

厚生科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業

髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究

平成 12 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山 井 志 朗

平成 13 (2001) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

- 髄膜炎菌性髄膜炎の発生动向調査及び検出方法の研究 1
山井志朗

II. 分担研究報告

1. 髄膜炎菌検査法の検討および普及 13

山井志朗、渡邊治雄、井上博雄

- (資料1) 病原性 *Neisseria* 属菌 (髄膜炎菌 *N. meningitidis*
および淋菌 *N. gonorrhoeae*) 検査マニュアル

- (資料2) *Haemophilus* 属菌の検査法

2. 検査法検討および健康保菌者調査 85

井上博雄

- (資料1) 調査材料採取のお願いについて

- (資料2) 調査協力承諾書

- (資料3-1) 福島県衛生公害研究所調査結果

- (資料3-2) 神奈川県衛生研究所調査結果

- (資料3-3) 石川県保健環境センター調査結果

- (資料3-4) 愛媛県立衛生環境研究所調査結果

- (資料3-5) 香川県衛生研究所調査結果

- (資料3-6) 大分県衛生環境研究センター調査結果

- (資料4) 健康保菌者 (大学生) 調査の経緯

3. 病院を対象とした髄膜炎患者と髄膜炎菌感染症の調査研究 97

嶋田甚五郎

- (資料1) 調査協力

- (資料2) アンケート調査

- (資料3) 髄膜炎菌感染症の診断に関するアンケート (診療科用)

- (資料4) 髄膜炎菌感染症の診断に関するアンケート (検査科用)

4. PCR 法による髄液・血液からの髄膜炎病原体の遺伝子検出の検討 105
鳴田甚五郎

5. 髄膜炎菌の分子疫学的マーカーを用いた解析方法の導入と確立に関する研究 . . 107
渡邊治雄

6. 髄膜炎菌の血清型の分布に関する研究 125
山井志朗

7. 髄膜炎菌の薬剤感受性の測定と耐性菌の出現に関する研究 129
山井志朗

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究
総括研究報告書

主任研究者 山井志朗 神奈川県衛生研究所細菌病理部長

研究要旨

細菌性髄膜炎の主要な原因細菌である髄膜炎菌の国内での発生・保有状況の把握、検査法の普及と検査並びに監視体制の確立、診断・治療法の検討を主体として、患者発生という健康危機管理状況に柔軟に対応できる体制づくりを目的として研究を行った。平成 12 年度は検査法の検討とマニュアルの作成、検査法の研修会の開催、健康保菌者調査並びに型別法の検討、診断法の検討、医療機関への髄膜炎菌感染症に関するアンケート調査等を行った。

分担研究者		益川邦彦	神奈川県衛生研究所長
渡邊治雄	国立感染症研究所細菌部長	浅井良夫	神奈川県衛生研究所
嶋田甚五郎	聖マリアンナ医科大学教授		臨床血清科長
井上博雄	愛媛県立衛生環境研究所長	渡辺祐子	神奈川県衛生研究所臨床血清科 主任研究員
研究協力者		黒木俊郎	神奈川県衛生研究所臨床血清科 主任研究員
加藤一雄	福島県衛生公害研究所長		
斉藤公男	福島県衛生公害研究所 微生物部長		
力田正二	福島県衛生公害研究所 微生物課長	A. 研究目的	
庄田丈夫	石川県保健環境センター所長		髄膜炎菌性髄膜炎は髄膜炎菌 (<i>Neisseria meningitidis</i>) を原因とする、主要な細菌性髄膜炎の一つであり、唯一集団発生あるいは流行を起こす髄膜炎であることから流行性髄膜炎とも呼ばれている。諸外国において髄膜炎菌性髄膜炎は細菌性髄膜炎のなかでも発生率が最も高く、しかも致命率が高いために、特に小児における細菌性髄膜炎の原因として、臨床的にも公衆衛生的にも重要視されている。髄膜炎菌感染症の中でも侵襲性髄膜炎菌感染症は髄膜炎や敗血症を呈し、現在でも致命率は10～15%を越える場合がある。過去30年間の先進国における髄膜炎菌感染症の発生率 (incidence) はおよそ1-3/100,000であり、発展途上国では10-25/100,000である ¹⁾ 。英国、フランスおよび米国においては近年でもそれぞれ年間1,100～1,500症例、300～400症例、2,400～3,000症例が報告され、致命率は10～15%、5～10%程度および10%に達している ²⁻⁴⁾ 。一方、アフリカ中部地域は髄膜炎ベルトと呼ばれるように
芹沢俊彦	石川県保健環境センター 主任研究員		
山西重機	香川県衛生研究所研究主幹		
野上文史	大分県衛生環境センター所長		
帆足喜久雄	大分県衛生環境センター 微生物部長		
田中 博	愛媛県立衛生環境研究所 微生物部細菌科長		
高橋英之	国立感染症研究所細菌部研究員		
山本啓之	聖マリアンナ医科大学微生物学 助教授		
金光敬二	聖マリアンナ医科大学微生物学 助手		
白石 眞	聖マリアンナ医科大学神経内科 大学院生		
池島秀明	聖マリアンナ医科大学神経内科 助手		
横尾 裕	デンカ生研株式会社生産本部		

多数の患者が発生し、流行時には発生率は1,000/100,000に達するとされている¹⁾。世界中では年間約50万人が発病し、うち約5万人が死に至ると推定されている。近年では、A群髄膜炎菌によるパンデミックがアフリカを中心にして発生し、またC群による集団発生がカナダ、米国および欧州諸国等で発生している。英国では1999年にC群髄膜炎菌による大規模な集団発生があり、1,500人が発症して150人が犠牲になったと推定されている。このことはマスコミにも取り上げられ、政治問題にまで発展して、ワクチンが導入された⁵⁾。世界的にB群髄膜炎菌による散発的な症例がもっとも多いが、B群の流行株による集団発生もある。こうした事態に対して海外ではA群やC群髄膜炎菌を中心にしたワクチンの開発が進められ、実用化されている。患者の治療にはペニシリンとクロラムフェニコールの併用や第3世代セフェム剤の投与が推奨されているが、世界的に耐性化の傾向がみられる¹⁾。

日本では1945年の4,384人をピークに年間1,000人を越える患者の報告があったが、その後1950～60年代に激減して現在に至っている。しかし、無症状の菌保有者や海外からの持ち込みによる潜在的な流行の発生の危険性が多く存在していることが予想される。また不確実な診断や検査体制の不備等により正確な情報が収集されないために患者数が把握されていない可能性があることが推察される。髄膜炎菌を対象にした調査研究が国内ではほとんどなく、患者発生やその病態、流行の有無、健康保菌者の割合等、その実態はまったく把握されていないため、包括的な研究が必要である。

本研究では、海外で多数発生しており、国内においても過去において多数発生していた髄膜炎菌性髄膜炎の症例が、近年において国内での症例報告数が少ない原因を探るとともに、検査法を検討してこれを地方衛生研究所に普及し、流行の発生と耐性菌出現等に対する監視体制を確立して現行の感染症発生動向調査事業において正確な情報の収集が可能となる体制の強化を図る。また、わが国における患者の病型の分布や健康保菌者の実態を把握し、感染症発生の潜在的な可能性を探る。さらに、耐性化の状況を調査して治療に必要

な情報の提供を行う。分離菌の疫学マーカーや病原性等の性状を解析することにより、これまでに得られなかった髄膜炎菌性髄膜炎に関する基礎的データを蓄積して、流行発生の可能性やワクチン導入の必要性を探ることも目的とした。

B. 研究方法

1. 検査法の普及 (分担：山井志朗、神奈川県衛生研究所細菌病理部長、渡邊治雄、国立感染症研究所細菌部長、井上博雄、愛媛県立衛生環境研究所長)

地方衛生研究所は地域の衛生行政における科学的・技術的中核機関としての機能を有し、感染症発生動向調査事業あるいは広く感染症に係る衛生行政においては病原体を解析するといった重要な役割を担っている。本研究では、全国の地方衛生研究所を中心とした髄膜炎菌の検査体制を確立することを目的として、導入することが適切と考えられる髄膜炎菌の標準的な検査法を検討した上で検査法マニュアルを作成した。これを用いて、地方衛生研究所の細菌検査担当者を対象にした検査法の普及のための研修会を全国4カ所で開催した。さらに、疫学的解析に必要な血清群別用血清の国内における安定的な供給を目的として、その作製を試みた。

