

## 乳幼児下痢症の電顕法によるウイルス検索について

山西 重機・高樹 正浩・水島 利治\*

Observation by Electron Microscopy of Diarrhea in Infants

SHIGEKI YAMANISHI et al.

### SUMMARY

Rotavirus diarrhea was found to occur often in patients between 6-18 months of age. The Rotavirus diarrhea season is between November and May and is found in Whitish (67.9%), Yellowish (70.6%) or Greenish stool (60.6%).

Adenovirus, like Rotavirus, is often found in Whitish stool and is most likely to occur between the ages of 6-18 months.

### 1. 緒 言

乳幼児下痢症のなかで、とくに急性下痢として古くから知られている冬期に流行する仮性コレラ、白色便性下痢症、感冒性下痢症などと呼ばれる症候群は、Rotavirusを主体とするウイルス性胃腸炎であることが、1973年のBishop以来、次第に明らかにされてきたが、本県においても冬期間に毎年のように流行をくりかえしているが、乳児を主とする傾向にあるため、時として重篤な症状を呈する場合もあり、そこで我々は、電顕法により、Rotavirusを主として、ウイルス分離からみた県下の流行の概要を報告する。

### 2. 調査方法

糞便からのRota virusなどの抽出精製はBishop<sup>1)</sup>の方法に準じ、また免疫電子顕微鏡法は、Kapikian<sup>2)</sup>の方法によりおこなった。IAHA(免疫粘着血球凝集反応)<sup>3)</sup>は、井上<sup>3)</sup>の方法によった。

### 3. 調査結果

#### 1. 小児仮性コレラの月別患者発生状況

表1は、高松小児感染症懇話会(病院8個所、医院5ヶ所)資料の患者発生集計のなかから、下痢症とくに小児仮性コレラを抽出したもので、例年ほぼ11月から4月にかけて発生し、厳寒期の1月、2月にかけて多発し、夏期においては患者発生をみることなく終息し、初冬にはいり、散発から流行へと、くりかえしているようである。

Table 1  
Monthly Distribution of Cases of Infantile Pseudocholera in Takamatsu City.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
S53								0	0	2	18	22
S54	82	41	22	2	0	0	0	0	0	0	7	50
S55	226	129	22	11	4	2	0	0	0			

#### 2. Rota virusの月別の分離状況

表2は、電子顕微鏡による乳幼児下痢症患者のRota virusの検索状況で分離率の高い時期は1月から4月にかけてで52.3%から、76.2%の陽性率で、患者発生集計と類似した傾向を示し、最後の分離は5月末日であった。

それ以降は、現在まで同様の検体について検索を行っているが、分離されていない。全体としては、昨年11月から本年5月までの検数175例中96例(54.9%)が分離された。

\* 松原小児科医院

Table 2  
Comparison by Month of Rotavirus Distribution

Months	Number in Sample	Positive Number	Percentage
October	1	0	0
November	8	2	25.0
December	19	7	36.8
January	49	31	63.3
February	42	25	59.5
March	23	12	52.3
April	21	16	76.2
May	13	3	23.0
June	22	0	0
July	23	0	0
August	17	0	0

### 3. Rota virusの年齢別分離状況

年齢による罹患状況を把握するために下痢症患者を生後の月数で分けると、表3のとおりで、生後13から18ヶ月が48例中38例(79.2%)で高く、生後6ヶ月未満児では、患者発生も少なく、検出のほとんどが、6ヶ月児であった。

また、生後37ヶ月以上児でも32例中6例(18.8%)の陽性で、もっとも年齢の高い患者は、6才児であった。

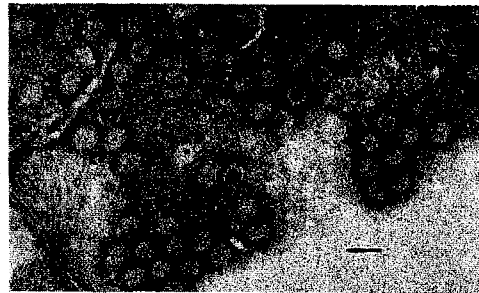


Photo 1  
Rota virus. Scale 100 nm. 1% Uranyl Acetate Stain.

Table 3  
Age Distribution of Patients with Rotavirus Gastroenteritis.

