

健康新生児における腸内フローラの

形成と栄養法による差異の検討

旭川医科大学小児科学教室

吉岡 一 藤田 晃三
井関 憲一 坂田 宏

研究目的

栄養法が新生児の腸内細菌叢形成に本質的な影響を及ぼすかどうかを知るために、完全母乳栄養児と完全人工栄養児の2群について糞便の連日培養を行い、両者における腸内細菌叢の形成過程を比較検討した。

対象

旭川市内の同一産科医院で出生した、妊娠中および分娩時の合併症のない成熟新生児13名を対象とした。そのうち6名は完全母乳栄養児、7名は完全人工栄養児である。完全母乳栄養児は調整乳を全く投与せず、母乳来潮までは必要に応じて5%ブドウ糖液を与え、直接母乳で哺育された児であり、完全人工栄養児は母乳を与えず、すべて市販の調整粉乳を所定の濃度に溶解して作ったミルクを与えた児である。両者ともすべて経膈分娩で、妊娠週数、生下時体重、社会経済的状況、そのほかの点で差異がないと考えられた児である。

方法

両群の13名を対象として出生後1日目から6日目まで連日および1ヶ月健診時に滅菌採便棒を用いて無菌的に直腸内から採便し2時間以内に100%のCO₂内での嫌気条件下で培養操作を開始した。嫌気性非選択培地としてVLG培地¹⁾、ビフィズス菌(Bifidobacteria)選択培地としてMPN培地¹⁾、バクテロイデス(Bacteroidaceae)用にVancomycin 7.5 μg/mlとGentamicin 5 μg/mlを加えたものを用い、これらの培地はPre-reduced anaerobic sterilized培地として試験管内に作製した。検体はCO₂ガス噴射下で10倍階段希釈列を作り、それぞれから0.1mlを同様の条件下で各培地に加え、roll-tube法で管壁に培地を固まらせ培養した。ほかに平板寒天培地として、乳酸桿

菌(Lactobacilli)用にLBS培地、大腸菌群(Enterobacteriaceae)用にDHL寒天、ブドウ球菌(Staphylococci)用に110番培地、腸球菌(Enterococci)用にSF培地を使用し、希釈列の0.1mlを塗抹培養した。MPN培地は72時間、DHL寒天は24時間、そのほかの培地は48時間37°Cで培養した。LBS培地はGas-Pack法を用い、そのほかの寒天培地は通常の培養を行った。培養後のコロニーは、その形態、菌のGram染色性と形、選択培地における発育状況などから区別して^{2,3)}数え、糞便1g中の菌数を求めた。

結果

母乳栄養群と人工栄養群の出生後6日目までと生後1ヶ月時における各細菌群の菌数の平均値±SDを表1と表2に示した。また、その平均値の推移を図に示した。

母乳栄養児群では、生後1日目にまず大腸菌群が最も多い細菌群となりフローラを形成する。この時ビフィズス菌は10⁵/gしか認められない。その後日を経るに従って大腸菌群は次第に減少して行き、これにかわってビフィズス菌が急増し、生後5日目には両者の菌数が逆転して第6日目にはビフィズス菌が最優勢の構成菌となる。この時、大腸菌はほぼ10⁹/gでビフィズス菌の菌数の約1/1,000である。生後1ヶ月目では、ビフィズス菌はさらに増加し10¹¹/gのレベルとなり、やはり、大腸菌群の約1,000倍の値であった。

成人のフローラで最優性といわれるバクテロイデスは母乳栄養児では検出率も低く、検出された例でもその平均は10⁵/g以下であった。

人工栄養群でも生後1日目にフローラを形成するのは大腸菌群で、菌数は10⁸/gであった。しかし、母乳栄養児の場合と異なり、この菌数は生後6日目までほとんど変わらずに推移し、10⁹/g