1) 検査法の検討とマニュアルの作成

地方衛生研究所において標準的に採用できる髄膜炎菌検査法(鑑別法、型別法、保存法等)を検討した。検討は、成書、研修用テキスト、各種マニュアルを参考にし、実際に検査を進める際に容易に導入可能な方法を採用するように努めた。

検討した検査法に基づいてマニュアルを作成し、受講者に配付して研修会で使用した。

2) 検査法の研修会の開催

全国の地方衛生研究所への検査法の普及と検査体制の確立を目的として、地方衛生研究所の細菌検査担当者を対象にした研修会を開催した。研修会は2日間の日程で、全国4カ所で開催した。研修会の講師は本研究班の

研究者および協力研究者が務め、開催地へ出向いた。研修には上記の検査法マニュアルを使用し、マニュアルの評価を同時に行った。

3) 血清群別用血清の作製

髄膜炎菌の標準株を用いてウサギを免疫し、群別用血清の作製を試みた。血清の力価と特異性の確認はスライド凝集反応により行い、免疫に使用した菌株と分離株を用いて、各血清のスライド凝集反応による反応性を確認した。血清の交差性は免疫に用いた菌株の菌体を血清と混合して非特異凝集素を除去した。

2. 保菌者調査

1) 健康保菌者調査 (分担：井上博雄、愛媛県立衛生環境研究所)

福島県衛生公害研究所、神奈川県衛生研究所、石川県保健環境センター、香川県衛生研究所、愛媛県立衛生環境研究所、大分県衛生環境研究センターの6地方衛生研究所が調査を実施した。主として高校、短大、大学等に協力を求め、咽頭粘液を採取して調査材料とした。

咽頭粘液の採取に先立ち、研究の目的と得られたデータの扱いについて説明し、インフォームドコンセントとして協力者が「調査協力承諾書」に署名したものを回収した。承諾書が得られた協力者から咽頭粘液を滅菌綿棒で採取した。髄膜炎菌の分離・同定は、今年度各ブロックで行なわれた研修会での方法に準じて行なわれた。

2) 呼吸器感染症患者保菌者調査 (分担：嶋田甚五郎、聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授)

抗生物質の薬剤感受性調査において、一次医療機関である診療所および小規模病院を来院した呼吸器感染症患者の鼻咽頭検体から各種病原菌を分離し、薬剤感受性を調査している。この調査事業で採取された検体を用いて髄膜炎菌の分離を試み、呼吸器感染症患者における髄膜炎菌の保有状況を調査した。

3. アンケート調査 (分担：嶋田甚五郎、聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授)

患者の病態、病型の発生状況や分布を調査する目的で、救急告示病院で内科あるいは神経内科を設置する一般病床が100床以上の病院(2257施設)に対し、細菌性髄膜炎患者および髄膜炎菌の検出状況をアンケートにより調査した。

4. 診断法の検討 (分担：嶋田甚五郎、聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授)

患者の髄液および血液からPCR法で髄膜炎菌の遺伝子を検出することにより髄膜炎菌感染症の診断を行うための基礎的検討を行った。髄液や血液中のPCR法の阻害物質を除去するために用いる前処理法の有効性を検討した。

5. 病院における監視体制の検討 (分担：嶋田甚五郎、聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授)

髄膜炎菌患者サーベイとして、聖マリアンナ医科大学付属病院の神経内科、小児科および救命救急において、2000年6月以降に髄膜炎で入院した患者を精査した。

6. 疫学マーカーの検討

髄膜炎菌感染症に関する疫学調査、流行株の解析、健康者の保菌状況の解析等には疫学マーカーは不可欠である。髄膜炎菌の疫学マーカーには群別、Serotyping、Serosubtyping、Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLEE)、Multilocus Sequence Typing (MLST)が主として用いられている。当研究班では、疫学調査における詳細な解析のために、MLSTおよびSerotyping、Serosubtypingの導入を図った。

1) MLST (分担：渡邊治雄、国立感染症研究所細菌部長)

分子疫学的マーカーとして近年開発されたMLSTの導入を試み、解析システムの確立を目的として行った。基準株と健康保菌者由来株を用い、MLST解析のために設置されたホームページに記載されている方法に準じ、実施法を改良しながら行った。髄膜炎菌のハウスキーピング酵素に関与する7つの遺伝子座

の特定の配列部分の配列を解析し、得られた結果をホームページ上のデータベースに入力すると該当する ST (シーケンスタイプ) が知らされるようになっていく。

2) Serotyping および serosubtyping (分担：山井志朗、神奈川県衛生研究所細菌病理部長)

血清型別法を実施できる体制を確立することを目的としてその導入を行い、収集株における血清型の分布や流行株等の検出状況を探った。神奈川県衛生研究所の髄膜炎菌収集・保存株のうち、1979 年から 1998 年に分離された B 群の 48 株 (臨床分離株 35 株、保菌者由来株 13 株) を用いた。型別用のモノクロナール抗体を用い、所定の方法でタイピングした。

7. 薬剤感受性値測定 (分担：山井志朗、神奈川県衛生研究所細菌病理部長)

本研究は、収集株の各種抗生剤に対する感受性値を測定し、耐性菌の存在や感受性の低下の動向を調べ、髄膜炎菌感染症の治療が確実に行われるための情報の収集を目的とした。

感受性値測定の対象とした薬剤は Benzylpenicillin (PCG)、Ampicillin (ABPC)、Cefazolin (CEZ)、Cefuroxime (CXM)、Cefotaxime (CTX)、Nalidixic acid (NA)、Norfloxacin (NFLX)、Tetracycline (TC)、Erythromycin (EM)、Chloramphenicol (CP)、Rifampicin (RFP)、Sulfamethoxazole (SMX)、Sulfamethoxazole/Trimethoprim (ST) とした。感受性値は、National Committee for Clinical Laboratory Standards が定める方法に準じて最小発育阻止濃度を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究において、健康者および呼吸器感染症患者からの髄膜炎菌の分離を試みた。これらの調査の対象者に対して、咽頭粘液検体の採取時に研究の目的を明らかにし、研究協力に対する同意が得られた上で検体を採取した。調査への協力者の個人情報は一切外部に漏れることがないように厳重に扱った。さらに、

呼吸器感染症患者の保菌調査では個人を特定できる情報は本研究には提供されていない。

菌株が由来する患者や保菌者について、個人が特定されるような情報は一切公表しないなど、対象者に不利益になるようなことがないように十分に配慮した。

C. 研究結果

1. 検査法の普及

1) 検査法の検討とマニュアルの作成

地方衛生研究所における検査体制の確立のために検査法を導入するという観点に立ち、成書、国立公衆衛生院で使用しているテキスト、WHO と CDC が作成した検査法マニュアルおよび CDC ホームページ上の *Neisseria* 属菌検査法等を参考にして、標準的な方法として用いることができる検査法を検討した。

検査法の検討に基づいて、髄膜炎菌を含めた病原性 *Neisseria* 属菌を中心に、*Neisseria* 属菌検査法のマニュアルを作成した。マニュアルは解説編と実技編からなり、解説編では検査法の詳細を記述し、実技編では検査時に検査担当者が使いやすいように流れ図で検査の進め方を示した。

2) *Neisseria* 属菌検査法の研修会の開催

今年度は地域 (ブロック) 毎に、全国の 4 ヶ所で研修会を開催した。開催場所と日程は、福島県衛生環境研究所 (北海道・東北・新潟地区) では平成 12 年 11 月 16~17 日、石川県保健環境センター (東海・北陸地区) では平成 12 年 11 月 30 日~12 月 1 日、愛媛県立衛生環境研究所 (中国・四国地区) では平成 12 年 11 月 9~10 日、大分県衛生環境センター (九州・沖縄地区) では平成 12 年 11 月 7~8 日であった。全国の 31 地方衛生研究所の合計 41 名の検査担当者が参加した。

