

2. 健康保菌者の状況

表1に結果のまとめを、資料3-1~3-6が各地研からの結果報告である。協力者は高校生、短大生、大学生の10代~20代の青年層が主体であるが、30代~50代の県職員(福島県、香川、大分)も行なった。全体として男性458名、女性1,253名であった。

髄膜炎菌は福島、石川、香川、大分では検出されず、神奈川3/1157(0.3%)、愛媛2/137(1.5%)、全体で5/1711(0.3%)、保菌者は20代以下であった。インフルエンザ菌は神奈川、香川でそれぞれ、13/1157(11%)、5/55(9.1%)、全体で1.2%であった。溶連菌は、全てに検出され、全体で10.0%、いずれもほぼ10%前後の保菌者であった。

3. 保菌者のフォローアップ

資料4に保菌者であったM大学女子学生のフォローアップの経緯を示す。保健室にて菌陽性であった旨伝え、発症確率は殆どないが菌拡散防止のためにも除菌をすすめると共に家族、親しい友人の検査をすすめた結果、本人、母親、親しい友人の検査を行なった。母親は陰性であったが、本人、友人が陽性となり、校医と相談のうえ、現在除菌中である。

4. 病院検体での検査

扁桃スワップからの菌検査が依頼される上気道炎等の患者検体について髄膜炎菌検査も加えて行なうべく現在調整中である。扁桃摘を行なっている耳鼻科医の協力を得て、摘出扁桃からの菌検査を行いつつある。

D. 考察と結論

今年度行なわれた「髄膜炎菌等の研修会」の成果として、ほぼ各ブロック1ヶ所の地研で検査体制がセットアップされ検査法の普及が進められた。

青年層を中心とした髄膜炎菌の健康保菌者は0.3%であった。発端者からの検査で親密な友人も保菌者であり、親密度に応じて感染が伝播されていることが示唆された。また健康保菌者での調査では除菌の正当性についての議論が必要となり、その方法も含め今後の課題を提供した。

同時に行なわれたインフルエンザ菌保菌者は1.2%、溶連菌(A群、B群、C群、D群、F群およびG群)は10.0%であった。

今後、協力地研も拡大して、検査法のさらなる普及を図るとともに、調査を拡大して保菌者の疫学特性等の解明に努めたい。

表1 健康保菌者からの菌検出状況

2001.3

研究所	髄膜炎菌						インフルエンザ菌						溶連菌					
	男		女		合計		男		女		合計		男		女		合計	
	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I
福 島	32	0	47	0	79	0	32	0	47	0	79	0	32	3	47	4	79	7
神奈川	287	2	870	1	1157	3	287	3	87	10	1157	13	287	29	870	92	1157	121
石 川	24	0	189	0	213	0												
愛 媛	32	1	105	1	137	2	32	0	105	0	137	0	32	1	105	12	137	13
香 川	30	0	25	0	55	0	30	2	25	3	55	5	30	4	25	0	55	4
大 分	53	0	17	0	70	0	53	0	17	0	70	0	53	5	17	0	70	5
合 計	458	3	1253	2	1711	5	434	5	1064	13	1498	18	434	42	1064	108	1498	150

N:検査数

I:分離数

衛研第 号
平成 年 月 日

殿

神奈川県衛生研究所長

調査材料採取への協力のお願について（依頼）

時下、ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

さて、当所では今年度より厚生省科学研究費補助金による「髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究」（主任研究者 山井志朗 細菌病理部長）を始めました。調査の一環として、咽頭における細菌叢を解析する計画を立てております。

つきましては、貴大学丸山総一助教授にご協力をいただき、授業、実習終了後に獣医学科3年次、4年次および5年次を対象として調査材料（綿棒による咽喉頭部の拭い液）の採取をさせていただきたく、ご高配を賜りますよう、お願いいたします。