以上の高値を保っていた。一方、ビフィズス菌は生後2～3日目から急増し始めるものの、大腸菌群には及ばず、第6日目でもなお約10倍少ない菌数であった。生後1ヶ月目ではビフィズス菌が大腸菌群の菌数を凌ぐものの、大腸菌群の菌数は $10^9/g$ と多く、ビフィズス菌は約10倍多い程度であった。また、人工栄養児群では、腸球菌、バクテロイデス、ブドウ球菌なども母乳栄養児群よりも菌数が多く認められた。

結 論

1. 母乳栄養児群でも人工栄養児群でも、生後最初に腸内フローラの最優勢菌を形成するのは大腸菌群であった。
2. 両群とも生後3日目からビフィズス菌が急増し始め、母乳栄養群では生後5日目を以降はビフィズス菌が最優勢のフローラが形成され、ほかの細菌群の菌数は少ない。一方、人工栄養児群では生後6日目でもなお大腸菌群が最優勢であり、生後1ヶ月でビフィズス菌優位となるものの、母乳栄養群の圧倒的なビフィズス菌優位のフローラに比べてその形成は弱い。
3. 大腸菌群のほか、バクテロイデス、腸球菌、ブドウ球菌などの菌群の糞便内菌数も、母乳栄養群では人工栄養群の1/10以下に抑えられていた。
4. 母乳栄養によるビフィズス菌優位の腸内フローラ形成は、大腸菌をはじめ新生児感染症の起炎菌となりうる菌の発育を抑制しその発病防止に役立っているものと考えられる。また、外来の細菌の定着および増殖を防ぐといった面でも重大な意味も持つものと考えられる。

文 献

1. Tanaka, R. and Mutai, M: Improved medium for selective isolation and enumeration of *Bifidobacterium*. Appl. Environ. Microbiol., 40: 866-869, 1980
2. Lennete, E.H., Balows, A., Hausler, W.Jr. and Truant, J.P.(ed.): Manual of clinical microbiology. 3rd ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C., 1980
3. Holdman, L.V, Cato, E.P., and Moore, W.E.C.(ed.): Anaerobic laboratory Manual. 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, 1977

Table 1. Fecal flora of breast-fed infants

	Age of Infants						
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	1 mo
No. of samples cultured	5	6	6	6	6	6	5
Total count	9.0 ± 1.1*	9.6 ± 0.5	9.4 ± 1.0	9.3 ± 0.3	9.5 ± 0.8	9.8 ± 0.9	11.3 ± 0.5
Bifidobacteria	5.0 ± 1.4 (2)†	5.5 ± 2.2 (5)	7.1 ± 2.1 (4)	7.2 ± 2.5 (5)	8.9 ± 1.8	9.7 ± 1.0	11.3 ± 0.5
Bacteroidaceae	4.1 ± 1.6 (3)	5.2 ± 1.2 (3)	3.3 ± 0.7 (3)	3.6 ± 1.8 (2)	4.2 ± 0.6 (2)	5.5 ± 3.3 (2)	8.1 ± 1.9
Lactobacilli	0	3.8 ± 0.1 (2)	4.7 ± 0.4 (3)	3.8 ± 1.1 (2)	3.9 (1)	4.3 (1)	8.7 ± 0.1 (2)
Enterobacteriaceae	8.8 ± 1.0	6.5 ± 2.2	8.5 ± 1.5	7.6 ± 1.4	7.7 ± 1.6	6.2 ± 1.5	8.4 ± 1.3
Enterococci	4.3 ± 2.3 (3)	7.3 ± 1.7 (5)	6.4 ± 1.9	6.4 ± 1.5	5.9 ± 1.4	5.7 ± 1.7	6.4 ± 2.4
Staphylococci	4.4 ± 1.0	4.5 ± 0.5	4.8 ± 0.9	4.7 ± 0.5 (4)	4.7 ± 0.8	5.0 ± 1.3 (4)	5.2 ± 1.2

* Values are means ± SD of log bacterial counts (when present).