研修会の中で、受講生から検査法、検査の進め方、検査の判定方法あるいはマニュアルの内容に関する質問が寄せられた。これらを参考にして、マニュアルの内容に加筆し、修正を加えた。

3) 群別用血清の作製

スライド凝集反応により作製された各群用の血清の反応性を調べたところ、反応性に差が見られた。試作した血清よりもさらに高力価の血清の作製が必要であることが示唆された。

2. 保菌者調査

1) 健康保菌者調査

福島県 (対象者 79 名: 男性 32 名、女性 47 名)、神奈川県 (対象者 1,157 名: 男性 287 名、女性 870 名)、石川県 (対象者 213 名: 男性 24 名、女性 189 名)、香川県 (対象者 55 名: 男性 30 名、女性 25 名)、愛媛県 (対象者 137 名: 男性 32 名、女性 105 名) および大分県 (対象者 70 名: 男性 53 名、女性 17 名) の大学生等の 20 歳前後の年齢層を中心とした健康者合計 1,711 名 (男性 458 名、女性 1,253 名) を対象にして、髄膜炎菌の保有状況を調査した。神奈川県で 3 名 (0.3%)、愛媛県で 2 名 (1.5%)、合わせてから 5 名 (0.3%) から髄膜炎菌が検出された。神奈川県と愛媛県以外の地域での調査では髄膜炎菌は検出されなかった。

同時に検出を試みた *Haemophilus influenzae* および A 群、B 群、C 群、D 群、G 群あるいは F 群に属する *Streptococcus* sp の検出率はそれぞれ 1.2% と 10.0% であった。

2) 呼吸器感染症患者保菌者調査

これまでに、診療所あるいは小規模病院を受診した患者から採取された 1,200 件の検体からは髄膜炎菌は検出されなかった。

3. アンケート調査

アンケートを依頼した 2257 施設のうち、現時点で 126 施設より返送された。過去 10 年間で 17 施設が髄膜炎菌感染症の患者を経験し、髄膜炎症状が 11 症例、敗血症・DIC 症状が 7 症例、呼吸器症状が 1 例であった。回収が終了した段階で集計する予定である。

4. 診断法の検討

検討に用いた PCR システムは、*N. meningitidis* と他の髄膜炎原因菌とを識別す

ることができた。市販の前処理法であるアンブダイレクト法により、血液は 1 μ l を検査の対象とするのが限界であったが、髄液は 10 μ l まで検査することが可能であった。

5. 病院における監視体制の検討

髄膜炎菌による髄膜炎患者は来院しなかったが、肺炎と敗血症を主徴として救命救急に搬入された患者の血液培養から髄膜炎が検出された。髄膜炎菌は入院時に実施した血液培養より検出された。

6. 疫学マーカーの検討

1) MLST

既に MLST の型が同定済の基準株を用いて、適切な結果が得られるかを解析するとともに、公開されている型別法の手順の簡略化を図った。その結果、7 遺伝子座を対象にした PCR 法を同時に行える条件を見出した。この条件により基準株を解析したところ、ST の正しい結果が得られた。健康保菌者からの分離株はデータベースに登録された既知のタイプに属さないエンザイムタイプであった。

2) Serotyping および serosubtyping

収集株 48 株は serotype が 8 パターン、serosubtype が 17 パターンあり、組み合わせで 27 パターンが得られた。各パターンに判定された株数は 1~7 株であり、NG:NT:P1.15 が 7 株、NG:15:P1.6 が 4 株、B:NT- と B:NT:P1.5,2 が 3 株であった。

NG:NT:P1.15 を表現型とする株と同一クローンに由来すると考えられる B:NT:P1.15 を示す株の合わせて 8 株は、1982 年から 1990 年に都内、都下および千葉県の 3 医療機関で分離された。

ET-5 complex に属する株が示すタイプである B:15:P1.7、B:15:P1.7,16 および B:NT:P1.7 を示した 4 株は National Institute of Public Health, Norway で MLEE により解析した結果、ET-5 complex であった。

7. 薬剤感受性値測定

PCG、ABPC、CEZ および EM に感受性

が低下した株があり、PCG では 30.7%、EM では 4.8%が中等度耐性であった。さらに 7 株が TC に対して耐性であった。SMX では約 70%の株が耐性を示した。

CXM、CTX、NFLX、CP、RFP に対してはいずれの株も感受性であった。

D. 考察

髄膜炎菌感染症は諸外国においては、開発途上国のみならず先進国であっても患者発生率および致命率が高く、臨床的にも公衆衛生的にも重要な感染症として扱われ、患者発生や流行株の解析などの監視体制とワクチンの導入等による予防体制の整備に力が注がれている。国内において発生する髄膜炎菌性髄膜炎の患者は1950～60年以降から激減しているが、諸外国では多数の患者が毎年のように発生していることもあり、海外に由来する流行株の持ち込みや1940年代以前のように再興することによる集団発生ないしは流行がわが国において起こる可能性を否定することはできない。あるいは患者発生に関する情報の不備等により現在の実情が把握されていない可能性が高い。したがって、わが国における監視体制の確立と強化が不可欠である。さらに、薬剤への耐性化に対しては耐性菌の出現を監視し、薬剤感受性調査の結果により治療方針を決定しなければならない。

本研究においては、地方衛生研究所における検査体制の確立を目指した。これを目的としたのは、地方衛生研究所が地域の科学的・技術的中核機関として調査研究を行い、医療機関や保健所、登録検査所等に対してのレファレンス機関および研修機関の機能を有しており、しかも感染症発生動向調査事業においては病原体診断の確定機関、情報収集・解析機関としての役割を担っているからである。このような機能と役割を有する地方衛生研究所において体制を確立し、その機能を強化することで、監視体制が強化されることが期待される。すなわち、髄膜炎菌感染症の発生に迅速且つ敏感に対応でき、適切で正確な情報の収集を行い、集団規模での患者発生の解析が可能となり、地域における感染症発生の強

力な監視体制が構築される。さらに、地域間の連携により全国を網羅する監視体制が形作られるものと考えられる。

諸外国における健康者の髄膜炎菌保有率は10%程度と報告されているが、年齢層により保有率は明らかに異なる⁶⁻⁷⁾。ノルウェーおよび英国での調査では、調査集団全体での保有率は10%前後であるが、13～15歳以下では0～5%であり、その後増加して15-19歳をピークにして22～36%に達していた。保有率の高い状態は30歳代まで続き、その後減少した⁸⁻⁹⁾。保有率が15～19歳の年齢層でピークとなるのは、この年齢層における社会活動の変化、特に大学への入学が関与していると考えられる。英国の Nottingham University で行われた1年次2,453人の学生を対象にした保菌者調査では、10月に入学した最初の週の4日間で保菌率は6.9%から23.1%と暫時上昇し、11月から3月にわたり30%前後を推移し、少なくとも6ヶ月間菌を保有した例もあったと報告している¹⁰⁾。英国の他の調査でも大学生における保有率は25%に達した¹¹⁾。

健康者の髄膜炎菌保有率は国内の地域によっても異なるとされている。Olsen らは、髄膜炎菌患者発生数の多い地域と少ない地域の健康保菌者における髄膜炎菌保有率を比較した。患者発生数の少ない地域に生活する集団と比較して、多い地域で生活をしていて健康保菌者となることのオッズ比は2.5(95CI 1.9-3.3; P<0.0001)であったと報告している¹²⁾。

本研究で実施した健康保菌者調査では、対象者を高校生、大学生など20歳前後の集団を中心にした。諸外国の報告に拠れば、健康者の中で最も髄膜炎菌保有率が高いと予想された。しかしながら、諸外国に比べて今回の健康保菌者調査の結果は非常に低い数値であった。この違いの原因として、検出技術の問題、国内における地域性、様々な環境や宿主の違い等が挙げられる。検出技術の問題については、研修会を開催した後に本研究班で検討した標準的な方法を用いて調査を実施しているため、不確実な検出法が用いられることはなく、実施機関における技術的な差も小さいと考えられる。国内における地域性につい