なお、対象者には研究の目的を明らかにし、承認を得た上で材料採取を行うことといたします。また、本研究結果の公表時には調査対象者個人が特定されるような情報は公表しないなど、プライバシーの保護に対して十分に配慮いたします。

（事務担当は、臨床血清科）

調査のための材料採取への協力をお願い

厚生省研究班(H12-新興-28)の研究課題の一環として、咽頭（扁桃腺周辺）に生息する細菌叢（髄膜炎菌、インフルエンザ菌、溶血レンサ球菌等）の調査を行っています。調査材料の採取にご協力ください。

データの公開時には、個人名などプライバシーに関する情報は一切公開しません。

神奈川県衛生研究所
調査責任者 山井志朗

不明な点については、下記までご連絡ください。

連絡先：神奈川県衛生研究所 細菌病理部 臨床血清科

担当 黒木 TEL:045-363-1030 内線 242

切り取り

調査協力承諾書

私は、厚生省研究班の研究課題の一環として行われる、咽頭（扁桃腺周辺）に生息する細菌叢（髄膜炎菌、インフルエンザ菌、溶血レンサ球菌等）の調査に協力し、調査材料の採取に同意します。

平成12年 月 日

学校名 _____

所属 _____

学籍番号 _____

氏名 _____

性別 _____

年齢 _____

資料3-1

髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究

平成12年度 結果報告

所属 福島県衛生公害研究所

1. 対象 健常者 集団（公務員）

2. 検体 咽頭ぬぐい液（両面）

3. 検体採取から塗布までの時間（10～60）分

4. 結果

	髄膜炎菌				インフルエンザ菌				溶連菌			
	男		女		男		女		男		女	
年齢	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数
0												
1-5												
6-10												
11-15												
16-20												
21-30	1	0	6	0	1	0	6	0	1	0	6	1
31-40	6	0	15	0	6	0	15	0	6	1	15	2
41-50	9	0	15	0	9	0	15	0	9	0	15	1
51-60	15	0	11	0	15	0	11	0	15	2	11	0
60以上	1	0			1	0			1	0		
合計	32	0	47	0	32	0	47	0	32	3	47	4

5. その他

「協力のお願ひ」及び「調査協力承諾書」については、別紙のとおり実施しました。

資料 3-2

髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究

平成12年度 結果報告

所属 神奈川県衛生研究所

1. 対象 健常者 集団（高校生・短大生・大学生）

2. 検体 咽頭ぬぐい液（両面）

3. 検体採取から塗布までの時間（30～90）分

4. 結果

	髄膜炎菌				インフルエンザ菌				溶連菌			
	男		女		男		女		男		女	
年齢	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数
0												
1-5												
6-10												
11-15												
16-20	145	0	282	0	145	1	282	6	145	14	282	30
21-30	124	2	227	1	124	0	227	0	124	13	227	27
31-40	7	0	55	0	7	0	55	0	7	0	55	8
41-50	2	0	35	0	2	0	35	1	2	0	35	2
51-60	1	0	12	0	1	0	11	0	1	0	12	0
60以上												
合計	279	2	611	1	279	1	611	7	279	27	611	67
不明	8	0	259	0	8	2	259	3	8	2	259	25
計	287	2	870	1	287	3	870	10	287	29	870	92

資料 3 - 3

髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究

平成 12 年度 結果報告

所属 石川県保健環境センター

1. 対象 健常者 集団（専門学校 of 学生）
2. 検体 咽頭ぬぐい液（両面）
3. 検体採取から塗布までの時間（6～10）分
4. 結果

	髄膜炎菌*				インフルエンザ菌				溶連菌			
	男		女		男		女		男		女	
年齢	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数
0												
1-5												
6-10												
11-15												
16-20	4	0	93	0								
21-30	12	0	69	0								
31-40	4	0	20	0								
41-50	3	0	7	0								
51-60	1	0										
60 以上												
合計	24	0	189	0								