† Number of infants with flora positive for the organism is shown in parentheses. Bacterial counts without values in parentheses indicate that the organism was isolated from all subjects.

Table 2. Fecal flora of bottle-fed infants

	Age of Infants						
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	1 mo
No. of samples cultured	6	7	7	7	7	7	6
Total count	8.9 ± 0.8*	9.9 ± 0.6	9.8 ± 0.5	10.1 ± 0.3	10.1 ± 1.0	10.1 ± 0.4	10.8 ± 0.5
Bifidobacteria	5.3 ± 2.6 (3)†	5.6 ± 2.6 (6)	7.6 ± 1.3	8.0 ± 2.5	7.7 ± 2.3	8.4 ± 1.6	10.5 ± 0.8
Bacteroidaceae	6.2 ± 2.5 (3)	5.9 ± 1.9	4.7 ± 2.4 (6)	5.0 ± 0.5 (4)	6.1 ± 2.2 (6)	5.8 ± 2.6 (3)	9.2 ± 0.2 (5)
Lactobacilli	0	4.6 ± 1.4 (3)	4.4 ± 0.2 (3)	4.4 ± 0.3 (3)	4.3 ± 0.6 (6)	4.4 ± 1.0 (4)	6.4 ± 3.3 (2)
Enterobacteriaceae	8.0 ± 1.3	9.7 ± 0.7	9.5 ± 0.4	9.2 ± 1.3	9.3 ± 1.1	9.3 ± 1.1	9.2 ± 0.9
Enterococci	0	7.6 ± 1.8	7.9 ± 1.1	7.7 ± 1.3	7.9 ± 1.8	8.3 ± 1.3	8.2 ± 2.5
Staphylococci	5.2 ± 0.9 (3)	5.0 ± 1.4	5.4 ± 0.8	5.1 ± 0.7	5.1 ± 0.8	5.1 ± 0.7	4.7 ± 1.1 (5)

* Values are means ± SD of log bacterial counts (when present).

† Number of infants with flora positive for the organism is shown in parentheses. Bacterial counts without values in parentheses indicate that the organism was isolated from all subjects.

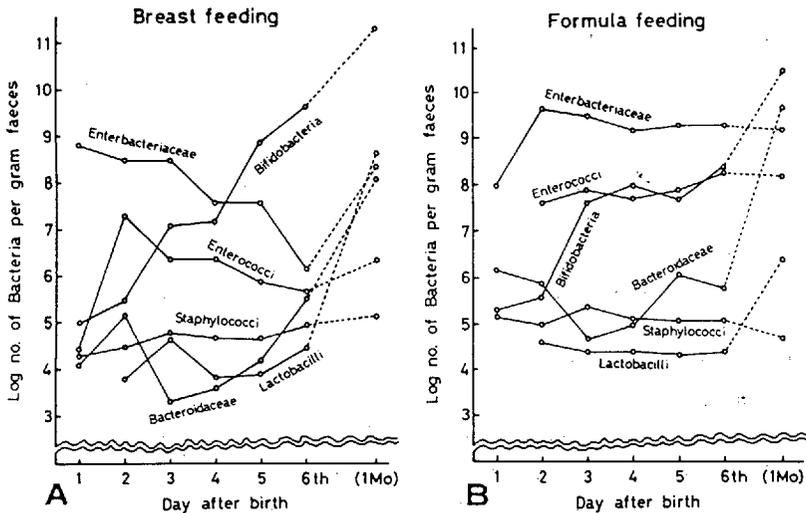
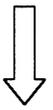


Figure. Changes in counts of individual bacterial groups in breast-fed (A) and bottle-fed (B) infants.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



研究目的

栄養法が新生児の腸内細菌叢形成に本質的な影響を及ぼすかどうかを知るために、完全母乳栄養児と完全人工栄養児の2群について糞便の連日培養を行い、両者における腸内細菌叢の形成過程を比較検討した。