て、たまたま保有率の低い地域が対象となった可能性もあるが、東北、関東、東海、四国および九州における6地域で調査を実施しており、十分に分散した地域で調査を実施したと考えられる。来年度以降、さらに協力機関と対象地域を増やして調査を実施することを検討している。諸外国との様々な環境や宿主であるヒトの違いは、その要因が多様であり、検討することは非常に難しい。

健康保菌者に対する除菌の有用性については様々な議論がなされている。ノルウェーでは一般的に保菌者に対する除菌は推奨されていないが、健康者が高率に流行株を保有している状況がある。したがって、保菌者の追跡と除菌を目的とした薬剤投与（オフロキサシン400mgまたはシプロフロキサシン750mg単投与）により髄膜炎菌感染症の伝播と発生を減少することができるであろうとしている^{8,13-14}）。ノルウェー西部で1995年にC:15:P1,7,16 ET-5 complex株による流行が発生したが、地域の高校の保菌調査では20人の保菌者のうち14人が流行株を保有していた¹³）。また、2,223人の住民が生活する地域でハイリスクグループである19歳以下の469人の保菌を調査し、43人から髄膜炎菌が検出されたが、流行株は4人から検出され、除菌を行った⁸）。

本研究の健康保菌者調査において髄膜炎菌を保有することが認められた健康者に対する除菌について、その正当性を検討する必要がある。海外における種々の報告（健康保菌者と患者発生との関連、健康保菌者の流行株の保有、患者と接触する家族等のハイリスクグループにおける流行株の保有等）を参考にしながら、臨床の専門家を交えて研究により生じた課題の一つとして今後議論していく予定である。

医療機関に対する髄膜炎菌感染症の病態等に関するアンケート調査は、アンケート用紙の回収が終了しておらず調査の途中であるが、これまでに返送してきた126施設のうち17施設が髄膜炎菌感染症患者を経験していた。症状の内訳は髄膜炎が11症例、敗血症・DICが7症例、呼吸器症状が1症例であった。侵襲性髄膜炎菌感染症（invasive

meningococcal infection）ではその症状として大まかに次の4つが挙げられる¹¹）。すなわち、①ショックを伴わない菌血症、②髄膜炎を伴わないがショックを伴う菌血症（例、劇症型髄膜炎菌性敗血症：fulminant meningococcal sepsis）、③ショックと髄膜炎、④髄膜炎のみ、である。この症状の違いは、発症後に医療機関に搬送された時期、患者の状態、菌の性状等によるとされている。これらの症状の出現は、血清群により異なるものではないとされている。ノルウェーの512症例における原因菌の群別と臨床症状の分布は、B群髄膜炎菌、C群髄膜炎菌、その他の群に属する髄膜炎菌および全ての髄膜炎菌では、それぞれ敗血症が37、33、42および37%、敗血症および髄膜炎が26、26、25および26%、髄膜炎単独が34、39、33および35%、その他の症状が3、2、0および3%となり、群により症状の分布に差は見られなかったとしている¹⁵）。また、侵襲性髄膜炎菌感染症であれば、髄膜炎菌が検出された部位が髄液であれ血液であれ、あるいは症状が髄膜炎であれ敗血症であれ、致命率はほぼ同じでいずれも高い値を示す。米国の報告では髄膜炎（髄液から菌を検出と定義）が13%で、血液から菌が検出された場合は11.5%としており¹⁶）、両者はほぼ同じである。

髄膜炎菌感染症の診断の多くは、髄液、血液、鼻咽頭粘膜ぬぐい液等の培養や免疫学的反応による原因菌の証明によりなされている。しかし、髄液の採取が困難である場合や検査を行う前に既に抗生物質が投与されているために培養では髄膜炎菌を検出ができない場合がある。そこで、遺伝子学的手法（PCR法）あるいは免疫学的手法を用いた検体中からの髄膜炎菌の検出に関する報告が散見される^{17,18}）。本研究では、髄液あるいは血液からPCR法により髄膜炎菌を検出する場合に、PCR反応を阻害する要素を除き検出率を高めるための前処理法を検討した。この方法は少ない操作で非常に簡便に処理を進めることができる。今後さらに有用性を検討する。

髄膜炎菌感染症の治療には、ペニシリンとクロラムフェニコールとの併用、第3世代セフェム系薬剤、第3世代セフェム系薬剤とア

ンピシリンの併用が一般的であり、予防投薬としてリファンピシン、ミノサイクリンあるいは第3世代セフェム系薬剤の使用が勧められている¹⁹⁾。国内で分離された166株の薬剤感受性測定では、PCG、ABPC、CEZおよびEMに対して感受性が低下しており、TCに対して7株が耐性で、うち3株は高度耐性であった。侵襲性髄膜炎菌感染症は極めて急速に進行して致命率も高いため、抗生物質の選択が救命の重要な鍵を握っている。薬剤の選択を慎重に行う必要があるとともに、耐性菌の出現や感受性値の動向を常に監視し、正しい情報を提供することが極めて重要である。

疫学マーカーの1つとしてMLSTの導入を試み、この型別法による解析システムの確立を図った。これにより国内分離株の型別と諸外国における流行株との相違の検討、輸入感染例の把握、今後発生する国内の流行における起因菌の海外流行株との比較を容易に行うことができるようになる。この型別法の手法並びにデータベースはインターネット上で公開されており、型別の対象とする株の型は、塩基配列データをデータベースに入力すると直ちに型を知ることができる。髄膜炎菌1株につき、7つの遺伝子座の特定の部分の塩基配列を決定しなければならず、労力と時間等を要するが、流行株の存在を把握することができるため、髄膜炎菌感染症の疫学調査や予防措置の策定には極めて重要な手法であるといえる。

髄膜炎菌感染症の流行株は海外から持ち込まれるなどして変わることが知られている。米国においては、髄膜炎菌感染症の95%ほどは散発性症例であったが、1991年から地域的に発生するC群髄膜炎菌による集団発生が増加した。さらにBおよびY群による集団発生も増加している⁴⁾。A群髄膜炎菌のうちのsubgroup IIIは1960年代半ばに中国で大規模な流行をもたらした²⁰⁾。その後10年間にソビエト(現ロシア)、スカンジナビア諸国およびブラジルに広がっていった。この間、中国では他のクローンによる流行が発生していたが、1980年代に再びsubgroup IIIが台頭してきた。さらに1987年にはサウジアラビアのメッカでイスラム教の巡礼者の間で集団発生

があり、欧米を始めとする様々な国に持ち込まれた。

わが国では髄膜炎菌による集団発生は近年では感知されていないが、本研究の今年度の調査により地域的に特定の株(クローン)が定着しているあるいは散発的に複数の患者の発生があった可能性が示された。今後、国内に定着している株(クローン)あるいは海外から持ち込まれる株(クローン)、特に諸外国で流行の原因となっているC群髄膜炎菌等による集団発生あるいは小規模な流行が起こる可能性は否定できない。

本年度の研究の一環としてMLST、serotyping および serosubtyping を導入し、諸外国の結果との比較が可能となった。これにより、流行株の海外からの侵入の監視、流行株あるいは流行そのものの存在の探索、健康保菌者の患者発生への関連と重要性の検討、患者と濃厚接触者の保有株の比較、保菌者の除菌の必要性の検討が行えるようになる。こうした検討により、患者発生の監視体制が強化され、適切な予防対策の策定が可能となる。

今後の髄膜炎菌感染症の発生の監視を行う場合に、特に重要と考えられるのはET-5あるいはET-37 complex、lineage IIIなどの流行株の国内での存在、すなわち既にこれらのクローンが国内に持ち込まれているかどうかの検討、またこれらのクローンが海外から持ち込まれる状況の監視が挙げられる。髄膜炎菌の流行株が海外から持ち込まれないように水際で阻止することはほぼ不可能である。したがって、患者に由来する臨床分離株の解析により流行株の侵入を監視するか、保菌者に由来する株を解析するより他の方法はない。分離株を収集して解析機関によりタイプが解析されるようなシステムが、流行株の動向や髄膜炎菌感染症の発生状況を監視するために必要である。