Age in months	Number in Sample	Positive Number	Percentage
0 - 6	21	12	57.1
7 - 12	49	28	57.1
13 - 18	48	38	79.2
19 - 24	11	7	63.6
25 - 30	6	3	50.0
31 - 36	6	2	33.3
More than 37	32	6	18.8

### 4. 便の色状別Rota virusの分離状況

検査材料の糞便を表4のように、白、緑、黄、茶の4区分に色状で分類して検出率の比較を試みると、白色系糞便67.9%、緑色系糞便60.0%、黄色系糞便70.6%と高率で類似した結果となり、とくに、いわれているように白色系糞便が高率にはならなかった。

また、茶色系糞便でも、40例中7例(17.5%)の分離

で、3才以上に茶色系糞便が多い傾向にあった。

Table 4  
Distribution According to Stool Color

Stool	Number in Sample	Positive Number	Percentage
Whitish	78	53	67.9
Greenish	20	12	60.0
Yellowish	34	24	70.6
Brownish	40	7	17.5

5. 患者血清中のRota virus抗体について

表5はRota virus患者血清中の抗体を調べたもので、回復期血清と分離Rota virusを抗原として免疫電顕法(IEM)により抗体を確認したもので粒子に抗体が附着し粒子の集積を認めることができた。また、患者組血清の採取できたものについて、IAHAで回復期血清の抗体上昇を確認した。IAHAに用いた抗原は、培養細胞(MA104)で培養したNCDVを濃縮したものである。急性期血清では、全てが1:10以下であったが回復期血清では、1:10~1:320で有意の上昇がみられたが抗体価は低い傾向にあった。

同時にHuman Rota virusの抗モルモット血清でもって、分離Rota virusに対して、IEMをおこないRota virusであることを確認した。

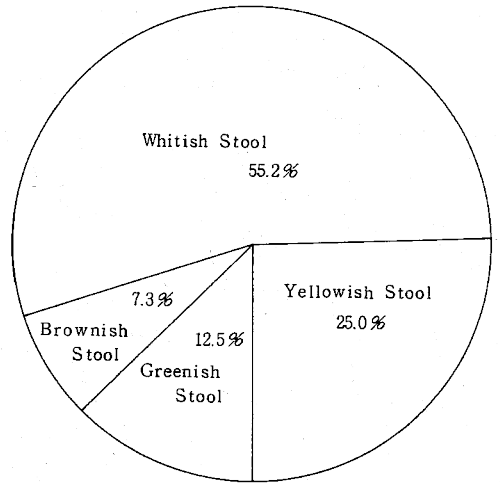


Fig 1  
About the Distrion of Positive Stool

Table 5  
Confirmation of Rotavirus Antibody in Patient Serum

Patient Number	E.M	I.E.M (Patient Serum)	I . A . H . A		I.E.M (HRV Anti Guinea Pig S)
			Acute Phase Serum	Convalescent Serum	
80011	+	+		160	+
80014	+	+		160	+
80024	+	±		10	+
80063	+	+	Less than 10	80	+
80092	+	+		40	+
80099	+		Less than 10		+
80108	+	+	Less than 10	80	+
80111	-	+	Less than 10	320	+
80114	+		Less than 10		+
80126	-	-	Less than 10	Less than 10	-
80134	+		Less than 10		+
80173	+	+		80	+
80178	+	+	Less than 10	80	+
80191	+	+		160	+
80213	+	+	Less than 10	320	+

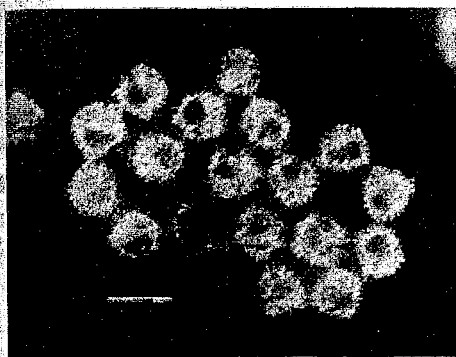


Photo 2  
IEM by HRV patient serum, Scale 100 nm.  
1% Uranyl Acetate Stain.

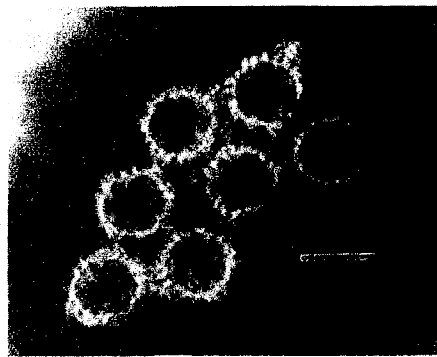


Photo 3  
IEM by HRV Anti Guinea pig Serum. Scale  
100 nm. 1% Uranyl Acetate Stain.

