

サルモネラ下痢症患者糞便中のサルモネラ菌数

野田裕之 大沼正行 三上美恵* 金子通治

Salmonella Cell Count in Feces of Patients with Sporadic Diarrhea

Hiroyuki NODA, Masayuki OHNUMA, Mie MIKAMI and Michiharu KANEKO

病院、療養所、老人養護施設、保育および育児施設などは、基礎疾患や年齢などの要因によってサルモネラ症が流行しやすい特殊環境である¹⁾。これらの施設では、少数菌の汚染食品でも感染しやすく、また、新生児保育室や小児科病棟ではヒトからヒトへの感染もおこるとされている¹⁾。通常、サルモネラ症の原因はサルモネラに汚染された飲食物の摂取によるが、前述のような病院や特殊施設などでは患者の糞便を感染源としたヒトからヒトへの糞口感染も考慮しなければならない。さらに、高齢化社会を迎え、自宅介護の増加による家庭内での感染にも注意する必要がある。

そこで、患者糞便を感染源と考え、その危険性を検討し、感染防止対策を有効に行うため、サルモネラが分離された散発下痢症患者の糞便を材料にサルモネラ菌数の測定を行い、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

1. 散発下痢症患者の糞便採取

平成11年6月から平成14年7月までに市立甲府病院でサルモネラが分離された散発下痢症患者57名の糞便

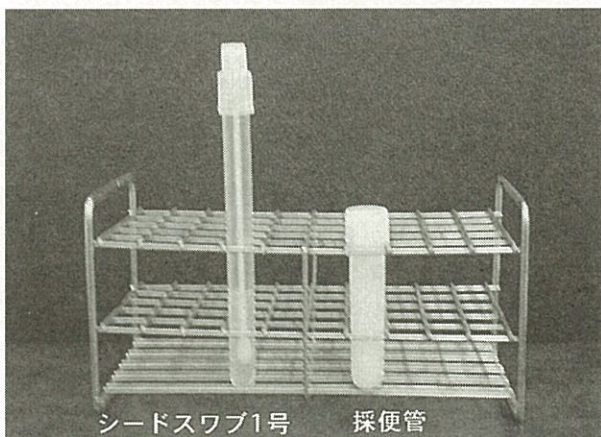


図1 糞便採取容器

を使用した。市立甲府病院では、糞便採取容器として図1に示したシードスワブ1号とサジ付採便管の2種類を使用しており、受診時に排便可能な場合は採便管で採取してもらい、排便できない場合はシードスワブ1号で直腸便を取ってもらうという方法で糞便採取を行っている。なお、採便管に糞便採取後、保存性を良くするため、キャリアブリア培地を重層した。

2. サルモネラの同定

サルモネラの同定は常法²⁾に従い、生化学的および血清学的性状からサルモネラを同定するとともに、その血清型を決定した。

3. サルモネラの菌数測定

糞便1gに生理食塩水9mlを加え、10倍希釈液を作製し、さらに生理食塩水で10倍段階希釈を行い、10⁶希釈液まで作製した。培地はSSB寒天培地とDHL寒天培地を使用し、コンラージ法とスパイラル法で培地に塗抹を行ったが、その方法は以下のとおりである。コンラージ法は、希釈液0.1mlを培地に滴下し、コンラージ棒で全面に塗抹し、スパイラル法は、オートプレート4000(グンゼ産業)を使用し、希釈液0.05mlを培地に塗抹した。35℃、18～24時間培養後、サルモネラを疑う黒色のコロニーを計測し、1gあたりの菌数を測定した。なお、サルモネラを疑うコロニーの約半数について、サルモネラであることの確認を行った。

結 果

1. 検査方法による違い

糞便57検体中菌数測定が可能だったのは、表1に示したようにSSB・コンラージ法(以下Sコ法と略す)で57検体すべて、SSB・スパイラル法(以下Sス法と略す)で55検体、DHL・コンラージ法(以下Dコ法と略す)で44検体、DHL・スパイラル法(以下Dス法と略す)で40検体であり、SSBと比較してDHLでは他の腸内細菌が

* : 市立甲府病院

多数発育し、測定不能となる場合が多くみられた。

菌数（以下菌数は1gあたり）は 10^7 の検体が最も多く、次いでDコ法以外は 10^6 、 10^5 の順で多く、平均菌数はSコ法、Sス法で 2.3×10^6 、Dコ法で 5.6×10^6 、Dス法で 8.5×10^6 と違いがみられた。しかし、4つの方法すべてで測定可能であった39検体で比較すると、表2のように平均菌数は $7.9 \times 10^6 \sim 9.0 \times 10^6$ と近い値であり、菌数オーダーも類似し、個々の実測値も1オーダー以下の違いであったので、検査方法（コンラージ法とスパイラル法、SSBとDHL、およびその組合せ）による菌数の違いはないと考えられた。