E. 結論

本研究は監視体制並びにより一層正確な情報の収集が可能となる体制の強化を図り、また患者発生の実態や流行発生の可能性を探ることを目的としている。そこで、地方衛生研

究所への検査法の普及による検査体制の確立、髄膜炎菌感染症の検査法並びに検査室レベルの診断法の検討、型別法の導入、分離菌株の薬剤感受性測定、患者の病態の分布の把握、健康保菌者の実態の把握を行った。これらの研究内容と本研究の目的並びに期待される成果との関係を表1に示した。

検査体制の確立と新たな診断法の導入により、髄膜炎菌感染症の監視体制並びに情報収集体制の強化が図られることが期待される。さらにこの体制の強化とともに、型別法の導入、薬剤感受性測定、病態の把握および健康保菌者の把握により、髄膜炎菌感染症患者の発生の実態の把握、流行の存在の把握、流行予測、治療法の方針の確立が成果として結果的に行われることが期待される。

地方衛生研究所は調査研究機関、レファレンス機関および研修機関としての役割を果たしており、検査体制の確立は髄膜炎菌感染症発生の監視を強化するには不可欠である。監視体制や情報収集体制は、今後の髄膜炎菌感染症の発生の実態の把握や予防対策等の策定のために中・長期的に維持・継続されなければならない。

今年度は型別法（血清型別法、MLST）の手法を導入した。これにより分離菌株を解析し、流行株等の存在を把握することが可能となった。海外からの流行株の持ち込みや国内に既に存在している流行株による流行の発生を迅速に把握するためにも、臨床分離株や健康保菌者由来株の解析を行って流行株の分離状況や由来による型の違い等を解析し、流行の把握や予測を継続的に実施することが強く望まれる。

今回の健康保菌者の調査では、健康者における保菌率は非常に低かった。全国の6地方衛生研究所が協力して調査を実施したが実施地域が限定されていたため、より多くの地域での保有状況が検討できるように地方衛生研究所のみならず、医療機関を含めた協力機関を増やして継続的に調査を実施していく予定である。さらに、健康者から検出された菌株が流行株であるか否かを解析するために型別を行い、髄膜炎菌感染症の発症と健康保菌者の関連性について調査を進めることが必要で

あり、来年度以降検討していかなければならない。

本研究を進めるの中で、次のような課題が生じた。すなわち、健康保菌者の患者発生における関連性と除菌の必要性、髄膜炎菌感染症の監視と病態の分布や頻度の関連性および薬剤耐性菌と治療の問題である。これらの課題について、研究班に臨床の専門家にさらに加わっていただき、詳細な検討を行う予定である。

F. 健康危険情報

ペニシリン系薬剤（PCG、ABPC）に対して調査した166株中51株（30.7%）が中等度耐性を示した。ペニシリン系薬剤による治療の効果が低下することが懸念される。テトラサイクリン系薬剤（TC）に対して7株は耐性であり、うち3株（1995年分離）は高度耐性（MIC値=32 μ g/ml）であった。テトラサイクリン系薬剤による治療の効果が期待できない髄膜炎菌株が既に国内に存在していた。また、エリスロマイシンに対して感受性が低下した菌株があった。

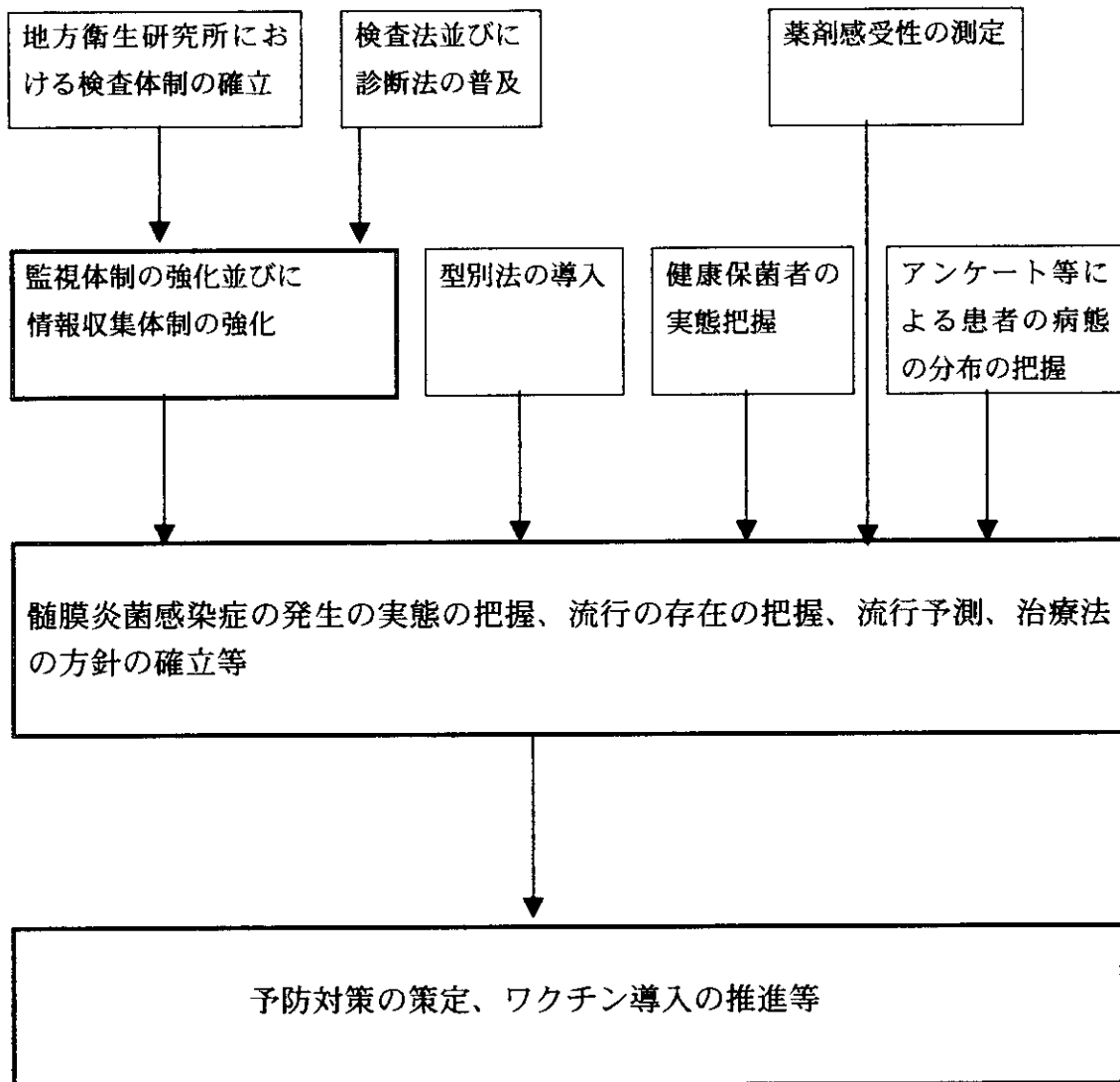
G. 参考文献

1. Van Deuren, M., Brandtzaeng, P. and Van der Meer, J.W.M.: Update on meningococcal disease with emphasis on pathogenesis and clinical management. *Clin. Microbiol. Reviews*, 13: 144-166; 2000.
2. Ramsay, M., Collins, M., Rush, M. and Kaczmarek, E.: The epidemiology of meningococcal disease in England and Wales, 1996 and 1997. *Eurosurveillance* 2:74-75; 1997.
3. Hubert, B., Goulet, V. and Riou, J.Y.: Surveillance of meningococcal disease in France, 1990-1997. *Eurosurveillance* 2:78-79; 1997.