備考) 当県はインフルエンザ菌及び溶連菌の検索を実施しませんでした。

* : 検査実施日は ; 平成 13 年 1 月 9 日、10 日及び 24 日

資料3-4

髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究

平成12年度 結果報告

所属 愛媛県衛生環境研究所

1. 対象 健常者 集団 ①専門学校(115名) ②大学生(22名)
2. 検体 咽頭ぬぐい液(両面)
3. 検体採取から塗布までの時間 ①1~5 ②30分
4. 結果

	髄膜炎菌				インフルエンザ菌				溶連菌			
	男		女		男		女		男		女	
年齢	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数
0												
1-5												
6-10												
11-15												
16-20	23	1*	98	1**	23	0	98	0	23	0	98	12
21-30	8	0	7	0	8	0	7	0	8	1	7	0
31-40												
41-50	1	0			1	0			1	0		
51-60												
60以上												
合計	32	1	105	1	32	0	105	0	32	1	105	12

* ②1/15(16~20才:1/9)

** ②1/7(16~20才:1/4)

資料3-5

髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究

平成12年度 結果報告

所属 香川県衛生研究所

1. 対象 健常者 集団（公務員）

2. 検体 咽頭ぬぐい液（両面）

3. 検体採取から塗布までの時間（60）分

4. 結果

	髄膜炎菌				インフルエンザ菌				溶連菌			
	男		女		男		女		男		女	
年齢	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数
0												
1-5												
6-10												
11-15												
16-20												
21-30	3	0	10	0	3	0	10	2	3	0	10	
31-40	2	0	5	0	2	0	5	0	2	0	5	
41-50	7	0	5	0	7	0	5	1	7	2	5	
51-60	14	0	5	0	14	2	5	0	14	2	5	
60以上	4	0			4	0			4	0		
合計	30	0	25	0	30	2	25	3	30	4	25	

資料3-6

髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究

平成12年度 結果報告

所属 大分県衛生環境研究センター

1. 対象 健常者 集団 ()

2. 検体 咽頭ぬぐい液 (両面)

3. 検体採取から塗布までの時間 (30~120) 分

4. 結果

	髄膜炎菌				インフルエンザ菌				溶連菌			
	男		女		男		女		男		女	
年齢	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数	N数	分離数
0												
1-5												
6-10												
11-15	2	0	1	0	2	0	1	0	2	0	1	0
16-20	1	0			1	0			1	0		
21-30	5	0	7	0	5	0	7	0	5	1	7	0
31-40	7	0	3	0	7	0	3	0	7	2	3	0
41-50	15	0	2	0	15	0	2	0	15	2	2	0
51-60	23	0	4	0	23	0	4	0	23	0	4	0
60以上												
合計	53	0	17	0	53	0	17	0	53	5	17	0

健康保菌者（大学生）調査の経緯

2001年

2月 2日（金） M大学検査協力者（21名検査）

16日（金） 保健室訪問 陽性者（19歳）女子に通知説明、家族や親しい友人の検査をすすめる。母親、本人、友人、未所のうえ検査。

20日（火） 保健室訪問 本人、友人陽性、校医による除菌をすすめる。
CDC Personnel Health Guideline による除菌レジメを説明、薬剤単発投与後7～10日後当初にて再検査するよう依頼。

24日（土） 男子学生（I. M.） 咳

25日（日） I. M. 発熱（38℃）

26日（月） 校医来院 咽頭痛、発熱（39℃）

Ciprofloxacin（400mg×分2）3日間

28日（水） 女子学生（N. K.） 除菌目的で校医来院

Ciprofloxacin(400mg×分2)1日間

3月 3日（土） N. K. 咽頭痛

4日（日） N. K. 発熱（39℃）

5日（月） N. K. 来院 左扁桃腫大、膿疱あり

Ciprofloxacin(400×分2)3日間

8日（木） N. K. 来院 両扁桃腫大、熱持続

ジスロマック（500mg×分1）3日間

9日（金） N. K. 解熱

23日（金） I. M., N. K. 来所 再検査

27日（火） 両者とも髄膜炎菌陰性

平成 12 年度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 (H12-新興-28)
分担研究報告書

