腸菌が検出された患者は20.6%であるのに対し、カンピロバクターでは45.2%であった。

6. 患者の臨床症状

病原菌が検出された患者の主要症状の発症頻度と発熱の状況を図3、図4に示す。発熱は下痢原性大腸菌が検出された患者では55.5%の患者に認められたのに対し、サルモネラでは96.6%、カンピロバクターでは82.3%と高い率で認められた。サルモネラが検出された患者では、39℃以上の患者が43%を占め、40℃以上の患者も12.1%みられた。カンピロバクターでは39℃以上の患者は29%で40℃を超える患者も4.8%みられた。他の臨床症状として、下痢は各菌とも85%を越え、腹痛も各菌ほぼ半数の患者にみられる症状であった。嘔気は下痢原性大腸菌が検出された患者では26.5%であったが、カンピロバクターでは16.9%と低い割合であった。便の症状として血便はカンピロバクターが検出された患者において

26.6%と1/4の患者に認められた症状であった。

考 察

1997年1月から2001年12月までの5年間に感染性胃腸炎と診断された18歳以下の患者から採取された糞便1,668検体のうち352検体から371株の病原菌が検出された。年次別の検出率は16.9%から23.2%であった。他県等の報告^{3)~6)}に比べると低い検出率であったが、搬入された検体にはウイルス性の感染性胃腸炎が多く含まれていたためであると考えられた。

累積月別病原菌検出数から季節的変動を検討したところ、下痢原性大腸菌は夏季に多い傾向があるものの年間を通して検出された。また、カンピロバクターも春から秋にかけて多く検出されている。下痢原性大腸菌とカンピロバクターにおいては他県等とはほぼ同様の季節的な消長がみられた^{3)~6)}。サルモネラは、年間を通して検出され特に夏季に多く検出されているという他県の報告^{3)~5)}がある。今回の調査では5月から10月にかけての検出数が7割を占め、夏季に集中している点については同様の傾向がみられた。冬季における検出は非常に少なく、5年間を通して12月と2月には検出されなかった。しかし11月にも8株検出され、またサルモネラによる食中毒は11月に発生した事例⁷⁾もあり季節性が不明瞭になりつつあると思われた。今回の調査で1999年3月に検

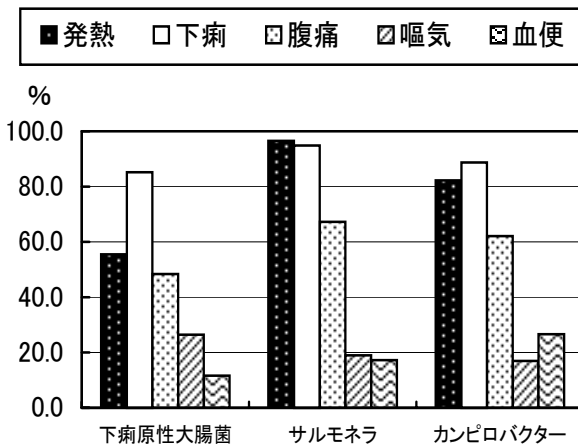


図3 病原菌検出患者における有症者割合
*他菌との重複検出患者除く

出されたサルモネラの5株はS.Oranienburgであった。これは1999年3月にイカ菓子を原因としたS.OranienburgとS.Chesterによる全国規模のdiffuse outbreakに関連した事例と推察された。県内にもこのdiffuse outbreakの波及が認められ、サルモネラ感染症患者からこれらの菌が検出された⁸⁾。

サルモネラの血清型については、大半がO9であった。今回の調査期間における県内でのサルモネラによる食中毒発生状況を表4に示した。5年間で発生した食中毒事件の1/4に当たる16件がサルモネラ(すべてS.Enteritidis)によるものであり、患者数も半数以上を占めていた。全国における食中毒の発生状況もS.Enteritidisによるものが8割前後を推移しているが⁷⁾、県内においてもS.Enteritidisが蔓延していると考えられる。

下痢原性大腸菌は現在、病原機序の違いによって腸管出血性大腸菌(EHEC)、腸管組織進入性大腸菌(EIEC)、腸管毒素原性大腸菌(ETEC)、腸管病原性大腸菌(EPEC)に大別されている。今回の調査では血清型別の結果から下痢原性大腸菌を推定しており、分離株の病原因子等の検索は実施していない。分離された菌株の血清型は、O1がほぼ半数を占め、次いでO18が高頻度にみられた。散発性下痢症患者からO1やO18が多く検出されるという傾向は他の報告^{4,6)}にもみられる。しかし、このO1やO18の血清型については下痢症患者のみならず健常人および健常乳幼児からも検出されていることや^{9,10)}、