4. Advisory committee on immunization practices : Prevention and control of meningococcal disease, and meningococcal disease and college students. Recommendations of the advisory committee on immunization practices. MMWR RR-7: 1-22; 2000.
5. Public Health Laboratory Service: The impact of conjugate group C meningococcal vaccination. Commun. Dis. Rep. CDR Wkly. 11:2; 2001.
6. Conyn-van Spaendonck, M.A., Reintjes, R., Spanjaard, L., van Kregten, E., Kraaijeveld, A.G. and Jacobs, P.H.: Meningococcal carriage in relation to an outbreak of invasive disease due to *Neisseria meningitidis* serogroup C in the Netherlands. J. Infect. 39:42-48; 1999.
7. Caugant, D.A., Hoiby, E.A., Magnus, P. et al: Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* in a randomly sampled population. J. Clin. Microbiol. 32:323-330; 1994.
8. Bevanger, L., Bergh, K., Gisnas, G., Caugant, D.A. and Froholm, L.O.: Identification of nasopharyngeal carriage of an outbreak strain of *Neisseria meningitidis* by pulse-field gel electrophoresis versus phenotypic methods. J. Med. Microbiol. 47:993-998;1998.
9. Kristiansen, B., Lind, K.W., Mevold, K. et al: Meningococcal phenotypic and genotypic characteristics and human antibody levels. J. Clin. Microbiol. 26:1988-1992;1988. Cartwright, K.A., Stuart, J.M., Johns, D.M. and Noah, N.D.: The stonehouse survey: nasopharyngeal carriage of meningococci and *Neisseria lactamica*. Epidemiol. Infect. 99:591-601;1987.)
10. Ala'Aldeen, D.A.A., Neal, K.R., Ait-Tahar, K., et al : Dynamics of meningococcal long-term carriage among university students and their implications for mass vaccination. J. Clin. Microbiol. 38:2311-2316;2000.
11. Gilmore, A., Johns, G., Barker, M., Soltanpoor, N. and Stuart, J.M. : Meningococcal disease at the University of Southampton: outbreak investigation. Epidemiol. Infect. 123:185-192;1999.
12. Olsen, S.F., Djurhuus, B., Rasmussen, K. et al: Pharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in households with infants within areas with high and low incidences of meningococcal disease. Epidemiol. Infect. 106:445-457;1991.
13. Smith, I., Lehmann, A.K., Digranes, A. et al : Outbreak of meningococcal disease in western Norway due to a new serogroup C variant of the ET-5 clone: effect of vaccination and selective carriage eradication. Epidemiol. Infect. 123:373-382;1999.
14. Froholm, L.O. : personal communication.
15. Iversen, B.G. and Aavitsland, P. : Meningococcal disease in Norway 1992-1995. Epidemiology and fatality. Scand. J. Infect. Dis. 28:253-259;1996.
16. Centers for Disease Control : Surveillance for diabetes mellitus -United States, 1980-1989, and laboratory-based surveillance for

- meningococcal disease in selected areas-United States, 1989-1991. MMWR 42(SS-2):21-30;1993.
17. Newcombe, J., Cartwright, K., Palmer, W.H. and McFadden, J.: PCR of periferal blood for diagnosis of meningococcal disease. J.Clin. Microbiol. 34:1637-1640;1996.
18. Saunders, N.B., Shoemaker, D.R., Brandt, B.L. and Zollinger, W.D.: Confirmation of suspicious cases of meningococcal meningitis by PCR and enzyme-linked immunosorbent assay. J.Clin. Microbiol. 35:3215-3219;1997.
19. 永武毅：髄膜炎菌性髄膜炎，感染症の診断・治療ガイドライン 生涯教育シリーズ-51，日本医師会雑誌臨時増刊号，感染症の診断・治療研究会編，日本医師会，130-133；1999.

表1 研究の内容とそれにより導かれることが期待される成果並びに方向性の関係



□ : 研究の内容

□ : 期待される成果、方向性

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究
分担研究報告書

髄膜炎菌検査法の検討および普及

主任研究者	山井志朗	神奈川県衛生研究所細菌病理部長
分担研究者	渡邊治雄	国立感染症研究所細菌部長
分担研究者	井上博雄	愛媛県立衛生環境研究所長

研究要旨

地方衛生研究所は地域の衛生行政における科学的・技術的中核機関としての機能を有し、感染症発生動向調査事業あるいは広く感染症に係る衛生行政においては病原体を解析するなどの重要な役割を担っている。しかし、現状では業務の中心は腸管系感染症に置かれ、髄膜炎菌を含めた全身感染症や呼吸器感染症等の原因細菌への対応は充分ではない。そこで、全国の地方衛生研究所を中心とした髄膜炎菌の検査体制を確立し、髄膜炎菌感染症の監視を強化することを目的として、髄膜炎菌の検査法を検討した上で検査法マニュアルを作成し、これらを利用して検査法の普及のための研修会を開催した。さらに、疫学的解析に必要な血清群別用血清の国内における安定的な供給を目的として、その作製を試みた。

研究協力者

加藤一雄	福島県衛生公害研究所長
斉藤公男	福島県衛生公害研究所微生物部長
力田正二	福島県衛生公害研究所微生物課長
庄田丈夫	石川県保健環境センター所長
芹沢俊彦	石川県保健環境センター 主任研究員
野上文史	大分県衛生環境センター所長
帆足喜久雄	大分県衛生環境センター 微生物部長
田中 博	愛媛県立衛生環境研究所微生物部 細菌科長
高橋英之	国立感染症研究所細菌部研究員
横尾 裕	デンカ生研株式会社生産本部
黒木俊郎	神奈川県衛生研究所細菌病理部 主任研究員

マニュアルを作成することとした。さらに、作成したマニュアルを使用して髄膜炎菌検査法の研修会を開催することとした。地方衛生研究所において検査体制を確立することで地方における髄膜炎菌感染症の監視体制が強化され、患者発生時に迅速な対応と予防対策が取られることが期待される。

地方衛生研究所は地方における衛生行政の科学的・技術的中核機関として、地域の感染症対策において極めて重要な役割を担うとともに、感染症の監視機関としての機能を有している。すなわち、地域保健に関する調査研究や試験検査を行い、情報を行政に提供して公衆衛生の向上に寄与している。さらに、レファレンス機能、研修機能および感染症等の情報センターとしての機能を有している。感染症発生動向調査事業においてもこれらの機能を有する機関としての役割を果たしている。

A. 研究目的

本研究班は、地方衛生研究所に対して髄膜炎菌の検査法を普及して検査体制を確立し、髄膜炎菌に関する監視を強化することを目的とした。そこで、標準的に採用される検査法を決めてマ

感染症発生動向調査事業は、感染症の発生を監視してその流行や蔓延を防ぐことを目的としている。地方衛生研究所は事業の対象となる感染症に対して何らかの対応が求められているが、地方衛生研究所が全ての対象感染症の検査およ

び解析を行うことは非常に難しい。それは地方衛生研究所の細菌感染症における主要な業務は腸管感染症であって、全身性感染症あるいは呼吸器感染症への対応は不十分であるためであり、髄膜炎菌やその他の全身性疾患原因菌、呼吸器疾患原因菌等に対する研修の実施や検査法の標準化が強く求められている^{1, 2)}。また、対応が難しい病原体に対しては、検査法の標準化、検査法マニュアルの配付、検査法講習会の開催等により検査体制の強化を図ることにに対して強く要望されている³⁾。

感染症の検査方法は常に新しい方法が開発され、あるいは新興・再興感染症の検査方法の習得が必要となるなど、研修会の開催に対してはいつも強い要望が出されている。そこで、地方衛生研究所の担当者に対する研修会の開催方法としていくつかの方法が検討されている³⁾。いずれの方法も長所と短所があるが、研修会の対象となる感染症により開催方法がそれぞれ検討される必要がある。本研究において、髄膜炎菌を対象にした研修会を開催するに当たり、開催方法等を十分に検討することが必要であった。

髄膜炎菌の血清群は、流行株と散発的発生株との大まかな区別や疫学マーカーとして利用されている。群別用血清は現在では海外の試薬メーカーにより製造販売されているが、入手しにくい等の問題がある。そこで本研究では、国内における安定的な供給による群別の普及を目的として、群別用血清の作製を試みた。

B. 研究方法

1) 検査法の検討とマニュアルの作成

地方衛生研究所において標準的に採用できる髄膜炎菌検査法（鑑別法、型別法、保存法等）を検討した。検討は、成書、研修用テキスト、各種マニュアルを参考にし、実際に検査を進める際に容易に導入可能な方法を採用するように努めた。