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

Hospital based surveillance of meningitis and *Neisseria meningitidis*
infection

分担研究者 嶋田甚五郎 聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授

研究要旨

髄膜炎菌感染症患者の病態を解析するために病院を対象とした髄膜炎患者と髄膜炎菌感染症の調査を実施した。聖マリアンナ医科大学付属病院の臨床科（神経内科、小児科、救命救急）及び細菌検査室における髄膜炎菌感染症患者のサーベイ（2000年6月から2001年2月）では、2000年9月16日に血液培養より髄膜炎菌が検出された患者1名が報告された。薬剤感受性調査グループに呼吸器感染症の臨床分離株での調査協力を依頼し、2001年2月から調査が実施された。2月末で1200件を検査したが髄膜炎菌は検出されていないとの報告を受けた。全国2257施設の医療機関に対して髄膜炎菌検出状況のアンケート調査を2001年3月に実施した。

研究協力者

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

的な流行が報告されている。日本国内においては、過去に髄膜炎菌性髄膜炎が多数発生していたが、現在ではわずかな発生例しか報告されていない。この原因を解明するために病院を対象として調査を実施した。

A. 序文

髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) は流行性髄膜炎の原因菌として知られており、世界各地で集団発生や定期

B. 材料と方法

聖マリアンナ医科大学付属病院においては2000年6月以降に髄膜炎にて入院した患者を精査した。全国規模での調査では、一次医療機関である診療所および小規模医院を対象に呼吸器感染症の臨床分離株を調査してい

る薬剤感受性調査の研究グループ(統括:サントリー株式会社)に髄膜炎菌検出の協力を依頼した。髄膜炎菌検出の方法は研究班において採用したマニュアルに従った。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)に対しては、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。

C. 結果

1. 聖マリアンナ医科大学での調査

髄膜炎菌による髄膜炎患者は今回の調査では発見できなかった。しかし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菌が検出された症例が発見された。

当該患者はオーストラリア旅行中に発症し、帰国後に肺炎と敗血症を併発して聖マリアンナ医科大学西部病院の救命救急に9月16日入院した。髄膜炎菌は入院時に実施した血液培養より検出された。入院時には既に重篤な症状を示していたため髄液採取は実施できず、髄膜炎を起こしていたか否かの確定診断はできなかった。

2. 診療所および小規模医院を対象にした調査

呼吸器感染症の臨床分離株に対する薬剤感受性調査グループ(統括:サントリー株式会社)に協力を依頼し、2001年2月から調査が実施された。対象者は医院を訪れた患者である。2月末で1200件を検査したが髄膜炎菌は検出されていないとの報告を受けた。最終結果は5月初旬に得られる予

定である。

3. アンケート調査

100床以上の病院(2257施設)に対しては、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。3月27日を締め切りとしてアンケートを郵送した。3月17日の時点で126施設より回収されたアンケートの中間集計では、過去10年間で17施設が髄膜炎菌感染症の患者を経験していた。内訳は、髄膜炎症状と診断された例数は11症例、敗血症・DIC症状の病型が7症例、呼吸器症状が1例であった。

D. 考察

聖マリアンナ医科大学での症例は、髄膜炎症状が確認できず、肺炎と敗血症を主徴とする症例であった。この症例を髄膜炎菌性髄膜炎として届け出るか否かについては、髄膜炎症状を確認していないから届け出不要とする意見も出たが、関係機関に問い合わせた結果、届け出ることになった。また、この症例については詳細を取りまとめて学術誌への投稿を準備中である。