表1 検査方法による患者糞便（57検体）中の測定可能検体数およびサルモネラ菌数オーダー、平均菌数

	検査方法			
	SSBコンラージ	SSBスパイラル	DHLコンラージ	DHLスパイラル
測定可能検体数	57	55	44	40
菌数オーダー				
10^3	2	4	0	0
10^4	8	6	4	2
10^5	11	9	10	7
10^6	13	15	8	10
10^7	19	17	17	17
10^8	4	4	5	4
平均菌数 CFU/g	2.3×10^6	2.3×10^6	5.6×10^6	8.5×10^6

表2 検査方法による患者糞便（39検体）のサルモネラ菌数オーダーと平均菌数

	検査方法			
	SSBコンラージ	SSBスパイラル	DHLコンラージ	DHLスパイラル
菌数オーダー				
10^3	0	0	0	0
10^4	2	2	2	2
10^5	7	8	6	6
10^6	8	7	11	10
10^7	18	17	16	17
10^8	4	5	4	4
合計	39	39	39	39
平均菌数 CFU/g	8.0×10^6	8.7×10^6	7.9×10^6	9.0×10^6

2. 菌数オーダー

以下は計測された検体数が一番多かったSコ法の結果について検討した。表3に患者糞便のサルモネラ菌数オーダーと平均菌数を示した。最多菌数は 7.1×10^8 、最少菌数は 1.9×10^3 で、菌数オーダーは 10^7 が19検体（33.3%）と最多で、次いで 10^6 が13検体（22.8%）、 10^5 が11検体（19.3%）で $10^7 \sim 10^5$ の検体が75.4%を占めた。

表3 患者糞便のサルモネラ菌数オーダーと平均菌数

	検体数	%	備考
菌数オーダー			
10^3	2	3.5	最小菌数 1.9×10^3
10^4	8	14.0	
10^5	11	19.3	
10^6	13	22.8	
10^7	19	33.3	
10^8	4	7.0	最多菌数 7.1×10^8
合計	57	100	
平均菌数 CFU/g	2.3×10^6		

3. 年齢、季節による違い

年齢別のサルモネラ菌数オーダーと平均菌数を表4に示した。20歳以上で菌数オーダーにややばらつきがみられたが、平均菌数は0~4歳で 3.1×10^6 、5~9歳で 2.1×10^6 、10~19歳で 2.1×10^6 、20歳以上で 1.7×10^6 と年齢による差はほとんどなかった。表5に月別の検体数と平均菌数を示したが、検体数は6~8月に多かったものの、季節による平均菌数の明確な違いはみられなかった。

表4 年齢別のサルモネラ菌数オーダーと平均菌数

	年齢群 (歳)			
	0~4	5~9	10~19	20≤
菌数オーダー				
10^3	0	1	1	0
10^4	2	1	0	5
10^5	4	5	1	1
10^6	6	4	0	3
10^7	7	5	2	5
10^8	1	1	1	1
合計	20	17	5	15
平均菌数 CFU/g	3.1×10^6	2.1×10^6	2.1×10^6	1.7×10^6

表5 月別の検体数と平均菌数

月	検体数	平均菌数 CFU/g
1	0	—
2	2	5.9×10^6
3	2	5.0×10^6
4	2	1.4×10^8
5	1	7.4×10^3
6	11	6.4×10^6
7	14	3.0×10^6
8	10	1.8×10^6
9	5	5.2×10^5
10	6	2.1×10^5
11	2	1.7×10^6
12	2	8.9×10^6

4. 保存日数、採取容器による違い

表6に糞便の検査までの保存日数による違いを菌数オーダーと平均菌数で示したが、平均菌数は2~3日で 3.8×10^6 、4~5日で 2.7×10^6 、6~7日で 1.8×10^6 、8日以上で 8.4×10^5 と日数が増えるに従い平均菌数が減少していた。採取容器別の違いは表7のように、平均菌数はシードスワブ1号が 2.1×10^6 、採便管が 2.4×10^6 と近い数値であったが、菌数オーダーはシードスワブ1号で 10^7 、 10^6 の検体が多かったのに対し、採便管では $10^4 \sim 10^8$ に分布された。