検討した検査法に基づいてマニュアルを作成し、研修会で使用した。

2) 研修会の開催

研修会の対象は地方衛生研究所の細菌検査担当者とした。全国の6地区のうち、今年度は北海道・東北・新潟地区、東海・北陸地区、中国・四国地区および九州・沖縄地区の4地区で開催することとし、開催地は各地区の代表的な地方

衛生研究所とした。開催日程は2日間とし、短期間にすべての研修会を開催するために平成12年11月の1ヶ月間に行うこととした。研修会の講師は本研究班の研究者と協力研究者が務めた。

3) 群別用血清の作製

群別用血清の作製には表1に示す菌株を用いた。各菌株をチョコレート寒天平板培地で5%CO₂存在下、35℃で一昼夜培養した。菌体をかき取り、リン酸緩衝生理食塩液で2回洗浄後、無水エタノールに浮遊して数日間放置した。リン酸緩衝生理食塩液で1回洗浄後、2x10⁶CFU/mlになるようにリン酸緩衝生理食塩液に再浮遊して免疫用抗原とした。

ウサギの耳静脈に初回0.5mlの抗原液を接種し、徐々に接種量を増やしながら10回まで接種した。最終接種から5日目に採血して抗体価の上昇を確認した。所定の力価に達していれば頸動脈から全採血し、血清を分離した。所定の力価が得られない場合はさらに4回抗原液を接種した後、同様に全採血して血清を分離した。

血清の力価と特異性の確認はスライド凝集反応を用いた。血清に交差性が見られた場合は、免疫に用いた菌株の菌体を血清と混合し、非特異凝集素を除去した。

免疫に使用した菌株と分離株を用いて、各血清のスライド凝集反応による反応性を確認した。

C. 研究結果

1) 検査法の検討とマニュアルの作成

髄膜炎菌の検査法の検討は、地方衛生研究所において検査を実施することを前提として、成書^{4, 5)}、国立公衆衛生院特別課程細菌コースで使用しているテキスト⁶⁾、世界保健機関（WHO）と米国疾病防疫センター（CDC）が共同で作成した検査法マニュアル⁷⁾ およびCDCがホームページ上で公開している *Neisseria* 属菌並びに *Neisseria meningitidis* 検査法⁸⁾ を参考にして行った。検査法は国内の成書と国立公衆衛生院細菌コースのテキストを中心に主要な部分を定め、これに海外の成書やマニュアルに記載された検査法を追加する要領で行った。地方衛生研究所において検査を実施することを前提にして検討したため、使用する機器、器材および試薬は国内において入手可能な製品を記載した。また、生化学的性状検査はキット化された製品の

紹介ではなく、糖分解試験用の CTA 培地等の自家調製が可能な基本的で古典的な方法を中心に記載した。

マニュアルは髄膜炎菌を含めた病原性 *Neisseria* 属菌の検査法を中心に、非病原性 *Neisseria* 属菌を含めて記載した。マニュアルは解説編と実技編からなり、解説編では I. *Neisseria* 属菌の特徴、II. 作業上の一般的注意点、III. 試薬と器材、IV. 分離同定、V. 検体の輸送方法、VI. 菌株の保存方法、VII. 文献の各章からなっている。実技編は、I. 検査の流れ、II. 検体の採取、検査手技、III. 菌の分離、同定・鑑別の 3 章からなり、検査を実施する際に検査担当者が身近に置いて検査が進められるように流れ図で検査の進め方を示した（資料 1 参照）。

髄膜炎菌は栄養要求性が高く、培養に使用する培地には多くの組成を必要とするなどで培養が難しいだけでなく、宿主から離れ環境中に置かれると死滅しやすい。したがって、検体の輸送・保存や菌株の保存には適した方法や管理と細心の注意が必要である。マニュアルでは輸送法と菌株保存方法について詳述した。

検体中の髄膜炎菌の存在の有無を確認し、検出の補助手段とするための PCR 法は、地方衛生研究所での実施を考慮したために、キット化されて市販されている方法ではなく、Norway National Institute of Health にある WHO Meningococcal Collaborative Laboratory で採用している 2 法を記載した。これ以外にも多くの方法が論文の形で公表されているが、今後検討した上で追加あるいは変更することが可能であり、検査法の向上のために必要である。

2) 研修会の開催

研修会の開催場所、開催日程および参加機関は表 2 に示した。開催場所と日程は、北海道・東北・新潟地区では福島県衛生環境研究所（平成 12 年 11 月 16 および 17 日）、東海・北陸地区では石川県保健環境センター（平成 12 年 11 月 30 日および 12 月 1 日）、中国・四国地区では愛媛県立衛生環境研究所（平成 12 年 11 月 9 および 10 日）、九州・沖縄地区では大分県衛生環境センター（平成 12 年 11 月 7 および 8 日）であった。北海道・東北・新潟地区では北海道立衛生研究所、秋田県衛生科学研究所、岩手県衛生研究所、宮城県保健環境センター、仙台市衛生研究所、山形県衛生研究所および福島県衛

生公害研究所の合わせて 9 名、東海・北陸地区では富山県衛生研究所、福井県衛生研究所、三重県衛生研究所、岐阜県保健環境研究所および石川県保健環境センターの 8 名、中国・四国地区では鳥取県衛生研究所、島根県保健環境科学研究所、広島県保健環境センター、広島市衛生研究所、岡山県環境保健センター、山口県環境保健研究センター、徳島県保健環境センター、香川県衛生研究所、高知県衛生研究所および愛媛県立衛生環境研究所の 12 名、九州・沖縄地区では福岡県保健環境研究所、北九州市、佐賀県衛生研究所、長崎県衛生公害研究所、熊本県保健環境科学研究所、宮崎県衛生環境研究所、鹿児島県衛生研究所、沖縄県衛生環境研究所および大分県衛生環境研究センターの合わせて 12 名、全国では 31 地方衛生研究所の合計 41 名の検査担当者が参加した。

研修会では髄膜炎菌とその類似菌である淋菌を中心とした *Neisseria* 属菌の培養法、鑑別法および保存法について、実習を中心にして行った。実習の内容は表 3 に示した。受講者には資料 1 に示したマニュアルを配付した。髄膜炎菌と同様に呼吸器感染症あるいは髄膜炎の主要な原因菌で健康者の鼻咽頭周辺に保菌される *Haemophilus* 属菌も研修会の対象とし、国立公衆衛生院特別課程細菌コースのテキストと成書を基にして作成した検査法マニュアルを用いた。（資料 2 参照）

3) 群別用血清の作製

血清は、群別用と複数の群血清を混合した混合血清を作製した。免疫に使用した菌株と分離株を用いて、各血清のスライド凝集反応による反応性を確認したところ、血清により反応性に差が見られた。

D. 考察

本研究班は、地方衛生研究所における髄膜炎菌の検査体制の確立を目指した。それは地方衛生研究所が地方における衛生行政の科学的・技術的中核機関として、地域の感染症対策において極めて重要な役割を担うとともに、感染症の監視機関としての機能を有しているからである。すなわち、地方衛生研究所は日常的に病原体の検査、同定・鑑別、型別等の疫学マーカーの解析、薬剤感受性測定等の各種性状検査を地域保健に関する調査研究や試験検査として遂行し、

得られた情報を行政に提供して公衆衛生の向上に寄与している。

さらに、保健所や医療機関、検査所等への技術的支援を行う地域のレファレンスセンターおよび研修センターとしての業務を行っている。保健所等の機関において検査が困難な病原体の検査、あるいは型別等の高度な技術を要する項目の解析を実施して、これらを支援している。さらに、検査技術の向上等を目的として研修を実施する。

また、広く公衆衛生に係る情報の収集、解析と還元を行う情報センターとしての機能を有している。感染症等の健康危害に関する情報を収集、蓄積、解析、集計して結果を衛生行政担当部署あるいは一般に還元している。

感染症発生動向調査事業においては病原体検査機関、レファレンス機関および情報解析機関としての役割も果たしている。すなわち、感染症の確定、病原体の疫学マーカーの解析、患者や病原体に関する情報の収集、解析、還元を行うなど、解析機関として中心的な役割を担っている。