この症例と同様の病型はアンケート調査でも認められた。中間集計ではあるが、髄膜炎菌感染症の19症例中8例(42%)が髄膜炎以外の病型で診断されていた。これらの症例が髄膜炎菌性髄膜炎として届け出されたかは不明である。

髄膜炎菌による感染症が髄膜炎患者だけでなく、呼吸器や敗血症の患者でも高率に発生しているとすれば、現在の4類感染症の届け出に基づく患

者数は、髄膜炎菌感染症の発生動向を正確に反映していない可能性が危惧される。また研究班での今後の調査においても、この状況を考慮した解析が必要である。

添付資料

1. 調査協力依頼の覚え書き
2. アンケート用紙（依頼状、診療科用、検査科用）

(資料1：調査協力)

2000年12月20日

サントリー株式会社
医薬事業部医薬情報室 殿

平成12年度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」

主任研究者 山井 志朗 (神奈川県衛生研究所)

分担研究者 渡辺 治雄 (国立感染症研究所)

嶋田甚五郎 (聖マリアンナ医科大学)

井上 博雄 (愛媛県立衛生環境研究所)

髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) 分離培養調査への協力依頼について (覚書)

この度は、上記研究班の調査にご協力を戴き感謝いたします。

髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) による細菌性髄膜炎は、海外において多発しているにもかかわらず日本国内での発生報告件数がわずかにすぎません。国内においても過去に多数発生していた髄膜炎菌性髄膜炎が現在わずかしか発生していない原因を明らかにするため、表記の研究事業を開始いたしました。今回の調査協力におきましては、以下の事項についてご協力をお願い致します。なお、この調査協力のために必要な消耗品については研究班にて処理を致します。

1. 研究班への参加に関して

研究班への参加につきましては、研究班から依頼を受けた「研究調査協力者」となります。

2. 分離培養に関して

Neisseria 属菌の分離培養では、Modified Thayer-Martin (MTM) 培地を使用してください。

MTM 培地から分離された *Neisseria* 属菌、およびチョコレート寒天から分離された *N. meningitidis*、*N. gonorrhoeae* および *N. lactamica* の病原性 *Neisseria* 属菌を疑う菌のいずれかを分与していただく。

3. 菌株の輸送

分離菌株の保存・輸送については三菱化学ピーシーエルでの担当者の方が神奈川県衛生研究所細菌病理部と直接打ち合わせをしてください。

(担当：黒木俊郎：TEL 045-363-1030, FAX 045-363-1037, E-mail; knphlab@iris.or.jp)

4. 菌株の付随情報

検体提供者の居住地域、年齢、性別、症状は菌株の付随情報として提供してください。

(資料2: アンケート調査)

各医療機関病院長 殿

担当者 殿

「髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究」
分担研究者 聖マリアンナ医科大学 嶋田甚五郎

髄膜炎菌感染症に関するアンケートへの協力をお願い

時下、ますますご健勝にてお過ごしのこととお慶び申し上げます。

さて、髄膜炎菌の検査態勢の確立と髄膜炎菌性髄膜炎患者発生の実態の把握を目的として、今年度より厚生科学研究「髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検査方法の研究」(主任研究者 神奈川県衛生研究所 山井志朗)を行っております。

本研究では、当該感染症の発生を迅速に把握するための検査法の検討と普及を行い、流行の発生と耐性菌出現に対する監視態勢を確立して、より正確な情報の収集を目指しています。さらに、わが国における患者の発生とその病態、健康保菌者の実態の把握並びに分離される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を目的としています。

髄膜炎菌は重篤な髄膜炎の原因となり、感染症法でも4類感染症(全数把握)として監視の対象となっています。国内において発生する髄膜炎菌性髄膜炎の患者は1950~60年以降激減していますが、諸外国では散発的または集団で多数の患者が発生しています。一昨年、英国ではC群髄膜炎菌により年間1,500人を越える患者が発生し、うち150人が死亡したと推定され、この病原体に対するワクチンの製造と導入が緊急に行われることとなったという記事がタイムズ紙等に掲載され、政治問題にまで発展しました。このような状況から、海外に由来する流行株の持ち込みや再興することによる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ません。あるいは、患者発生に関する情報の不備等により実情が把握されていない可能性が高いことも考えられ、わが国における監視態勢の確立と強化が不可欠です。