5. 分離血清型による違い

表8に分離された血清型の株数と平均菌数（1株の血清型は実測値）を示した。分離血清型は12種類で最も多かったのはEnteritidis（以下SEと略す）で41株、

次いで Typhimurium 3 株, Braenderup, Saintpaul, Surat が 2 株, 他の血清型は 1 株ずつであった。血清型による違いを SE 41 検体と SE 以外の血清型 16 検体の平均菌数で比較すると SE は 1.2×10^6 , SE 以外の血清型は 1.1×10^7 と検体数や保存日数に違いがあるものの, SE 以外の血清型の方が平均菌数が多いという結果となった。

表 6 糞便の保存日数別の菌数オーダーと平均菌数

		糞便の保存日数(日)			
		2~3	4~5	6~7	8 ≤
菌数 オー ダー	10^3	1	0	1	0
	10^4	2	2	1	3
	10^5	4	4	2	1
	10^6	3	1	6	3
	10^7	7	6	4	2
	10^8	2	1	1	0
合計		19	14	15	9
平均菌数 CFU/g		3.8×10^6	2.7×10^6	1.8×10^6	8.4×10^5

表 7 採取容器別の菌数オーダーと平均菌数

		採取容器	
		シードスワブ1号	採便管
菌数 オー ダー	10^3	1	1
	10^4	4	4
	10^5	5	6
	10^6	10	3
	10^7	12	7
	10^8	1	3
合計		33	24
平均菌数 CFU/g		2.1×10^6	2.4×10^6

表 8 血清型別の株数と平均菌数

血清型	株数	糞便の平均保存日数	平均菌数 CFU/g
Enteritidis	41	5.8	1.2×10^6
Typhimurium	3	9.3	3.5×10^6
Braenderup	2	5	3.6×10^7
Saintpaul	2	4.5	1.8×10^7
Surat	2	5.5	5.2×10^7
Infantis	1	3	2.9×10^7
Bareilly	1	3	7.1×10^8
Dublin	1	4	6.0×10^8
Paratyphi B	1	2	5.1×10^7
Newport	1	6	1.3×10^6
Nagoya	1	4	2.7×10^6
Kottbus	1	3	3.1×10^5

考 察

サルモネラに対する感受性の高い小児や高齢者では, 汚染飲食物以外に患者糞便を感染源とする感染もおこりうると考え, その危険性を検討するため, サルモネラが分離された散発下痢症患者の糞便を使用し, サルモネラの菌数を測定した。

測定培地として SSB と DHL を使用したが, SSB と比較して DHL では他の腸内細菌が多数発育し, 測定不能となる場合が多くみられた。しかし, 両培地で測定可

能であった検体では菌数に大きな違いはなかった。糞便のサルモネラ菌数測定には選択性の強い SSB の方が適していた。また, 測定方法としてコンラージ法とスパイラル法を行ったが, 測定方法による菌数の違いはほとんどなかった。スパイラル法は操作も簡便で, コンラージ法と同等の結果が得られたので, 検査方法として有効であると考えられた。

散発下痢症患者 57 名のサルモネラ菌数は, 最多菌数が 7.1×10^8 , 最少菌数が 1.9×10^3 で, 菌数オーダーで多かったのは 10^7 が 33.3%, 10^6 が 22.8%, 10^5 が 19.3% であり, 下痢便中にはサルモネラが $10^5 \sim 10^7$ 存在する場合が多くみられた。成書によると, サルモネラによる急性胃腸炎では, 急性期の大便中への排菌は $10^6 \sim 10^9$ 個/g で, 回復につれて徐々にその菌数は減少する¹⁾ となっている。今回の成績は, この数値よりやや低い値となったが, その理由として, 後述するように検査まで長い日数保存された検体があったこと, シードスワブ1号で採取された直腸便では糞便量が少ないことが考えられた。

サルモネラ菌数を年齢別, 月別に検討したが, 明確な違いはみられなかった。小児および高齢者ではサルモネラ胃腸炎の症状は一般成人より重症である³⁾ とされるが, 菌数的には違いはみられなかった。ただし, 今回の検体では成人が少なく, とくに 70 歳以上の患者は含まれていなかったため, すべての年齢層の検討はできなかった。