### 6. 発症から材料採取までの日時の経過

表6は、発症から糞便採取までの経過日数別に Rota virus陽性例を区分したもので、発症後2日から5日以内の採取で陽性例が多く、うち1例については、13日目に再度検索したところ Rota virus が分離されたが、1週間以上経過した患者では、そのほとんどが陰性という結果になった。



Photo 4  
NCDV. Scale 100 nm. 1% Uranyl Acetate Stain.

Table 6  
Excretion of Rotavirus in Stool Each Day  
After Onset of Illness

Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Total
Number	4	15	8	12	14	2	2	3	0	0	0	0	1	60

### 7. Rota virus下痢症の臨床について

Rota virus陽性患者60例について、その臨床をみると、表7のとおりで、熱発(37.5℃以上)は、29例48.3%で有熱期間は大部分が3日以内であった。

嘔吐については、44例73.3%に認められ、そのほとんどが3日以内であった。

下痢は全例に認められるが、いわゆる白色下痢便症状を呈したものは、32例53.3%であり、感冒様症状を示したものは、38例63.3%で、そのうち上気道炎症状は57.9%であった。重篤の脱水症状を呈した患者は、14例23.3%で、生後1才6ヶ月以下に多く、また発疹を伴ったも

Table 7  
Clinical Characteristics of  
Rotavirus Gastroenteritis

Case	Number in Sample	Percentage
Fever (>37°)	29/60	48.3
Vomiting	44/60	73.3
Diarrhea	60/60	100.0
White Stool	32/60	53.3
Respiratory Symptom	38/60	63.3
Dehydration	14/60	23.3
Exanthema	7/60	11.6

のが7名11.6%に認められた。

この患者のなかで潜伏期が考えられる例として、双生児（生後6ヶ月児）が1月10日、つづいて1月13日に3日間隔で発症、また同胞例（生後4才6ヶ月児と7ヶ月児）は1月20日と1月22日の2日間隔で発症している家族内感染事例があった。

#### 8. Rota virus陽性乳児の授乳による区分

表8は、生後1才以下の授乳しているRota virus陽性乳児32名についてみたもので、人工乳と母乳、人工乳の混合授乳している乳児が大部分を示し、人工乳22例（68.8%）、混合乳9例（28.1%）で、母乳を授乳している乳児ではRota virus陽性乳児は、ほとんど認められず、1例（3.1%）のみであった。

Table 8  
Apparence of Rotavirus  
According to Milk Type

Difference	Patient	Percentage
Breast milk	1/32	3.1
Combined Breast and Powdered Milk	9/32	28.1
Powdered Milk	22/32	68.8

Table 9  
Distribution of Adenovirus According to Age and Stool Color

Age in Month \ Stool	Whitish	Yellowish	Greenish	Brownish	Total
0 - 6	3				3
7 - 12	4	1			5
13 - 18	2	1	2	1	6
19 - 24					
25 - 30	1	1			2
31 - 36					
More than 37					
Total	10	3	2	1	16

#### 4. 考 察

冬期乳幼児下痢症は、動物による分離もしくは、組織培養法が不可能な状態で、ウイルスが原因であろうことは、古くから疑われていたが特定のウイルスが確認できずにきていたが、1973年のBishop<sup>4)</sup>らの生検小腸粘膜吸収上皮細胞内のウイルス粒子の発見以来Flewett、さらにKapikianらによって次第に明らかにされ、糞便中より、つぎつぎと同様のAgentがみつかり、現在まで報告

#### 9. Adeno virus陽性乳幼児の生後の月別と糞便の色状別分離状況について

乳幼児下痢症患者の糞便から電子顕微鏡によるAdeno virusの分離は、Rota virusの流行中は認められなかったが、終息した以降6月3例、7月8例、8月4例、9月1例で、これらを生後の年令と糞便材料の色状で、分類したのが、表9で、年令で見ると、生後1才6ヶ月児までが多く、糞便の色状では、白色系糞便が大部分をしめRota virusと同傾向であった。

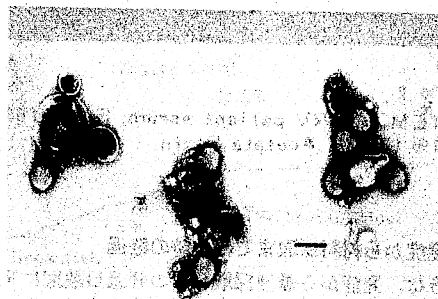


Photo 5  
Adeno virus. Scale 100 nm. 1% Uranyl Acetate Stain.