つきましては、本研究事業の一環として、髄膜炎菌感染症患者の発生や症状の実態に関するアンケート調査をお願いする次第です。本研究の目的をご理解の上、ご協力を賜りますようお願い申し上げます。

アンケート調査票は、診療科用2部、検査科用1部を同封いたします。担当者の方へお渡しいただき、平成13年3月27日までに返送用封筒にてお送りください。なお、アンケートについてのご質問は、下記までお問い合わせください。

聖マリアンナ医科大学微生物学教室

担当者: 山本 啓之

TEL 044-977-8111 (ex. 3540, 3539)、FAX 044-977-7818

(資料3)
診療科用

髄膜炎菌感染症の診断に関するアンケート

平成12年度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」

主任研究者 山井 志朗 (神奈川県衛生研究所)

分担研究者 嶋田甚五郎 (聖マリアンナ医科大学)

渡辺 治雄 (国立感染症研究所)

井上 博雄 (愛媛県立衛生環境研究所)

髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) による細菌性髄膜炎は、海外において多発しているにもかかわらず日本国内での発生報告件数がわずかにすぎません。国内においても過去に多数発生していた髄膜炎菌性髄膜炎が現在わずかしか発生していない原因を明らかにするため、表記の研究事業を開始いたしました。この研究事業の一環として髄膜炎菌感染症の現状を把握するため、貴診療科における髄膜炎菌感染症のご経験に関して以下のアンケートへのご協力をお願いする次第です。

1. 貴医療機関名、診療科名を記入してください。

医療機関名：

診療科名：

2. 次の期間での細菌性髄膜炎患者数を記入してください

1980年代以前	1980-1990年	1990-1995年	1995年以降

* 件数は概算でも構いません。不明の場合は斜線を入れてください。

3. これまでに髄膜炎菌感染症患者を診断した経験はありますか

1) ある 2) ない

4. 髄膜炎菌感染症患者を診断した経験がある場合は経験した病型の件数を年代ごとに記入して下さい。

	髄膜炎	呼吸器疾患	敗血症、DIC	その他
1980年代以前				
1980-1990年				
1990-1995年				
1995年以降				

* 件数は概算でも構いません。不明の場合は斜線を入れてください。

5. その他の病型での経験がある場合は病名症状等を記入して下さい。

6. 細菌性髄膜炎や髄膜炎菌性髄膜炎の診断や届け出基準において問題点や疑問点があれば記入してください。

(資料4)
検査科用

髄膜炎菌の検出・分離に関するアンケート

平成12年度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」

主任研究者 山井 志朗 (神奈川県衛生研究所)

分担研究者 嶋田甚五郎 (聖マリアンナ医科大学)

渡辺 治雄 (国立感染症研究所)

井上 博雄 (愛媛県立衛生環境研究所)

髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) による細菌性髄膜炎は、海外において多発しているにも関わらず日本国内での発生報告件数がわずかにすぎません。国内においても過去に多数発生していた髄膜炎菌性髄膜炎が現在わずかしか発生していない原因を明らかにするため、表記の研究事業を開始いたしました。この研究事業の一環として髄膜炎菌感染症の現状を把握するため、貴検査室における髄膜炎菌の検出・分離のご経験に関して以下のアンケートへのご協力をお願いする次第です