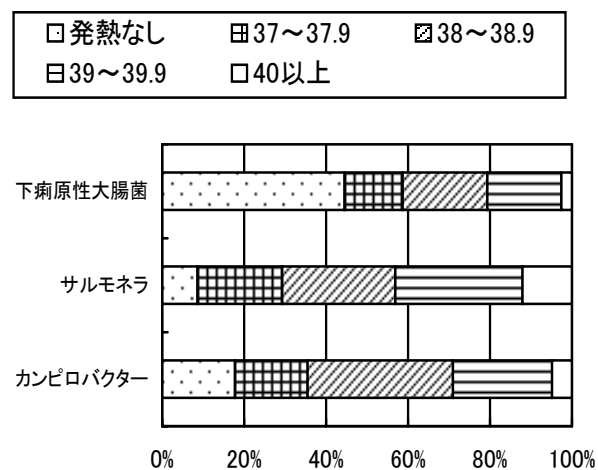


図4 各菌感染者における発熱の状況
*他菌との重複検出患者除く

また、最近では病原性関連遺伝子 eaeA, aggR, astA の保有状況と病原性の関連性についての報告^{10,11)}がみられ、これらの血清型菌が直接的な下痢の原因であるかどうかは上記病原因子等の検索も含め検討する必要があると考える。

病原菌が分離された患者の年齢分布をみると、下痢原性大腸菌は乳幼児から、またサルモネラやカンピロバクターは幼稚園年長児および小学生低学年という年代から比較的高く検出されたことはこれらの菌の感染経路が異なっているためと推察された。

感染性胃腸炎の主症状は発熱、下痢、腹痛、嘔気であるが、菌種によって若干違いが見られた。サルモネラ、カンピロバクターでは大半の患者に発熱がみられ、サルモネラにおいては39°C以上の患者が半数近くを占めたが、下痢原性大腸菌が検出された患者では発熱を呈した患者が約半数に過ぎず、その程度も比較的低めだった。しかし、嘔気ではサルモネラやカンピロバクターよりも下痢原性大腸菌が検出された患者において有症者の割合が多かった。下痢や腹痛に関しては菌種間での差はみられなかった。

血便は下痢原性大腸菌やサルモネラよりもカンピロバクター感染患者において多く見られた。血便は赤痢や腸管出血性大腸菌による感染でも見られるため、患者の症状や便の性状を確認することは検査手順上必要であると考えられる。

表4 サルモネラによる食中毒事件の発生状況

	1997	1998	1999	2000	2001	計
総発生件数	14	10	11	6	15	56
サルモネラによる発生件数	5	5	3	0	3	16
総患者数	812	1088	1483	282	227	3892
サルモネラによる患者数	450	394	1186	0	27	2057

まとめ

1. 1997年1月から2001年12月の間に小児下痢症患者の糞便1668件中352件(21.1%)から腸管系病原菌371株が検出され、その内訳は下痢原性大腸菌172株、カンピロバクター138株、サルモネラ61株であった。
2. 下痢原性大腸菌は6月、カンピロバクターは5月をピークに夏季に多く検出された。サルモネラは5月から10月にかけての検出数が7割近くを占めた。
3. 下痢原性大腸菌の血清型別はO1が46.5%、次いでO18が12.2%、O6・O26・O111・O126がそれぞれ3.5%ずつ検出され、サルモネラの血清型別はO9が78.7%を占め、O7が16.4%であった。
4. 下痢原性大腸菌は乳幼児、カンピロバクター、サルモネラは幼稚園年長児および小学生の年代に多かった。病原菌が検出された患者における臨床症状は検出菌により若干の違いが見られた。サルモネラ、カンピロバクターでは大半の患者に発熱が見られ、特にサルモネラにおいては患者の半数近くは39度以上を呈した。血便は下痢原性大腸菌やサルモネラ感染患者においても見られる症状であったがカンピロバクター感染者においては26.6%の患者でみられた。

文 献

- 1) 善養寺浩ほか：腸管系病原菌の検査法，第4版．医学書院，東京，(1985)
- 2) 坂崎利一ほか：腸内細菌 下，第3版．104．近代出版，東京，(1992)
- 3) 武田正子ほか：高知衛研報，39：39-45 (1993)
- 4) 砂原千寿子ほか：香川衛研年報，23：37-40(1995)
- 5) 阿部義昭ほか：大分県衛生環境研究センター年報，27：98-100 (1999)
- 6) 吉田勲ほか：感染症学雑誌，72：599-608 (1998)
- 7) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，21，162-163 (2000)
- 8) 田中博ほか：日本食品微生物学会雑誌，18：135-140 (2001)
- 9) 木村晋亮ほか：感染症学雑誌，73：53-61 (1999)
- 10) 森屋一雄ほか：感染症学雑誌，74：134-142(2000)
- 11) 加藤玲ほか：感染症学雑誌，76：721-729 (2002)