者によって、名称、構造に多少の差はあるが、Small particleも含め、報告が種々なされている。

本邦においても、鈴木、石田、今野、甲野、松野らによって、下痢症ウイルスの究明については、急速に進んでいる。

県下においても、ウイルス性下痢症の流行は、毎年みることができ、Rota virusを主因とするであろうことは、予想していたところである。

今冬の流行では、Rota virusを原因とする乳幼児下

痢症は、いわれているように<sup>6)</sup>11月から5月までの主として冬期間に発生、また患者発生の多い厳寒期ほど脱水症状などを伴う重篤患者が多く認められた。

また、下痢症患者の糞便からは少数例ではあるが、3例のSmall particle がみられ、Rota virus 流行後からはAdeno virus による下痢症がつづいた。しかし、Rota virus ほど分離されず流行という観はなく、また、virus 粒子数からも passenger virus とは考えられなかった。また5例について、糞便材料をヒト胎児腎細胞に接種したが、Adeno virus の増殖は認められず、培養は不成功であった。

また、これらの乳幼児のRota virus 感染は生後6ヶ月から1才6ヶ月までに多発するといわれているが同様に、1才から1才6ヶ月がRota virus 分離率が高かった。

陽性児の生後の最少月令は、2ヶ月児で、4月初旬、気管支炎の症状を呈していた。

最年長児は6才児で、原<sup>7)</sup>が報告しているように、小中学校就学児童における流行は、県下では確認できず、また、同年令層の下痢症患者糞便の電顕法によるRota virus 分離はできなかった。

仮性コレラ、白色便性下痢症として特徴づけられる白色系糞便は、Rota virus 陽性児96例中53例<sup>8)</sup>(55.2%)で、その分離率は、67.9%であり、勝島<sup>9)</sup>がいうように白色便即Rota virus 感染と考えることはできない。またAdeno virus 感染児でも白色系糞便が同様に60.0%を示している。これらRota virus 感染を患者血清中の抗体の面からみると、IAHA法では、回復期血清で有意の上昇がみられ、IAHAでは、1gM、1gG前期のaffinityが弱いためか、早い時期での回復期血清の採取では、抗体価上昇が低い傾向にある。

また臨床症状については、種々報告と同様であり、潜伏期については、家族内感染事例からみて、2~3日と<sup>9)</sup>考えられ、WHOのReport、Stein<sup>10)</sup>hoff、浦沢<sup>11)</sup>らのいうところと似かよった結果である。

## 5. 結 論

- 1) 県下のRota virus 下痢症は、11月から5月にかけて流行し、分離も同傾向で1月2月が多かった。
- 2) Rota virus 陽性患者を年令別に分けると、生後

6ヶ月から1才6ヶ月までが多く、また分離率も高かった。

3) 検査材料の便の色状は、白色系、緑色系、黄色系と分離率が高く、陽性便中での白色系の占める率は、55.2%であった。

4) IAHAで有意の抗体上昇がみられ、IEMでRota virusを確認することができた。

5) 発病からRota virus 分離までの日数は大部分が1週間以内であった。

6) 1才以下のRota virus 陽性患者の授乳状況については、母乳では低率で、人工乳では高率であった。

7) Adeno virus ではRota virus と同様で白色系糞便が多く、生後6ヶ月から1才6ヶ月児が大部分を占めている。

## 文 献

1. Bishop, R. F., et al : Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet*, i, 149~151, 1974
2. Kapikian, A. Z., et al. : Visualization by immune electron microscopy of a 27nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J. Virol.*, 10, 1075~1081, 1972
3. 井上 栄 : ルーチン検査のためのIAHA試験法の改良, 第26回日本ウイルス学会演説抄録, 211, 1978
4. Bishop, R. F., et al. : Virus particles in epithelial cell of duodenal mucosa from children with acute nonbacterial gastroenteritis, *Lancet*, ii, 1281~1283, 1973
5. 鈴木 栄 : 白痢 (いわゆる仮性小児コレラ) の臨床ウイルス学的研究, *臨床とウイルス* 1, 27~31, 1977
6. 北山 徹 : 感冒性下痢症, 小児の下痢症, 38~45, 1980
7. 原 稔 : 小学生を中心に流行した急性嘔吐下痢症と duovirus, *臨床とウイルス* 1, 51~57, 1977
8. 勝島矩子 : 新しいウイルス性下痢症, 小児の下痢症, 46~58, 1980
9. WHO Report : Rota virus and other viral Diarrhoeas, 1979
10. Mark C. Steinoff : Rota virus. The first five years, *The Journal of Pediatrics* 4, 611~622, 1980
11. 浦沢正三 : わが国におけるウイルス性下痢症, *臨床とウイルス* 4, 3~13, 1979