糞便の検査までの保存日数が増えるに従い, 平均菌数が減少していた。正確なサルモネラ菌数を得るためには早期の測定が必要と考えられた。採取容器ではシードスワブ1号に比べて採便管で菌数のばらつきがみられた。採便管には保存性を良くするため, キャリブレア培地を重層したが, 糞便量の違いや保存日数の影響が大きいと考えられた。シードスワブ1号は直腸便を採取しているため, 全体的に糞便量が少なかったが, 菌数はまとまっていた。

血清型によるサルモネラ菌数の違いを SE と SE 以外の血清型で比較したところ, SE は 1.2×10^6 , SE 以外の血清型は 1.1×10^7 と SE 以外の血清型の方が平均菌数が多くなったが, 検体数や保存日数の違いがあるため, さらに検討が必要と考えられた。

今回の調査結果では, サルモネラによる下痢症状を呈している患者の糞便中には, サルモネラが 1g 当たり $10^5 \sim 10^7$ 存在する場合が多くみられ, 最多菌数は 7.1×10^8 と多量のサルモネラが含まれていることが判明した。サルモネラ症の発症菌量は通常 10^6 以上といわれているが, 実際例では $10^1 \sim 10^4$ と算出された事例もある¹⁾。さらに, 小児や高齢者では成人に対するよりもはるかに少数でも発症し, とくに新生児や基礎疾患のある高齢者では数個の菌でも十分な発症菌量となるとされている¹⁾。サルモネラに汚染された飲食物の摂取がサルモネラ症の主要な

原因ではあるが、今回の結果から感染しやすい乳幼児や高齢者では、患者糞便を感染源としたヒトからヒトへの接触感染や汚染された器具や媒介物を介した感染もおこりうると考えられた。サルモネラ症に限らないが、経口感染をとるタイプでは、とくに患者糞便は感染源として重要である。サルモネラによる飲食物以外の感染事例の報告は少ないが、米国でフルオロキノロン耐性サルモネラによる院内感染⁴⁾が発生している。耐性菌という特殊な事例ではあるが、ヒトからヒトへの感染がおこることが報告されている。また、サルモネラ排菌のある調理従事者の食中毒への関与については評価が困難である³⁾が、少数例ながら確認されている³⁾。食品従事者が糞便中にサルモネラを排菌し、とくに下痢症状を呈している場合は、直接食品を取り扱う業務を避けるべきである。なお、サルモネラと同様に経口感染をとるタイプとして、細菌性赤痢と腸管出血性大腸菌があるが、多くの二次感染事例が発生している⁵⁻⁶⁾。さらに、最近、腸管出血性大腸菌による保育園等での集団事例が報告され⁷⁻¹¹⁾、おむつ等の汚物の処理、ビニールプールでの汚染、手洗いの徹底などが指摘されており、感染しやすい小児の集団である保育園等では糞便汚染に対する注意が必要である。

患者糞便からの感染を防止するためには、手洗いの励行と消毒が重要である。例としては、①調理や食事の前、トイレや患者に触れた後は石けんで十分に手洗いをする②患者糞便を処理するときには使い捨て手袋かゴム手袋を使用し、直接手に触れないようにし、処理後にも手洗いと消毒をする③患者本人は食事の前、用便後に石けんを用いて十分に手を洗い、消毒をする④トイレの取っ手、ドアのノブ、水道の取っ手など患者が手を洗うまでに触

れた可能性のある部分を消毒する⑤患者が使用した衣類などは薬剤消毒あるいは煮沸してから洗濯する、などが挙げられる。入院患者、医療従事者および家族介護者は基本的な手洗い、消毒をはじめとする衛生的な取り扱いが大切である。

文 献

- 1) 坂崎利一, 田村和満: 食水系感染症と細菌性食中毒, p.100, p.110, 中央法規出版, 東京 (2000)
- 2) 厚生省監修: 微生物検査必携細菌・真菌検査, 第3版 p.D43~D54, 日本公衆衛生協会, 東京 (1987)
- 3) 仲西寿男: 食中毒性微生物, p.63, p.65, 産調出版, 東京 (1997)
- 4) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, 22, 201, (2001)
- 5) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, 22, 81~82, (2001)
- 6) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, 23, 137~138, (2002)
- 7) 橋本喜代一ら: 病原微生物検出情報, 23, 177~178, (2002)
- 8) 赤石尚一ら: 病原微生物検出情報, 23, 290~291, (2002)
- 9) 里見良二ら: 病原微生物検出情報, 23, 320, (2002)
- 10) 齋藤紀行ら: 病原微生物検出情報, 23, 320~321, (2002)
- 11) 山内昌弘ら: 病原微生物検出情報, 23, 321~322, (2002)