1. 貴医療機関名を記入してください

医療機関名：

2. 臨床検体から髄膜炎菌を検出あるいは分離培養した経験はありますか

1) ある 2) ない

3. 検出あるいは分離培養を経験した臨床検体の種類別の件数を年代ごとに記入して下さい。

	髄液	血液	その他
1980年代以前			
1980-1990年			
1990-1995年			
1995年以降			

* 件数は概算でも構いません。不明の場合は斜線を入れてください。

4. その他の検体での検出経験がある場合は検体の種類を記入して下さい。
5. 細菌性髄膜炎および髄膜炎菌検出で使用している分離用培地の種類を記入してください。
6. 髄膜炎菌の検査において、凝集反応による抗原検出法を使用していますか。
7. 髄膜炎菌の検査において、PCRによる遺伝子検出を使用していますか。
8. 髄膜炎での病原体鑑別における問題点を記入してください。

平成 12 年度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 (H12-新興-28)
分担研究報告書

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

PCR gene Detection for pathogens of meningitis from blood and cerebrospinal fluid

分担研究者 嶋田甚五郎 聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授

研究要旨

PCR 法を用いた髄液、血液からの髄膜炎菌の検出法について、遺伝子の選定および検出の際に問題になる血液・血清成分による反応阻害を効果的に減少させる方法を検討し、有用性を確認した。

研究協力者：

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
池島秀明 聖マリアンナ医科大学
神経内科 助手

A. 序文

微生物をPCRにより検出する場合、どの遺伝子を標的とするかにより検出感度や検出対象に違いが生じる。また髄液・血液からPCRにより遺伝子を検出する場合、検体中に含まれる反応阻害物質をいかにして除去するかが問題になる。本研究では、遺伝子プライマーの特異性を確認するとともに、反応阻害物質の存在下でもPCR反応が可能なアンプダイレクト法を検討し、その有用性を検討した。

B. 材料と方法

遺伝子プライマーの選択

髄膜炎の原因菌に関しては、菌株を PCR にて識別する事は不可能であるが、菌種であればリボソーム RNA の塩基配列情報から識別可能である。選択した菌種特異的なプライマーは Radstrom et al. (1994) の記載に従い、以下の 3 種を使用した：*Neisseria meningitidis* (5' CAA TCA GGT TGC CCA ACA ; 831-847 R)。対をなすプライマーは 16S rRNA の配列から、細菌共通のプライマーから 27F (5' AGA GTT TGA TC(A/C) TGG CTC AG) と 341F (5' ACT GCT GCC TCC CGT AG) の 2 種類を選び出して比較検討した。

反応阻害の除去

アンプダイレクト法 (AD 法) は、血液中の反応阻害物質を吸着する試

薬（島津製作所）を使用する PCR 法である。反応液は、アンプダイレクト試薬の添付書に従い調製した。

C. 結果

採用した遺伝子プライマーは、*N. meningitidis* と他の髄膜炎原因菌とを識別できたが、近縁種である *N. gonorrhoeae* を識別することはできなかった。AD 法による検討では、血液では 50 μ l の反応液に対して 1 μ l を加えるのが限界であったが、髄液では 10 μ l まで反応液に加えても反応阻害は生じなかった。

D. 考察

AD 法により、血液および髄液に存在する *N. meningitidis* を前処理なしに検出することができた。これによりわずかな量の臨床検体から髄膜炎菌を検出できることが示されたが、実用に供するためには、検出限

界や菌株間の比較をしなければならない。これらについては、次年度の検討課題とする。

E. 参考文献

Radstrom, P., A. Backman, N. Qian, P. Kragstberg, C. Pahlson, P. Olcen (1994): Detection of bacterial DNA in cerebrospinal fluid by an assay for simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and Streptococci using a seminested PCR strategy. Clin. Microbiol., 32: 2738-2744

池島秀明、池原泰彦、山本啓之、金光敬二、加茂 力、嶋田甚五郎（2000）：単純ヘルペスウイルス I 型髄膜炎・脳炎に対するアンプダイレクト法を用いた PCR 法による DNA の検出法の検討、感染症学会総会、#237.