感染症発生動向調査事業は、感染症法の中心的な活動として、感染症の発生を監視してその流行や蔓延を防ぐことを目的として実施されている。したがって、地方衛生研究所は事業の対象となる感染症に対して何らかの対応が求められている。個々の地方衛生研究所が全ての対象感染症の検査および解析を行うことは困難であるため、対応についての役割分担は厚生労働省、国立感染症研究所および地方衛生研究所全国協議会が協議を重ねているところである。一方で、髄膜炎菌やその他の全身性疾患原因菌、呼吸器疾患原因菌等に対する研修の実施や検査法の標準化が地方衛生研究所から強く求められている。

地方衛生研究所の細菌性感染症に関する主要な業務は腸管感染症となっているのが現状であり、全身性感染症あるいは呼吸器感染症への対応は不十分である。すなわち、下痢症や食中毒の原因細菌であるコレラ菌、チフス菌、パラチフス菌、赤痢菌、大腸菌、サルモネラ、腸炎ピブリオ等に対してはほぼ全ての地方衛生研究所において対応する体制が確立されている。一方で、ジフテリア、髄膜炎菌、百日咳等の疾患に対して対応できる地方衛生研究所は限られている。

厚生科学研究費補助金特別研究事業「衛生研究所及び保健所における行政検査の質の向上に

関する研究」(主任研究者 神奈川県衛生研究所長 松崎稔(平成3年)、衛藤繁男(平成4~5年))において、平成3年度に全国の71地方衛生研究所を対象にして、食品・水媒介感染症・食中毒原因菌31菌種、呼吸器感染症原因菌10菌種、その他の感染症原因菌14菌種の合計55菌種の検査の実施に関するアンケート調査を行った¹⁾。主要な食品・水媒介感染症・食中毒原因菌はほとんど全ての地方衛生研究所が検査を実施していたが、髄膜炎菌を含む呼吸器感染症あるいはその他の感染症原因菌では、検査を実施している地方衛生研究所は45地方衛生研究所(63.4%)にすぎず、髄膜炎菌の検査を行っているとした地方衛生研究所は24地方衛生研究所(33.8%)であった。

厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)「地方衛生研究における感染症サーベイランス情報の解析に関する研究」(主任研究者 山形県衛生研究所長 片桐進(平成9年~10年、)および神奈川県衛生研究所長 益川邦彦(平成11年度))では、平成11年度に全国の77自治体に設置された地方衛生研究所における感染症発生動向調査事業の対象である疾患への対応に関するアンケート調査を行った²⁾。対象疾患のうち、1類~3類感染症ではペストとジフテリアを除く感染症(腸管感染症)はほとんどの地方衛生研究所で対応していたが、髄膜炎起原因菌や呼吸器感染症などに対応すると回答した地方衛生研究所は30%程度であり、検査体制は不十分であった。

対応が難しい病原体に対しては、地方衛生研究所からは検査法の標準化、検査法マニュアルの配付、検査法講習会の開催等により検査体制の強化を図ることに対して強い要望が出されている。厚生科学研究費補助金(保健医療福祉地域総合調査研究事業)「地方衛生研究所の機能強化に関する研究」(平成6年~8年)の分担研究「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」(分担研究者 神奈川県衛生研究所長 衛藤繁男)では、研修会のあり方に関する調査を行った³⁾。その調査の中で、早期の研修会の開催あるいは検査マニュアルや標本等の配付に対する強い意見が寄せられた。髄膜炎菌も例外ではなく、「地方衛生研究における感染症サーベイランス情報の解析に関する研究」のアンケート調査では²⁾、回答のあった74地方衛生研究所のうち、研修を必要とすると回答したのは、26機関(35.1%)であった。また、43

機関 (58.1%) は検査対照を保有していないと回答した。

地方衛生研究所の間にはそれぞれの病原体に対する検査対応の度合いに差があるが、その差を小さくしながら、全体のレベルの向上を図らなければならない。今回の検査法の検討では、髄膜炎菌の検査法を容易に導入し、さらに今後検査の対応が可能となるように、標準的に採用される検査法を決めて、それに基づいてマニュアルを作成した。検査法を標準化して全ての機関が統一化された検査法を採用することを求めているわけではない。したがって、マニュアルに記載されていないより優れた、あるいは高度な手法を採用することを妨げるものでは決していない。

医療機関の検査室が実施する検査と地方衛生研究所において行われる検査の違いは、医療機関の検査室では臨床現場からのオーダーにより診断のための検査を実施するのに対して、地方衛生研究所では診断のための検査と高度な技術と手法を要する検査、疫学的調査に係る検査、さらに分離菌の疫学マーカーの解析が行われる点にある。標準的な検査法の検討とマニュアルの作成では、この点に考慮して臨床検体からの菌の分離のみならず、遺伝子解析手法や疫学マーカーの解析、菌株保存法を盛り込んだ。

全国の地方衛生研究所の全ての検査担当者が同様に研修会を受講して検査技術を習得することが理想であるが、これを実現することは極めて困難である。さらに、人事異動による担当者の交代が比較的頻繁に行われる傾向があるため、技術が容易に継承されなければならない。したがって、マニュアルの作成に当たってはできる限りその内容を容易に理解することができ、検査を無理なく進めることができるような内容とすることを試みた。

検査法は不変ではなく、常に新しい手技・手法を採用してより良い検査法にしていかなければならない。マニュアルの改訂は新しい技術の導入時などに、必要に応じて迅速に行うことが望まれる。

「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」(分担研究者 神奈川県衛生研究所長 衛藤繁男) では、研修システムについての検討も行った³⁾。全国の地方衛生研究所のうち、回答のあった 61 機関の 36 機関 (59.0%) は「講義と実習をブロック別に開催することが望ましい」と回答した。「講義・実習を東京で開

催することが望ましい」としたのは 14 機関 (23.0%) であり、「講義は東京、実習はブロック別に開催することが望ましい」としたのは 7 機関 (11.5%) であった。

本研究では、髄膜炎菌検査法の研修会を全国の 4 力所で開催し、受講者が各地区 (ブロック) 内の地方衛生研究所から集まり、講師が開催場所へ出向いた。研修会の主な開催方法には、①開催地を 1 力所として受講者が集まる、②地区毎に開催して、講師が出向く、③機関毎に研修会を開催し、講師が出向く、がある。①の方法は開催回数が 1 回で済むため、研修会の準備回数が少ない、会場や設備器材等の確保が容易である、講師の負担も小さいという利点がある。その一方で、受講者が多数となる可能性がある、開催場所の確保が難しい、受講者の旅費の負担が大きいたった短所がある。②の方法では、受講者の旅費の負担が小さい、1 回の研修会あたりの受講者が少なく詳細な内容での開催が可能であるが、総受講者数を多くすることができるといった利点がある。しかし、講師が出向かなければならない、研修会を複数回開催しなければならない、開催場所を選定しなければならない、開催場所で研修会の準備をしなければならない、設備や器材等の確保が難しい場合があるといった点が短所である。③の方法では、受講者の旅費の負担がない、研修会の開催場所を選定しやすい、比較的長い期間の開催が可能である、1 回の研修会あたりの受講者が最も少ないといった利点が挙げられる。しかし、研修会の開催数が多くなり講師の負担が大きいたった短所がある。

本研究で地区毎に研修会を開催する方法を採用したのは、受講者の経済的負担が小さい、詳細な内容で開催が可能であるという利点と短期間のうちに可能な限り多数の対象者が確実に技術を習得することができるという点を重視したためである。この開催方法の短所の 1 つである開催場所の選定については、開催場所の確保と開催の準備に 4 地方衛生研究所の協力が得られたことで解決することができた。研修会を複数回開催して講師が出向かなければならない点については、研修会の日程を 2 日間とし、平成 12 年 11 月の 1 ヶ月間に集中して開催することで講師の負担をできる限り少なくした。

本研究の一環として開催した髄膜炎菌の研修会により、地方衛生研究所へ検査法を普及することができた。研修会に参加した地方衛生研究